ビフィダスミルクによる高齢者の排便回数および 糞便内ビフィダス菌数におよぼす影響

関 増 爾*, 五十嵐 稔**, 福田 芳子**
島 村 誠 一**, 川 島 拓 司**, 小 笠 勝 啓**

* 社会福祉法人浴風会病院

** 森永乳業株式会社中央研究所

The Effect of *Bifidobacterium* Cultured Milk on the “Regularity” among on Aged Group

Masuji SEKI,* Minoru IGARASHI,** Yoshiko FUKUDA**
Seiichi SIMAMURA,** Takuji KAWASHIMA,** Katuhiro OGASA**

* Yokufukai Geriatric Hospital, Suginami-ku, Tokyo

** Central Research Laboratory, Morinaga Milk Industry Co., Ltd., Meguro-ku, Tokyo

Of 126 senior subjects answered to lead normal lives on questionnaire, 28 were found to have stool once in 2 to 3 days and 8 once in 4 to 7 days.

Eighteen out of the above cases complaining about constipation to a varying degree of seriousness were given both *Bifidobacterium* cultured milk (hereafter bifidus milk) and ordinary lactic cultured milk (hereafter lactic milk) alternatively in order to find out any benefit from *Bifidobacterium* over lactic milk with relieving constipation complaint.

Stool frequencies were reported with those subjects in three consecutive 10 day-periods which constitute each 10 days of predosing, lactic milk dosing and bifidus milk dosing in the order. Average frequencies in each 10-day period were 4.8, 5.7 and 7.1. The frequency in the third period was significantly higher than the others.

The fecal specimen was collected from 5 cases through the test period and their microflora was examined. *Bifidobacterium* group was found significantly higher in count in the specimens taken from the bifidus milk dosing period. Interestingly, dominant *Bifidobacterium* group lasted 8 weeks with 2 cases after dosing ceased.

(Received December 20, 1977)

医療効果が期待できる発酵乳として、*L. bifidus*, *L. acidophilus* および *Str. thermophilus* からなるヨーグルトの調製法が、1968年に Schuler¹⁾ らによって報告されて以来、ヨーロッパにおいては Lüne-best Special Yoghurt²⁾, Biogarde³⁾ などの *L. bifidus* (ビフィダス菌) 入りヨーグルトが市販されている。一方、Müting ら⁴⁾ はビフィダス菌を含有する粉乳を摂取した肝硬変患者のたん白質代謝が正常化することを報告している。また、Doerbeck ら⁵⁾ は、同種の粉乳を飲用した便秘患者の便性が改善され、同時に糞便内においてビフィダス菌の増加がみられることを報告している。このように、ビフィダス菌が使用されている発酵乳あるいは粉乳はビフィダ

スミルクと呼称され、本邦においても、その一部が中江⁶⁾ によって紹介されている。

一方、従来の発酵乳飲用で腸内細菌叢および便性が改善された例も報告^{7,8)} されているが、使用菌種の異なるこれら二つのミルクの飲用結果を直接比較した報告はない。そこで、著者らは、ビフィダスミルクと酪農用乳酸菌のみを使用した発酵乳が飲用者の便性に及ぼす影響の違いを明らかにするため、飲用結果を統計的に比較検討した。さらに、糞便内ビフィダス菌の増減に及ぼす影響についてもあわせて検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 供試乳酸菌およびミルク

1) ビフィダス菌 健康な乳児の糞便から分離した

* 〒168 東京都杉並区高井戸西 1-12-1

** 〒153 東京都目黒区目黒 4-4-22

Bifidobacterium longum BB-536 株を使用した。

2) アシドフィラス菌 保存株 *Lactobacillus acidophilus* LAC-336 株を使用した。

3) サーマフィラス菌 保存株 *Streptococcus thermophilus* STH-412 株を使用した。

4) ビフィダスミルク ビフィダス菌は発酵によって乳酸とほぼ同量の酢酸を生成するので、ビフィダス菌で全量を発酵し、そのまま飲用試験に供することは、風味の上で問題があった。そこで、供試ビフィダスミルクは、Schuler ら¹⁾も併用したアシドフィラス菌の発酵乳9部と、ビフィダス発酵乳一部を混合して調製した。その際、ビフィダス発酵乳中のビフィダス菌数は $20 \sim 30 \times 10^8/\text{ml}$ のごとく、高菌濃度であるので、本法によっても通常の発酵乳における乳酸菌菌数に近いビフィダス菌数を有する発酵乳が得られた。すなわち、アシドフィラス菌の脱脂乳カルチャーを3%接種し、37°Cで18時間発酵した加糖半脱脂のアシドフィラス発酵乳 ($3 \sim 4 \times 10^8/\text{ml}$) に、ビフィダス菌の脱脂乳カルチャーを10%接種し、37°Cで5時間発酵した半脱脂のビフィダス発酵乳を加え、さらに、レモン系フレーバーを加え、均一に混ぜてビフィダスミルク（以下Bミルクという）を調製した。これを100 ml 容の紙容器に充填して冷蔵保存した。その標準組成はたん白質 3.0%、脂肪 1.2%、炭水化物 10.1%、灰分 0.7%、乳酸酸度 0.67%、pH 4.4、ビフィダス菌数 $20 \times 10^7/\text{ml}$ 、アシドフィラス菌数 $20 \times 10^7/\text{ml}$ であった。

5) 対照ミルク サーマフィラス菌の脱脂乳カルチャーを3%接種し、37°Cで18時間培養した加糖半脱脂の発酵乳にレモン系フレーバーを添加後、均一に混合して、上記と同様の標準組成を示す発酵乳タイプの対照ミルクを調製し、100 ml ずつ分注後、冷温に保存した。この場合のサーモフィラス菌の標準菌数は $60 \times 10^7/\text{ml}$ であった。

この二つのミルクは、フレーバー添加によって、ほぼ同様の風味とし、飲用者が容易に区別ができないようにした。また、いずれも調製後4日以内に消費されるように被検者に配布した。

2. 供試ミルクの飲用と調査

1) 高齢者の日常の便性に関する調査 浴風園高砂ホーム（1～3階、東京都）に在住する60歳以上の健康な高齢者160名を対象とした。日常の便性のうち、排便の傾向を調査対象者自身のそれまでの印象から、(1)便秘ぎみ、(2)下痢ぎみ、(3)ふつう、(4)その他、の4種類に分類し、また、排便の回数を(1)1日に2回以上、(2)1日に1回、(3)2～3日に1回、(4)4～7日に1回、(5)不規則の5種類に分類し、さらに、10日間にわたる実際の排便回数を記録できる調査用紙を配布し、調査対象者自身

が日常の便性を記入できるようにした。結果の集計では、実際の排便記録を重視し、本人の印象による排便傾向の事前の分類を参考にして、各人の日常の排便状況を決めた。

なお、調査にさきだて、各階ごとに在住者を集め、調査用紙記入上の要領について十分に説明した。また、調査期間中に記入上で疑義のある場合、寮母が相談に応じる体制をとり、記入済用紙はおのおのが寮母あてに提出した。

2) 供試ミルクの飲用と排便の調査 上記の調査で便秘ぎみで1日に1回の排便がない排便不安定者のうち、引き続き供試ミルクの飲用試験に自主的に参加した18名の被検者に最初の10日間は対照ミルクを1日当たり100 ml ずつ与え、その後7日間はミルクの無投与期間とし、次いで8日目からBミルクを1日当たり100 ml ずつ10日間与えた。その間、飲用前、対照ミルク飲用時およびBミルク飲用時の各10日間における毎日の排便の有無を本人に記録させた。

ビフィダス菌製剤の投与試験では、投与3日前後で効果を認めており⁹⁾¹⁰⁾、著者らのBミルク飲用の予備試験結果¹¹⁾でも、飲用14日以内に被検者の便性に变化がみられたので、今回は10日間の飲用試験とした。ビフィダス菌の飲用後、腸内のビフィダス菌数が長期にわたって高いレベルに維持された場合の排便回数への影響が懸念された。また、予備試験では、便秘ぎみの被検者集団を2分し、Bミルク飲用群と対照ミルク飲用群に分けて比較し、前者のほうが排便改善例の多いことを認めたが、この場合、両群が等質の被検者集団でなければ、確かな結果とはいえない。そこで、本報告では全被検者に2種類の供試ミルクを飲用させ、しかも、腸内での増殖がないサーモフィラス菌使用の対照ミルクの飲用を最初に行なう実験計画とした。なお、被験者および寮母には、いずれの試験の場合も、供試ミルクに使用している菌種の違いについては、事前にまったく知らせず、同一ミルクのくり返しの飲用とのみ説明した。

3) 供試ミルク飲用者の糞便検査 排便が正常で、供試ミルクの飲用と糞便の提供に協力いただいた70歳の老人（女性）3名と30歳代および40歳代の男性各1名から、供試ミルクの飲用中およびその前後の培養予定期日に自然排便で得られた糞便の一部を採取し、後述の方法に従って培養した。

3. 糞便の培養と分離ビフィダス菌の同定

1) 糞便の採取 糞便試料の運搬用に調製した滅菌培地¹²⁾入り採便容器に自然排便で得た糞便の少量（約0.5～1.0 g）を採取し、冷温下で運搬、保存した。培養に供した糞便重量は、採便後の容器の重量増加から求め、また、各試料とも採便後、3時間以内に培養に供した。

2) 糞便の培養

i) 嫌気性総菌数 滅菌した生理食塩水で試料を適宜希釈し、その 0.1 ml を市販の嫌気性菌測定用 GAM 培地 (日本製薬 KK) の平板上にコンラージ棒で塗抹後、スティールウール法による嫌気培養 (37°C, 3 日) を行なった。1 平板当たり 30~300 個のコロニーを認めた各平板の平均値 (2 枚以上) に試料の希釈倍数をかけて、糞便 1 g 当たりの嫌気性総菌数を求めた。

ii) ビフィダス菌数 i) の平板上に生じたコロニーから白色~灰白色で、円形、頭状、全縁型¹³⁾のコロニーで、さらに検鏡によりグラム陽性で、ビフィダス菌に特有の菌形を示すコロニーを区別して計測し、それに試料の希釈倍数をかけて糞便 1 g 当たりのビフィダス菌数を求めた。また、一部のビフィダス菌コロニーから釣菌し、GAM プイヨン (日本製薬 KK) に接種、培養して生酸の有無と菌形の再確認を行なった。この分離菌株のうち、供試ビフィダス菌を抗原とした家兎抗血清に対する凝集反応陽性株については、さらに糖の発酵性試験を行ない、供試ビフィダス菌と同種株であるか否かの判定を行なった。

iii) 乳酸桿菌数 上記 i) で調製した希釈試料の 0.1 ml を変法 LBS 寒天培地¹²⁾の平板上に塗抹し、スティールウール法による嫌気培養 (37°C, 3 日) を行ない、平板上に生じたコロニーのうち、グラム陽性で菌形が桿状を示すものを乳酸桿菌とし、以下常法に従って糞便 1 g 当たりの乳酸桿菌数を求めた。

iv) 大腸菌群数 (*Enterobacteriaceae*) 上記 i) で調製した希釈試料の 0.1 ml を DHL 寒天培地 (栄研化学 KK) の平板上に塗抹して好気培養を行ない、生じたコロニー数から常法に従って糞便 1 g 当たりの大腸菌群数を求めた。

3) ビフィダス菌の同定

i) 抗血清の作成 B ミルクに使用した、*B. longum* を H 培地¹⁴⁾で前培養 (37°C, 15 時間) し、増殖した菌体を遠心集菌し (4,000 rpm, 10 分)、培地と同量の滅菌生理食塩水で 3 回洗浄後、マーズオン 1,000 ppm を含む菌原液を調製した。次に菌体濃度を Mcfaland No. 1~2 (40D 630 mμ で 0.352) とし、この菌液 2 ml と Freund adjuvant 3 ml を 10 ml の注射器にとり、よく混合してから、その 1 ml を常法に従って家兎の背面皮下に分割接種した (0, 15, 30 日目)。最初の接種から 105 日後と 135 日後にブースター効果を期待して腹腔内に菌液を 1 ml ずつ接種し、その 1 週間後に全採血を行ない、血清を分離した。得られた抗血清は接種菌に対して 640 倍の凝集価を示した。また、*B. bifidum* ATCC-15696, *B. infantis* ATCC-15697, *B. paravolorum* ATCC-15698, *B. paravolorum* ATCC-15699, *B. breve*

ATCC-15700, *B. liberorum* ATCC-15702, *B. adolescentis* ATCC-15703, *B. longum* ATCC-15708, *B. lactentis* ATCC-25962 に対して凝集反応をまったく示さなかった。

ii) 凝集反応 採取した抗血清を 56°C, 30 分加熱非働化し、常法に従って供試あるいは分離ビフィダス菌に対する凝集性を調べた。判定は各倍数希釈抗血清と菌液 (Mcfaland No. 4~5) の等量混合液を 37°C, 2 時間保持後、さらに冷蔵庫 (7°C) に 1 夜放置してから行なった。

iii) 糖の発酵性試験 GAM 糖分解用半流動培地 (日本製薬 KK) を基礎培地とし、これに分類に必要な各糖を加えて滅菌後、供試あるいは分離ビフィダス菌を接種し、以下常法に従って各菌の糖の発酵性を調べた。供試ビフィダス菌 *B. longum* の糖の発酵性は次のごとくであった。アラビノース (+), キシロース (+), リボース (+), セロビオース (-), ラクトース (+), マニトール (-), メレチトース (+), サリシン (-), スターチ (±~), トレハロース (±~)。

実 験 結 果

便秘ぎみで、1 日 1 回の排便がない被検者を本報告では排便不安定者とした。記録を集計した結果、男性 19 名中の 8 名 (42.1%), 女性 107 名中 31 名 (29%) が、さらに両者を合わせた老人 126 名中 39 名 (30.9%) が排便不安定者であった (表 1 参照)。この排便不安定者のうち、便秘ぎみで、2~3 日に 1 回の排便者が最も多く、全記録者中の 21 名 (16.7%) が該当した。さらにそれを排便不安定者 39 名中の比率でみると 53.8% に相当した。

次に供試ミルク (対照ミルクおよび B ミルク) の飲用に協力的であった排便不安定者の排便記録を表 2 に示した。供試ミルクの飲用によって排便回数は増加する傾向があった。しかも 10 日間の飲用における前半の 5 日間と後半の 5 日間で平均排便回数に顕著な差がみられなかったことから、供試ミルク飲用後の早い時期から排便促進の効果があらわれるものと判断した。

全 18 例の各試験調査 10 日間当たりの平均排便回数のうち、供試ミルクの飲用前が 4.8 回で、対照ミルク飲用時のそれは 5.7 回であった。また、B ミルク飲用時のそれは 7.1 回で、飲用前の平均排便回数にくらべて 2.3 回多くなった。

一定期間当たりの排便回数が増加したとき、はじめて便性が改善されたと判断できる。そこで便性の改善を次のごとく定義し、おのおの改善者数の違いについて有意差検定を行なった。

(定義)

表 1. 老人の日常の便性に関する調査結果

調査対象者の性別	排便の傾向	排便の回数	調査対象者年齢			計	
			60歳代	70歳代	80歳代	例数	(%)
男	便秘ぎみ	2～3日に1回	1	2	3	6	31.5
		4～7日に1回			1	1	5.3
		不規則		1		1	5.3
	ふつう	1日に1回	4	2	2	8	42.1
		1日に2回以上	3			3	15.8
	計		8	5	6	19	100
女	便秘ぎみ	2～3日に1回	3	8	4	15	14.0
		4～7日に1回		2	5	7	6.6
		不規則	2	4	3	9	8.4
	ふつう	1日に1回	5	43	24	72	67.3
		1日に2回以上		2	2	4	3.7
	計		10	59	38	107	100
全老人	便秘ぎみ	2～3日に1回	4	10	7	21	16.7
		4～7日に1回		2	6	8	6.3
		不規則	2	5	3	10	7.9
	ふつう	1日に1回	9	45	26	80	63.5
		1日に2回以上	3	2	2	7	5.6
	計		18	64	44	126	100

$$\left(\frac{\text{供試ミルク飲用時の排便回数}}{\text{飲用前の排便回数}} \right) - 1 \geq 2$$

この場合、対照ミルクの飲用で5例(27.8%、5例の平均排便回数は、飲用前4.4回、対照ミルク飲用時7.8回、Bミルク飲用時9回)が、また、Bミルクの飲用で12例(66.7%、12例の平均排便回数は、飲用前4.8回、対照ミルク飲用時6.2回、Bミルク飲用時8.4回)が便性改善者と判断され、有意水準5%の χ^2 検定の結果、二つの便性改善者数の違いに有意差が認められた(表2註参照)。さらに、供試ミルク飲用前、対照ミルク飲用時およびBミルク飲用時のそれぞれの排便回数に関する分散分析を行なった結果、3種類の試験調査中(10日間ごと)の排便回数に高度の違いが認められた(有意水準1%、表3参照)。

供試ミルクの飲用前から飲用後までの被検者糞便内細菌数に関する結果を表4に示した。嫌気性総菌数、乳酸桿菌数および大腸菌群数の変化に一定の傾向は認められなかった。一方、ビフィダス菌はBミルク飲用時およびその1週間後において増加する傾向が認められた。すなわち、被検者Aの糞便1g当たりのビフィダス菌数(対数)は、対照ミルク飲用前で8.6、またBミルク飲用の直前で9.9を示し、他の被検者に比べ、当初から該菌の菌数レベルが高かった。しかし、Bミルク飲用時にその菌数はさらに増加し、飲用5日目および10日目で

10.8および10.4の菌数を示し、さらに飲用中止1週間後でも11.0の高いビフィダス菌数レベルを維持していた。被検者BはBミルク飲用の5日目に10.6の高いビフィダス菌数を示したが、その後は飲用中止1週間後に認められたにすぎず、他の被検者に比べてビフィダス菌の検出されることが少なかった。被検者Cの場合、試験のはじめに8.0以下であったビフィダス菌数が、その後は8.0以上に維持されていた。被検者DもBミルク飲用の直前で高レベルにビフィダス菌が認められ、Bミルクの飲用でその菌数はさらに高まる傾向が認められた。飲用者EはBミルクの飲用5日目から飲用中止後の3週間目までビフィダス菌が高レベルで認められたが、その後は減少した。これらの変化は嫌気性総菌数中に占めるビフィダス菌の百分率でみるといっそう明瞭になる(表5参照)。とくに常時ビフィダス菌の少なかった飲用者Eのビフィダス菌含有百分率の増加は最も顕著であり、その他の例では、A、D、C、Bの順にビフィダス菌含有百分率が低下した。

大腸菌群数に対するビフィダス菌数の比率(Bi/EC)は、各例ともBミルク飲用中およびその1週間後が高くなっている。この傾向を上記のビフィダス菌含有百分率($Bi\%$)の増加傾向と合わせて考えると、Bミルクの飲用によって糞便中のビフィダス菌数は相対的に高まるといえる。Bミルク飲用後の1週間ごとの糞便検査で常時

表 2. 供試ミルルク飲用時における被検者の排便回数

被検者 No.	試験前に調査した被検者の 年齢、性別および便性		供試ミルルク飲用前 10日間の排便回数				対照ミルルク飲用10 日間の排便回数				Bミルルク飲用10 日間の排便回数			
	年 齢	性別	通常の便性		前半5日 間の排便 回数	後半5日 間の排便 回数	10日間の 排便回数	前半5日 間の排便 回数	後半5日 間の排便 回数	10日間の 排便回数	前半5日 間の排便 回数	後半5日 間の排便 回数	10日間の 排便回数	
			便 性	排 便 回 数										
1	60歳代	女	便秘ぎみ	2～3日に1回	1	3	4	5	2	7°	5	4	9°	
2	70歳代	"	"	"	2	3	5	1	2	3	2	3	5	
3	"	"	"	"	3	2	5	1	4	5	4	5	9°	
4	"	"	"	"	2	3	5	1	2	3	3	4	7°	
5	"	"	"	"	3	4	7	4	3	7	4	4	8	
6	"	"	"	"	2	2	4	2	2	4	1	1	2	
7	80歳代	"	"	"	2	2	4	4	3	7°	4	3	7°	
8	"	"	"	"	3	2	5	3	5	8°	5	5	10°	
9	"	"	"	"	2	2	4	3	2	5	1	3	4	
10	70歳代	"	"	4～7日に1回	1	1	2	1	2	3	1	2	3	
11	"	"	"	"	2	2	4	4	3	7°	4	5	9°	
12	80歳代	"	"	"	1	1	2	1	1	2	3	2	5°	
13	60歳代	"	"	不 規 則	3	3	6	3	4	7	4	4	8°	
14	70歳代	"	"	"	3	4	7	4	4	8	5	5	10°	
15	"	"	"	"	2	3	5	2	4	6	4	3	7°	
16	"	男	"	2～3日に1回	2	4	6	3	1	4	5	5	10°	
17	"	"	"	"	4	2	6	3	3	6	2	3	5	
18	80歳代	"	"	"	3	2	5	5	5	10°	5	5	10°	
合 計					41	45	86	50	52	102	62	66	128	
平 均					2.3	2.5	4.8	2.8	2.9	5.7	3.4	3.7	7.1	

(註) °印は便性改善(+)の場合を示す

〔便性改善(+)の定義〕

$$\left(\text{供試ミルルク飲用時} - \text{飲用前} \right) - \left(\text{排便回数} \right) \geq 2 \text{ (10日間当たり)}$$
Yate の補正を行なった χ^2 検定

$$36 \times \frac{(13 \times 12 - 6 \times 5 - \frac{36}{2})^2}{18 \times 18 \times 19 \times 17} = 4.01$$

 $\chi^2(1, .05) = 3.84$ したがって $\chi^2 = 4.01 > 3.84$

以上の結果, 対照ミルルク飲用時の排便回数改善者数とBミルルク
飲用時の排便回数改善者数に違いがあるといえる (有意水準
5%)

表 3. 供試 ミルク 飲用前, 対照 ミルク 飲用時および B ミルク 飲用時におけるそれぞれの 10 日間当たりの排便回数に関する分散分析

	平方和	自由度	不偏分散	分散比
調査期間 (群間)	49.9	2	25	5.7
要因 誤 差 (群内)	224.9	51	4.4	
計	274.8	53		

F 検定

$$F(2, 51 : 0.01) = 5.06$$

$$\text{分散比 } 5.7 > F = 5.06 \text{ (有意水準 } 1\%)$$

調査期間の違い (供試 ミルク 飲用の違い) は被検者の排便回数に影響をおよぼしているといえる。

ビフィダス菌が認められた D 例の *Bi/EC* 比は高く維持されていたが, E 例の *Bi/EC* 比はビフィダス菌の減少とともに低下した。また, 対照 ミルク の飲用では, *Bi/EC* 比, *Bi* % の上昇傾向はなかった。

次に供試ビフィダス菌と同種菌の各被検者糞便中への出現状況を検討した。すなわち, B ミルク 飲用期間中および飲用後において, 被検者 5 例中の 4 例 (A, B, C, D) に供試菌と同種のビフィダス菌を認め, とくに, 被検者 A と D では, B ミルク 飲用前に認められなかった同種ビフィダス菌が飲用中に認められるようになったことから, 供試ビフィダス菌が腸内に定着したといえる。被検者 B と C は同種ビフィダス菌が B ミルク 飲用前から腸内に生息していた。また, 被検者 E の場合, 供試菌と別種のビフィダス菌が対照 ミルク の飲用時に認められ, B ミルク 飲用時に分離した菌も抗血清による凝集反応が不明瞭で, 同種ビフィダス菌の出現がみられなかった (表 5 参照)。

考 察

F. Avery ら¹⁵⁾の調査によれば, 健康な成人の 75% 以上は 1 週間に 5 ~ 7 回の排便がある。これを正常な排便頻度として 10 日間当たりの排便回数に換算すると, それは 7 ~ 10 回に相当する。一方, 名尾ら¹⁶⁾は, 便秘の定義は不明確であるが, 3 ~ 4 日以上排便のない場合を一応便秘としている。ところが, この種の便秘者の数は必ずしも多くない。井上¹⁶⁾による学生 (20 歳前後) を対象とした排便調査によれば, 3 日に 1 回以下の排便と回答したものは, 男 1.4%, 女 5.6% である。しかし, 1 日に 1 回以下, すなわち 2 ~ 3 日に 1 回の排便者は, 男 11.4%, 女 23.4% であるという。また, 3 年間の外来患者の集計でも, 3 日に 1 回以下の排便者は 5.2% 程度である。本報告では, 日常の排便間隔が, 2 ~ 3 日に 1

回であったもの男 31.5%, 女 14%, 4 ~ 7 日に 1 回であったもの男 5.3%, 女 6.6%, 不規則であったもの男 5.3%, 女 8.4% で, これを総計すると, 1 日に 1 回以下の排便不安定者は男 42%, 女 29% となる。この著者らの調査結果は, 女性の場合, 井上による学生を対象とした調査結果とほぼ一致しているが, 男性の場合は若年者に比較してかなり高い数値を示している。

このような便秘者あるいは排便不安定者用にビフィダス菌製剤が古くから市販されている。各種の疾病で入院中の慢性便秘者 40 名に対してビフィダス菌製剤が与えられた⁹⁾例によると, 投与前の排便回数が 2 日に 1 回の場合, 製剤投与の翌日あるいは 3 日目ごろから排便が正常になった有効 ~ 著効例は 68%, また, 3 日に 1 回の排便者で有効 ~ 著効例は 57% という。2 年 9 カ月児の習慣性便秘症に使用した結果¹⁷⁾では, 投与前に 10 日間当たり 1 ~ 1.5 回の硬い固形便排出であったのが, 投与開始から最初の 10 日間で 2 回の固形便排出となり, 次の 10 日間では 4 回の柔らかい有形便となり, 以後同様に推移している。本報告では 18 名の排便不安定者中 12 名 (66.7%) が B ミルク の飲用で改善されている。改善者の 10 日間当たりの平均排便回数は, 飲用前で 4.8 回, 飲用中で 8.4 回になっている。この排便回数は, F. Avery ら¹⁵⁾のいう健康な成人の正常排便回数に相当するものであり, 改善者の比率もビフィダス菌製剤の結果⁹⁾と一致している。一方対照 ミルク の飲用による改善者の平均排便回数もこれに類似しているが, 改善者の比率は 27.8% で, B ミルク 飲用の場合の半数以下であった。この違いは統計的にも有意な差であったので, B ミルク の飲用は他の発酵乳飲用と比較して, 排便回数をより多くする傾向があるといえよう。

便秘ぎみの被検者を対象に便性の改善を考えると, 排便回数の増加と便のかたさが問題になる。著者らは対照 ミルク あるいは B ミルク 飲用前後の間診による便性改善の調査を浴風園で以前にも行っており, 本調査と同様に便性改善の傾向を認めた¹¹⁾。とくに今回は正確を期するために被検者各自による排便の記録方式を採用した。また, 便のかたさについても同時に調査したが, 記録が不十分であったので, 排便回数と合わせて検討することができなかった。しかし, さきの間診による調査では, B ミルク 飲用時に便がやわらかくなる傾向を認めた。また, 著者らは, 便秘ぎみで 1 日に 1 回の排便がない排便不安定者に分類した 16 名の工場女子従業員 (20 ~ 40 歳) に予備的な B ミルク の飲用試験を行なってみた¹¹⁾。その結果, B ミルク 飲用前の 10 日間当たりの平均排便回数は 6.8 回で, 正常に近い排便者の集団であったが, 続く B ミルク の飲用期間中に便性が改善されたと被検者自身が判断した例は 9 例 (56%) であった。被検

表 4. 供試ミルクの飲用と腸内細菌叢の変化 (菌数の対数/糞便 g)

被検者	検査項目	対照ミルク飲用直前		対照ミルク飲用		Bミルク飲用直前		Bミルク飲用		飲		用		後	
		5日目	10日目	5日目	10日目	5日目	10日目	5日目	10日目	1週目	2週目	3週目	5週目	6週目	8週目
A (女) 70歳代	糞便 pH	6.9	—	6.7	6.5	6.5	6.6	6.9	—	—	—	—	—	—	6.6
	嫌気性総菌数	11.6	—	10.7	11.1	11.6	10.8	11.6	—	—	—	—	—	—	10.7
	ビフィダス菌数	8.6	—	8.0	9.9	10.8	10.4	11.0	—	—	—	—	—	—	10.6
	乳酸桿菌数	9.9	—	7.1	9.6	7.7	8.4	8.9	—	—	—	—	—	—	9.3
	大腸菌群数	8.8	—	6.8	7.9	7.7	7.8	7.2	—	—	—	—	—	—	9.8
B (女) 70歳代	糞便 pH	6.4	6.6	6.8	6.8	7.1	6.6	7.0	—	—	—	—	—	—	6.8
	嫌気性総菌数	11.3	11.3	11.4	10.8	11.9	10.8	11.1	—	—	—	—	—	—	10.7
	ビフィダス菌数	8.0以下	8.0以下	9.0以下	8.0以下	10.6	7.0以下	8.9	—	—	—	—	—	—	9.0以下
	乳酸桿菌数	7.0	7.0	8.1	7.0	7.3	8.2	7.2	—	—	—	—	—	—	5.7
	大腸菌群数	6.9	8.2	8.7	8.4	8.7	8.7	5.9	—	—	—	—	—	—	8.1
C (女) 70歳代	糞便 pH	7.4	6.7	6.5	7.1	6.7	6.6	6.7	—	—	—	—	—	—	6.7
	嫌気性総菌数	11.8	10.4	10.8	11.1	9.0	10.9	10.9	—	—	—	—	—	—	11.3
	ビフィダス菌数	8.0以下	8.6	8.5	9.3	8.2	8.6	9.7	—	—	—	—	—	—	10.0
	乳酸桿菌数	7.2	6.6	8.2	7.2	7.0	7.7	6.5	—	—	—	—	—	—	7.3
	大腸菌群数	6.7	6.4	7.2	6.5	6.6	6.7	7.8	—	—	—	—	—	—	5.9
D (男) 40歳代	糞便 pH	6.6	6.6	—	6.7	6.7	7.0	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.7	6.6	6.5
	嫌気性総菌数	10.9	11.7	—	10.8	10.7	10.5	10.6	10.0	10.7	10.0	10.7	11.1	11.2	11.7
	ビフィダス菌数	8.0以下	8.0以下	—	9.3	10.2	9.6	9.0	8.4	9.4	8.4	9.4	10.3	9.7	10.9
	乳酸桿菌数	7.7	5.0以下	—	7.8	5.2	5.0	4.0以下	3.8	6.8	3.8	6.8	6.6	6.0以下	3.0以下
	大腸菌群数	5.7	5.8	—	8.0	6.1	5.6	5.2	4.8	5.7	4.8	5.7	5.0	6.7	6.0
E (男) 30歳代	糞便 pH	6.9	6.5	6.6	6.6	6.6	6.3	6.8	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6
	嫌気性総菌数	11.6	9.9	10.8	10.5	10.2	10.1	10.4	10.0	9.9	10.0	9.9	10.8	11.5	9.6
	ビフィダス菌数	8.0以下	8.0	8.0以下	8.0以下	9.7	9.4	10.0	8.0以下	9.5	8.0以下	7.0以下	8.0以下	8.0以下	8.0以下
	乳酸桿菌数	7.0	5.0以下	5.0	5.1	5.0以下	4.7	7.4	5.0以下	5.2	5.0以下	5.2	6.4	6.0	6.1
	大腸菌群数	6.4	5.9	5.7	7.9	6.8	6.7	4.7	8.4	8.3	8.4	8.3	5.5	7.1	4.9

(註) 表中の一線は、糞便の採取および培養を行っていないことを示す。

表中の「～以下」はビフィダス菌の実数を知ることができなかった例で、調べた GAM 平板の最低試料希釈倍数以下とした。

表 5. 嫌気性総菌数および大腸菌群数に対するビフィダス菌の比率と供試ビフィダス菌の糞便への出現状況

被検者	検討項目	対照ミルク飲用直前		対照ミルク飲用		B ミルク 飲用								飲 用		後	
		5 日目	10 日目	5 日目	10 日目	5 日目	10 日目	1 週目	2 週目	3 週目	5 週目	6 週目	7 週目	8 週目	8 週目	8 週目	8 週目
A (女) 70歳代	Bi % ^{a)}	0.1	—	0.22	—	6.9	15.9	36.8	30.6	—	—	—	—	—	—	80	—
	Bi/EC ^{b)}	0.57	—	14	—	113	1.2×10 ³	417	6.1×10 ³	—	—	—	—	—	—	6	—
	Bi ₁ の有無 ^{c)}	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
	Bi ₂ の有無 ^{d)}	+	—	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
B (女) 70歳代	Bi %					5.4			0.6	—	—	—	—	—	—	—	—
	Bi/EC					71			89	—	—	—	—	—	—	—	—
	Bi ₁ の有無					+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	Bi ₂ の有無					+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
C (女) 70歳代	Bi %					1.54	0.51	1.43	16	0.49	5.75	—	—	—	—	5.79	—
	Bi/EC	182	18	606	44	67	81	—	—	—	—	—	—	—	—	1.2×10 ⁴	—
	Bi ₁ の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
	Bi ₂ の有無	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—
D (男) 40歳代	Bi %					3.39	37.0	13.3	2.82	2.83	5.09	15.8	2.65	6.35	17.0	—	—
	Bi/EC	—	—	20	1.3×10 ⁴	1.1×10 ⁴	65	3.7×10 ³	5.6×10 ³	2.1×10 ³	930	8×10 ⁵	9×10 ⁴	9×10 ⁴	9×10 ⁴	—	—
	Bi ₁ の有無	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	Bi ₂ の有無	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
E (男) 30歳代	Bi %	1.15				33.3	17.14	47.8	3.49								
	Bi/EC	125				83.3	429	2.2×10 ⁵	15.8								
	Bi ₁ の有無	—				±	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Bi ₂ の有無	+				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

(註) 表中の一線は表 4 の註に同じ。表中の空欄は、ビフィダス菌の実数が得られなかった例 (表 4 中のビフィダス菌の項で～以下) で Bi %, Bi/EC が求められなかったことを示す。

a) Bi % : (ビフィダス菌数/嫌気性総菌数) × 100

c) Bi₁ : 抗血清による凝集と糖の発酵性から供試株と同種と考えられたビフィダス菌

b) Bi/EC : ビフィダス菌数/大腸菌数

d) Bi₂ : 供試株と異なるビフィダス菌

者の平均排便回数はBミルクの飲用前後でまったく差がなかったが、かたい便の出る回数は、飲用前に比較して1/2に減少した〔 χ^2 検定により有意差を認めた(有意水準5%)〕。以上の点から、10日間当たりの平均排便回数が4~5回の排便不安定者は、ビフィダス菌あるいはBミルクの飲用で排便回数が7~10回に増加し、同時に便も軟かくなるといえる。

従来、ビフィダス菌、乳酸菌などの飲用にあって、腸内でのこれらの菌の定着と増殖が問題となる。根岸ら¹⁰⁾は常習性便秘の乳児に、製剤1g当たりのビフィダス菌数が 10^7 , 10^8 および 10^9 の3種の菌製剤を投与し、糞便内におけるビフィダス菌の増加を検討した。その場合、 10^9 /gの製剤投与時に糞便中のビフィダス菌数は最高となったが、その差は製剤中の菌濃度差には及ばなかったと報告した。Doerbeck ら⁵⁾は便秘者と正常者の各100名の糞便を調査し、ビフィダス菌が認められたのは便秘者で50%、正常者で89%であったという。さらにビフィダス菌の認められなかった便秘者34例にビフィダス菌を含む粉乳を与えたところ、29例(85%)の糞便にビフィダス菌が認められるようになったという。著者らが行った排便正常者の糞便培養でも、Bミルク飲用前にビフィダス菌が検出できなかった1例を含む全5例で、飲用中および飲用後の培養でビフィダス菌数が高レベルでみられ、しかも、嫌気性総菌数に対するビフィダス菌数の比率が高まっていることから、Bミルクの経口摂取が糞便内ビフィダス菌を増加させる効果のあることを認めることができた。また、そのうちの2例は飲用前に認められなかった供試ビフィダス菌と同種の菌がBミルク飲用中から認められるようになり、供試ビフィダス菌の定着がみられた。赤痢治療中の幼児4名(於荏原病院)がBミルクを飲用したとき、その2例で同じように供試ビフィダス菌の定着があったことを著者らは別に確認している¹¹⁾。

要 約

浴風園に在住する老人の日常の排便傾向を調査し、さらに、ビフィダス菌を含むビフィダスミルク(以下Bミルクとする)の飲用が被検者の排便回数あるいは糞便菌叢に及ぼす影響について検討した。

1) 便秘ぎみで1日に1回の排便がない排便不安定者は、回答の得られた老人126名中の39名(30.9%)であった。そのうち、2~3日に1回の排便と回答した例が最も多く、21名(16.7%)に達した。便秘症に分類できる4~7日に1回の排便者は8名(6.3%)であった。

2) 排便不安定者18名がBミルクおよびビフィダス菌を含まない対照ミルクを各10日間ずつ飲用した際の排便回数は、飲用前の4.8回に対して、対照ミルク飲用

で5.7回、さらにBミルクの飲用で7.1回となり、供試ミルクとくにBミルクの飲用で排便回数は増加する傾向を示した。

3) 10日間の各飲用試験期間当たりの排便回数が、飲用前のそれより2回以上多い例を便性改善(+)とすると、対照ミルクの飲用で5例(27.8%)、またBミルクの飲用で12例(66.7%)がこれに該当した。また、被検者の各飲用試験期間内における排便回数の違い、あるいは便性改善者数の違いは統計的に有意差があった(有意水準5%)。

4) Bミルクの飲用で糞便中のビフィダス菌数は増加し、全菌数中に占めるビフィダス菌の比率および大腸菌群数に対するビフィダス菌の比率も高くなった。対照ミルクの飲用ではビフィダス菌の増加はみられなかった。

5) Bミルク飲用時に糞便培養を行なった5例中の2例では、供試ビフィダス菌が定着、増殖していた。

終りに、抗血清の調製にご尽力をいただいた帝京大学田村 弘助教授および各種の飲用試験でご指導をいただいた荏原病院中溝保三先生に深く感謝いたします。

文 献

- Schuler, R., Ruppert, A. and Müller, F.: *Milchwissenschaft*, 23, 356, 554, 614 (1968)
- Die Molkerei-Zeitung Welt der Milch, 23, 1115 (1969)
- Klupsch, H.J.: *Dtsch. Mol. Zt.* 93 (23), 925 (1972)
- Mütting, D., Reikowski, H., Eschrich, W., Klein, Ch. and Doenecke, D.: *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 93, 1313 (1968)
- Doerbeck, F. and Tobiasch, V.: *Med. Monatsschr.*, 27, 81 (1973)
- 中江利孝: 牛乳, 乳製品一生産加工衛生流通の科学一, p. 208 (1976), 養賢堂(東京)
- Finzi, M. and Boschi, G.: *Minerva Diefol.*, 2(3), 140 (1962); *Dairy Sci. Abst.*, 26(6), 1665 (1964)
- Niv, M., Levy, W. and Greenstein, N.M.: *Clin. Pediatr.*, 2(7), 407 (1963)
- 市岡四象, 若林 明, 上田五郎, 山中直之: 新薬と臨床, 9, 876 (1960)
- 中島俊次: 産婦人科の実際, 17, 465 (1968)
- 未発表
- 光岡知足: 感染モデルの組み方(腸管感染研究会編), p. 165 (1973), 近代出版(東京)
- 実験農芸化学 上(東大農化編), p. 239 (1967), 朝倉書店(東京)
- 原 幽香, 川島拓司, 両木岱造, 長沢太郎: 栄養と食糧, 18, 10 (1965)
- 名尾良憲, 村上義次, 町井 彰, 佐藤美智子: 胃と腸, 6, 1267 (1971)
- 井上幹夫: 胃と腸, 6, 1284 (1971)
- 月本文子: 小児科診療, 23, 1438 (1960)
- 根岸 章, 黒宮端枝, 古賀千代子, 岩田博子: 小児科診療, 23, 940 (1960)

(昭和52年12月20日受理)