九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

非アルコール性脂肪肝に対するプロバイオティクスによる栄養療法

安武, 健一郎
西九州大学健康栄養学科

国府島, 庸之
国立病院機構九州医療センター消化器内科

Kojima, Motoyuki

中牟田, 誠
国立病院機構九州医療センター消化器内科

他

https://doi.org/10.15017/1446207

出版情報：福岡醫學雜誌. 105 (2), pp.42-47, 2014-02-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：

KYUSHU UNIVERSITY

非アルコール性脂肪肝に対するプロバイオティクスによる栄養療法

[1)]西九州大学 健康栄養学科
[2)]国立病院機構九州医療センター 消化器内科
[3)]九州大学大学院医学研究院 病態制御内科
[4)]福岡大学薬学部 臨床薬物治療学

安武健一郎[1)]，国府島庸之[2)]，中牟田 誠[2)]，古藤和浩[3)]，村田雄介[4)]，遠城寺宗近[4)]

はじめに

近年，腸内細菌（microbiome）の網羅的解析やそれらの代謝産物の研究を背景に，腸内細菌が生体の生理機能や病的変化に関与していることが明らかになってきた．その解剖学的位置関係から，腸管疾患と腸内細菌叢との関連は以前より研究されており，これらをもとにして，プロバイオティクスという概念が，腸内細菌を適正化する目的で栄養療法として臨床応用されてきた．プロバイオティクスとは，腸管微生物叢を調整して人体に有益な作用を与える生きた微生物，またはそれらを含む食品のことをいう．さらにプレバイオティクスというという概念（消化管上部で分解・吸収されず，大腸に共生する有益な細菌の選択的な栄養源となりそれらの増殖を促進して，大腸の腸内微生物叢の構成を健康的なバランスに改善し維持する，宿主の健康を増進する食品成分）も提唱されている．プロバイオティクスは，腸内細菌叢の多様性や組成に与える影響はさほどではなくとも，細菌の遺伝子発現や代謝機能に大きな影響を及ぼすことが，マウスの実験で示されている[1)]．前述のように，腸管でのプロバイオティクスの働きは，胃腸疾患に対する効果とともに研究が進んできており，腸管・腸上皮細胞に対する作用メカニズムについては総説に詳しいが[1)~5)]，最近では，腸内細菌叢の混乱が消化管に留まらず，代謝や神経，循環器系など幅広い生体機能に影響しており，疾患の発生や進展に関与する可能性が認識されつつある．我々は，非アルコール性脂肪肝（non-alcoholic fatty liver disease；NAFLD）の治療として，栄養学的アプローチについて総説を上梓し，プロバイオティクスについても言及してきた[6)]．本稿では，プロバイオティクスの NAFLD に対する知見，効果等を整理し，今後の展望，問題点について考えてみたい．

1. プロバイオティクスの歴史

プロバイオティクスの用語は，プロトゾアの共生関係を論じた Lilly らによって 1965 年に初めて紹介された[7)]．プロバイオティクスは抗生物質（antibiotics）に対比される概念で，共生を意味する形態学的用語プロバイオシス（probiosis）に起源している．プロバイオティクスの定義には諸説あるが，1989 年に Fuller によって提唱された「腸内細菌叢のバランスを改善することにより，宿主に有益に作用をもたらす生きた微生物」[8)]がよく知られている．その後，1996 年に Salminen が「宿主の健康や栄養に有意に働く生菌剤または培養乳製品」と定義し[9)]，2002 年には FAO/WHO により「適度に摂取した時，宿主に健康上有益に作用する生菌」と定義され現在に至っている．*Lactobacillus*，*Bifidobacterium* は，最も一般的なプロバイオティクスである．また，Gibson らは，プレバイオティクスという概念をプロバイオティクスに先立って提唱しており，「大腸内で有益菌の増殖を促進し，有害菌の増殖を抑制することにより，宿主に有益な効果を示す非消化性の食品成分」と定義した[10)]．これまでにわが国では，科学的に妥当性が検証されて

Kenichiro Yasutake[1)], Motoyuki Kohjima[2)], Makoto Nakamuta[2)], Kazuhiro Kotoh[3)], Yusuke Murata[4)] and Munechika Enjoji[4)]
[1)]Department of Health and Nutrition Sciences, Faculty of Health and Social Welfare Sciences, Nishikyushu University, Kanzaki 842-8585, Japan
[2)]Department of Gastroenterology and Clinical Research Center, Kyushu Medical Center, National Hospital Organization, Fukuoka 810-8563, Japan
[3)]Department of Hepatology and Pancreatology, Kyushu University Hospital, Fukuoka 812-8582, Japan
[4)]Department of Clinical Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University, Fukuoka 814-0180, Japan
Probiotic Nutrition Therapy for Nonalcoholic Fatty Liver Disease

いるフルクトオリゴ糖，ガラクトオリゴ糖，ラクツロースに加え，大豆オリゴ糖，乳果オリゴ糖，キシロオリゴ糖，イソマルトオリゴ糖，ラフィノースの計 8 種類のオリゴ糖と，難消化性デキストリン，ポリデキストロース，グアガム分解物の計 3 種類の食物繊維が特定保健用食品として認可され，プレバイオティクスとしての効果が期待されている．

2. 腸内細菌叢と生活習慣病

プロバイオティクスが注目されている一つの大きな理由は，腸内細菌叢の変化が，肥満やインスリン抵抗性，糖尿病，メタボリック症候群などの生活習慣病と密接な関係を有していることが明らかにされてきたことによる．以前より，腸管微生物叢の構成は，肥満の有無や食生活で変化することが知られており，肥満者より非肥満者において，あるいは肥満者が減量することによって，身体に有益な細菌の割合が増加していた[11)~13)]．また，高度の肥満患者，2 型糖尿病患者に減量手術を施行した場合，体重減少や食事内容の変化，インスリン感受性の改善などに伴って腸内細菌叢が大きく変化し，腸管内 pH も上昇することが報告されている[14)15)]．このように，腸管微生物叢の変化とこれらの病態の発現には密接な関連があり，発症に寄与する重要な要因と考えられる．生活習慣病に伴ってかき乱された腸管内細菌叢とそれに関連する胃腸の機能障害を埋め合わせる目的で，食物や薬物応用として使われるプロバイオティクスの細菌種は年々増加している．

3. NAFLD 動物モデルにおけるプロバイオティクス（表 1）

NAFLD はメタボリック症候群の一徴候であり，肥満やインスリン抵抗性を伴うことが多い．最近では，その molecular mechanism はまだ十分に解明されていないけれども，プロバイオティクスによる腸内環境の改善が NAFLD や肥満の病態に与える好影響が注目されている[16)~18)]．すでに動物モデルでの検討では，プロバイオティクス投与により，肝脂肪量の減少，alanine aminotransferase（ALT）の低下，炎症の改善，血清脂質の改善，肝線維化の改善，酸化ストレスの減少，インスリン感受性の改善，肝内コレステロール・中性脂肪の減少など，非常に多くの成果が報告されている[16)~26)]．表 1 の中では組成が示されていないプロバイオティクスの内容を以下に示す．VSL#3：34.8% の *Lactobacilli*（*L. acidophilus, L. plantarum, L.*

表 1　動物モデルに対するプロバイオティクスの効果

プロバイオティクス	対象	投与期間	効果	文献
VSL#3	mice (HFD)	4 週間	脂肪肝，インスリン抵抗性の改善 炎症 signaling の減少	12)
VSL#3	ob/ob mice (HFD)	4 週間	脂肪肝，インスリン抵抗性の改善 ALT 低下，JNK 活性の減少	19)
VSL#3	mice (MCD diet)	10 週間	線維化抑制	20)
L. rhamnosus PL60	mice (HFD)	8 週間	脂肪肝，血糖値の改善 体重増加抑制，体内脂肪低下	21)
VSL#3	rats (HFD)	4 週間	炎症反応低下（TNF α，MMP-2,-9， iNOS，COX-2 減少），PPAR α 上昇	22)
Pro-1, Pro-2	rats (MCD diet)	6 週間	脂肪肝，炎症の改善；TNF α，Bax， caspase-3,-8，Bcl-2 低下	23)
L. plantarum MA2	rats (high-cholesteroldiet)	4 週間	TC, LDL-C, TG 低下，便中 lactic acid bacteria + bifidobacteria 増加	24)
B. polyfermenticus SCD	rats (HFD / high-cholesterol diet)	6 週間	動脈硬化関連脂質低下，抗酸化作用 増強（TRAP 増加）	25)
L. acidophilus / L. casei	rats (high-fluctose feeding)	8 週間	耐糖能障害，高血糖，脂質異常症， 酸化ストレスの抑制	26)

HFD, high-fat diet ; MCD, mechionine-choline-deficient ; TC, total cholesterol ; TG, triglyceride ; TRAP, total radical trapping antioxidant potential

casei, L. bulgaricus），17.7% の *Bifidobacteria*（*B. infantis, B. breve, B. longum*），47.5% の *Streptococcus thermophilus*. Pro-1：*L. fermentum*（BB16-75，AK2-8，AK5-22，AK6-26），*L. plantarum*（AA17-73，AK7-28，AK8-31B），*Enterococcus faecium*（AB6-21，AB16-68，AK4-120，AK7-31，BK9-40，BK13-54）. Pro-2：*L. plantarum*（AB7-35，AC3-16，AC21-101，AB16-65，BK10-48），*Ent. faecium*（BK10-47）.

ただし，プロバイオティクスの内容や動物の性状によっては，効果に乖離が認められるものがある．例えば mechionine-choline-deficient（MCD）diet で誘導した NAFLD モデルマウス（female C57BL/6）においては，プロバイオティクス VSL#3 が線維化を減弱させたものの，脂肪化や炎症の抑制効果は有意でなかった[20]．このことは，プロバイオティクスの効果は病態の成因，個体の体内環境などに影響されるため，治療効果を上げるためには適する菌株，構成を考慮する必要があることを示唆している．

4. プロバイオティクスの NAFLD 患者への臨床応用（表 2）

ヒトを対象にした研究では，Loguercio らが非アルコール性脂肪肝炎（non-alcoholic steatohepatitis ; NASH）10 例，アルコール性肝硬変（alcoholic liver cirrhosis ; ALC）10 例を対象に，プロバイオティクス LAB（*L. acidophilus, L. bifidus, L. rhamnosus, L. plantarum, L. salivarius, L. bulgaricus, L. lactis, L. casei, L. breve* + prebiotic fructo-oligo-saccharides + vitamin B2, B6, B12, D3, C + folic acid, Zn oxide, Fe gluconate, K iodure, Bio-Flora cps, Dermo Duemila Italia）を 2ヶ月間投与した結果，ALT，γ-glutamyl transpeptidase（GGT），malondialdehyde（MDA），4-hydroxinonenal（4-HNE），tumor necrosis factor-α（TNF-α）が低下した[27]．LAB には，プロバイオティクス以外にビタミンやプレバイオティクス成分などが含まれていたが，さらに同グループは，NAFLD 22 例，ALC 20 例に対して 4ヶ月間プロバイオティクス VSL#3 を投与することによって，lipid peroxidation markers（MDA, 4-HNE）が改善し，ALT など肝障害マーカーも改善したことを報告している[28]．また Aller らは，28 名の NAFLD 症例について，プロバイオティクス（500 million of *L. bulgaricus* and *Str. thermophilus*）またはプラセボを 3ヶ月間投与する二重盲検クロスオーバー比較試験を実施した．その結果，プロバイオティクス摂取時に aspartate aminotransferase（AST），ALT，GGT が有意に低下したことを報告している[29]．さらに，実際にメタボリック症候群患者に対して健康な痩身ドナーの腸管微生物叢を腸管内に注入移植すると，インスリン感受性が増強され，メタボリック症候群の改善にも効果があることが報告されている[30]．これらの結果は，動物モデルの結果とも符合していることから，ヒトにおいても，腸内細菌叢が慢性肝障害を惹起する補助因子として関わっている可能性が示唆され，プロバイオティクスを用いて腸管-肝連関を調整することが，NAFLD に対する栄養療法のオプションになりうると考えられる．

5. 今後の展望と問題点

健康のため，腸管微生物叢を調整する目的でプロバイオティクス製品を個人購入する者も多い．しかし，プロバイオティクスが疾患の症候を緩和する作用は，医療の現場で処方される薬剤に比べればさほど顕著とは言えず，その系統によって，またそれぞれの患者によって効果はまちまちであり，十分な効果が引き

表 2　ヒト肝疾患・生活習慣病に対するプロバイオティクスの効果

プロバイオティクス	対象	観察期間	効果	文献
LAB	NASH, ALC	2ヶ月	肝障害の改善（ALT, GGT, TNFα, MDA, 4-HNE の低下）	27）
VSL#3	NAFLD, ALC	4ヶ月	肝障害の改善（ALT, MDA, 4-HNE, S-nitrosothiols の低下）	28）
L. bulgaricus/ *Str. thermophilus*	NAFLD	3ヶ月	肝障害の改善（ALT, AST, GGT, S-nitrosothiols の低下）	29）
intestinal microbiota from lean donors	metabolic 症候群	6週間	インスリン感受性の改善	30）

NASH, non-alcoholic steatohepatitis ; ALC, alcoholic liver cirrhosis ; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease

出されないことも多い．広告やマスコミでの紹介においても，全てのプロバイオティクスが一定の効果を示すような報道がみられ，利用者側に混乱を招いている．剤形や菌種，構成もプロバイオティクスごとに異なっていることを認識していないことが，プロバイオティクスの効果を評価する際の最も重大な問題であろう．有効に活用するためには，それぞれのプロバイオティクスが固有の作用機構を有すると考え，あらかじめその作用機序や意義，抗菌，抗炎症，代謝機能などへの効果の実証を利用者に説明し，理解してもらう必要がある[31]．

近年，プロバイオティクスの選択基準や明確な作用機序についての表示は改善されつつある．今まで，多くのプロバイオティクスは *Lactobacillus* あるいは *Bifidobacterium* 由来であったが，これも変わりつつあり多様化してきている．治療戦略も進化しつつあり，単なるプロバイオティクスから，死菌成分や抗菌物質，DNA 断片等の代謝物を含めた pharmabiotics という概念も生まれてきた[32)33)]．ただし，同種の菌でも株が異なると効果が違う場合があり，菌株ごとの差異を十分に考慮することが必要で，ヒトで行われた直接比較試験においても，その反応性や効果の差異が明らかにされている[34]．また，菌種を組み合わせた際には，効果が相殺してしまう場合があり，成人ではプロバイオティクスがなかなか腸管内に定着しないことも，治療期間を考える上で問題であろう．今後は，ヒト NAFLD 症例を対象として，プロバイオティクスの効果について，肝内脂肪量や肝障害，炎症マーカーをアウトカムとしたコホート研究や介入研究で明確なエビデンスを得ていく必要があるが，患者背景の違いや他の医療薬剤の影響，プロバイオティクス製品の品質管理基準が一定でないこと，用量が明確でないこと，安全性への懸念などから，大規模，長期間の研究は困難なところがある．

おわりに

現時点では，プロバイオティクスは通常の治療に取って代わるものではなく，あくまで補助的な手段にすぎない．プロバイオティクスとして販売されている製品は多種多様で，菌株も異なっていて，それらの間で効果は一定ではなく，一般に効果の発現は穏やかである．NAFLD の栄養療法においては，そのような限界を考慮した上でプロバイオティクスの意義を見出し，特定の適応疾患に対しては，有効性が示されている特定の菌株を選択していくべきであろう．

参 考 文 献

1】 Shanahan F, Dinan TG, Ross P and Hill C : Probiotics in transition. Clin Gastroenterol Hepatol 10 : 1220–1224, 2012.
2） Shanahan F : Probiotics in perspective. Gastroenterology 139 : 1808–1812, 2010.
3） Preidis GA, Hill C, Guerrant RL, Ranakrishna BS, Tannock GW and Versalovic J : Probiotics, enteric and diarrheal diseases, and global health. Gastroenterology 140 : 8–14, 2011.
4） Preidis GA and Versalovic J : Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics : gastrienterology enters the metagenomics era. Gastroenterology 136 : 2015–2031, 2009.
5） Kailasapathy K and Chin J : Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium spp. Immunol Cell Biol 78 : 80–88, 2000.
6） Yasutake K, Kohjima M, Kotoh K, Nakashima M, Nakamuta M and Enjoji M : Dietary habits and behaviors associated with nonalcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol 20 : 1756–1767, 2014.
7） Lilly DM and Stillwell RH : Probiotics : growth-promoting factors produced by microorganisms. Science 147 : 747–748, 1965.
8） Fuller R : Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 66 : 365–378, 1989.
9） Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M and Rowland I : Functional food science and gastrointestinal physiology and function. Br J Nutr 80 Suppl 1 : S147–171, 1998.
10） Gibson GR and Roberfroid MB : Dietary modulation of the human colonic microbiota : introducing the concept of prebiotics. J Nutr 125 : 1401–1412, 1995.
11） Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S and Gordon JI : Human gut microbes associated with obesity. Nature 444 :

1022–1023, 2006.
12) Ma X, Hua J and Li Z : Probiotics improve high fat diet–induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. J Hepatol 49 : 821–830, 2008.
13) Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD and Gordon JI : Obesity alters gut microbial ecology. Proc Natl Acad Sci USA 102 : 11070–11075, 2005.
14) Bradley D, Magkos F and Klein S : Effects of bariatric surgery on glicose homeostasis and type 2 diabetes. Gastroenterology 143 : 897–912, 2012.
15) Aron–Wisnewsky J, Doré J and Clement K : The importance of the gut microbiota after bariatric surgery. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 9 : 590–598, 2012.
16) Iacono A, Raso GM, Canani RB, Calignano A and Meli R : Probiotics as an emerging therapeutic strategy to treat NAFLD : focus on molecular and biochemical mechanisms. J Nutr Biochem 22 : 699–711, 2011.
17) Kelishadi R, Farajian S and Mirlohi M : Probiotics as a novel treatment for non–alcoholic Fatty liver disease ; a systematic review on the current evidences. Hepat Mon 13 : e7233, 2013.
18) Henao–Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, Thaiss CA, Kau AL, Eisenbarth SC, Jurczak MJ, Camporez JP, Shulman GI, Gordon JI, Hoffman HM and Flavell RA : Inflammasome–mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. Nature 482 : 179–185, 2012.
19) Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB, Desimone C, Song XY and Diehl AM : Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 37 : 343–350, 2003.
20) Velayudham A, Dolganiuc A, Ellis M, Petrasek J, Kodys K, Mandrekar P and Szabo G : VSL#3 probiotic treatment attenuates fibrosis without changes in steatohepatitis in a diet–induced nonalcoholic steatohepatitis model in mice. Hepatology 49 : 989–997, 2009.
21) Lee HY, Park JH, Seok SH, Baek MW, Kim DJ, Lee KE, Paek KS, Lee Y and Park JH : Human originated bacteria, Lactobacillus rhamnosus PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti–obesity effects in diet–induced obese mice. Biochim Biophys Acta 1761 : 736–744, 2006.
22) Esposito E, Iacono A, Bianco G, Autore G, Cuzzocrea S, Vajro P, Canani RB, Calignano A, Raso GM and Meli R : Probiotics reduce the inflammatory response induced by a high–fat diet in the liver of young rats. J Nutr 139 : 905–911, 2009.
23) Karahan N, Isler M, Koyu A, Karahan AG, Basyigit Kilic G, Ciris IM, Sutcu R, Onaran I, Cam H and Keskin M : Effects of probiotics on methionine choline deficient diet–induced steatohepatitis in rats. Turk J Gastroenterol 23 : 110–121, 2012.
24) Wang Y, Xu N, Xi A, Ahmed Z, Zhang B and Bai X : Effects of Lactobacillus plantarum MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high–cholesterol diet. Appl Microbiol Biotechnol 84 : 341–347, 2009.
25) Paik HD, Park JS and Park E : Effects of Bacillus polyfermenticus SCD on lipid and antioxidant metabolisms in rats fed a high–fat and high–cholesterol diet. Biol Pharm Bull 28 : 1270–1274, 2005.
26) Yadav H, Jain S and Sinha PR : Antidiabetic effect of probiotic dahi containing Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei in high fructose fed rats. Nutrition 23 : 62–68, 2007.
27) Loguercio C, De Simone T, Federico A, Terracciano F, Tuccillo C, Di Chicco M and Carteni M : Gut–liver axis: a new point of attack to treat chronic liver damage? Am J Gastroenterol 97 : 2144–2146, 2002.
28) Loguercio C, Federico A, Tuccillo C, Terracciano F, D'Auria MV, De Simone C and Del Vecchio Blanco C : Beneficial effects of a probiotic VSL#3 on parameters of liver dysfunction in chronic liver diseases. J Clin Gastroenterol 39 : 540–543, 2005.
29) Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R, Gonzalez Sagrado M, Primo D, De La Fuente B and Gonzalez J : Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients : a double blind randomized clinical trial. Eur Rev Med Pharmacol Sci 15 : 1090–1095, 2011.
30) Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, Dallinga–Thie GM, Ackermans MT, Serlie MJ, Oozeer R, Derrien M, Druesne A, Van Hylckama Vlieg JE, Bloks VW, Groen AK, Heilig HG, Zoetendal EG, Stroes ES, de Vos WM, Hoekstra JB and Nieuwdorp M : Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. Gastroenterology 143 : 913–916, 2012.
31) Ciorba MA : A gastroenterologist's guide to probiotics. Clin Gastroenterol Hepatol 10 : 960–968, 2012.
32) Hill C : Probiotics and pharmabiotics : alternative medicine or an evidence–based alternative? Bioeng Bugs 1 :

79–84, 2009.
33） Sleator RD and Hill C : Rational design of improved pharmabiotics. J Biomed Biotechnol 2009 : 275–287, 2009.
34） O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, Hurley G, Luo F, Chen K, O'Sullivan GC, Kiely B, Collins JK, Shanahan F and Quigley EM : Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome : symptom responses and relationship to cytokine profiles. Gastroenterology 128 : 541–551, 2005.

（参考文献のうち，数字がゴシック体で表示されているものについては，著者により重要なものと指定された分です.）