

有孢子性乳酸菌、低分子オリゴサッカライド含有製剤（ラフィノン®） のアレルギー性皮膚疾患に対する腸内環境への影響*

大川 博¹⁾ 中島由樹²⁾
Hiroshi OHKAWA Yuki NAKASIMA

ラフィノン®は動物用健康補助食品として開発された。これは活性の高い2つの成分、すなわち有孢子性乳酸菌、低分子化オリゴサッカライドを混合したものである。我々は、このラフィノン®の犬腸内細菌に対する調節作用について検討した。炎症性皮膚疾患のある犬（2頭）に対して、ラフィノン®を2週間連続投与を行い、投与前と投与後の糞便内腸内細菌数をカルピス研究所にて測定した。これらの腸内細菌数を測定した結果として、悪玉菌（*Clostridium*）の総数がラフィノン®投与前と投与後で比較して減少していた。これらのことから、ラフィノン®は犬腸内フローラに対して調節作用があり、腸内細菌の乱れに起因する疾患に対して治療効果を有する可能性が示唆された。

キーワード：孢子性乳酸菌、低分子オリゴサッカライド、ラフィノン®

はじめに

我々は、腸管の粘膜免疫系(腸管免疫)および腸内細菌叢(腸内フローラ)に着目して、それらの機能を維持、改善しうる天然由来の素材の開発を行った。2007年度に製品化(製品名:ラフィノン®)し、親子のチワワ種にラフィノン®を投与したところ善玉菌の割合が増加したことを報告した。

今回は、ラフィノンを難治性皮膚疾患の犬に投与した際の腸内細菌フローラ叢に対する効果を検討したので報告する。

シンバイオティクスとしてのラフィノン®

本実験で用いたプロバイオティクス素材は、有孢子性乳酸菌(*Bacillus coagulans*)で、1949年に山梨大学の中山大樹博士が緑麦芽から発見し、孢子を形成し耐熱性、耐酸性にすぐれている。また、本実験で用いたプレバイオティクス素材は、アカ

ザ科の植物*Beta Vulgaris*より得られた、低分子のオリゴサッカライドである。

腸内に有用と思われるこれら2つの素材をブレンドして「シンバイオティクス」としたのがラフィノン®である。これは、有孢子性乳酸菌(*Bacillus coagulans*:三菱化学フーズ株式会社より供与)と純度99%の低分子オリゴサッカライド(国内生産工場より供与)を混合し、有孢子性乳酸菌が4億個/10gになるように調整したものである。

材料および方法

試験材料: 試験薬として(株)スケアクロウを販売元とする「ラフィノン®(低分子オリゴサッカライド、有孢子性乳酸菌の混合物)」を使用した。

供試動物: 1)柴系雑種犬、雌、5歳齢、体重12kg、2)シーザー、雌、8歳齢、体重8kg(いずれも難治性アレルギー皮膚炎)を対象とした。飼料についてはプロバイオティクス、プレバイオティクス素材

* Effects of Spore bearing lactic acid bacterium and Low molecular oligosaccharide (Raffinon) on Bacterial flora in the intestine of dogs with allergic skin disease

¹⁾ (株)スケアクロウ: 〒150-0044 東京都渋谷区円山町 6-7 渋谷アムフラット 1F

²⁾ 三菱化学フーズ株式会社: 〒105-0011 東京都港区芝公園 2-11-1 住友不動産芝公園タワー

が添加混入されていない、市販のドッグフードを与えた。

投与スケジュール: 2008年7月から8月の間に、供試動物2頭の糞を採取し、その後ラフィノン® (100 mg/kg/day) を2週間連続混餌投与して、最終日に再び糞を採取し、冷所保管にて24時間以内に以下のように糞便内細菌フローラ叢を測定した。

糞便内細菌叢の検索: 糞便サンプル 1 gを秤量し、直ちに 9 mlの嫌気性希釈液を含む中試験管に移し酸素不含、炭酸ガス通気下で良く混和 (10⁻¹) する。その 1 mlに新しい希釈液 9 mlを加え、上記の炭酸ガスを吹き込みながら、同様に10⁻⁸倍まで希釈し、順次希釈液の0.05 mlを嫌気性菌用寒天平板 3種類に一様に塗抹した。

嫌気性用平板は、還元スチールウールとともにジャーに入れ、容器内を炭酸ガスで2回置換して37℃ 72時間嫌気培養した。

培養終了後、各培地に発育した集落の形状およびその数を記録し、それぞれグラム染色を行った。集落の形状、グラム染色性、菌の形態によって菌群を決定し集計した。

※これらの解析試験はカルピス(株)腸内フローララボラトリー (神奈川) によって実施された。

結果と考察

結果を表1に示す。なお、表中の空欄 (—) は今回その菌は検出できなかったことを示す。

本実験結果より、イヌ腸内フローラとそれに対するラフィノン®の影響についての効果を得ることができた。まず、供試動物1) の場合、試験開始時の測定では善玉菌の指標の一つである*Bifidobacterium*は検出されず、悪玉菌の指標の一つであ

る*Clostridium*が検出された。そして、ラフィノン投与後の試験終了時では*Bifidobacterium*は検出されなかったものの、*Clostridium*が減少して不検出となっていた。また、供試動物2) の場合、*Bifidobacterium*がラフィノン®投与後に増加傾向がみられた一方で、*Clostridium*は総菌数と比較して相対的に減少傾向がみられた。

前回 (2007年度) の試験では、健全なチワワ種の子犬ではもともとある一定量の*Bifidobacterium*が存在していた (10⁹個) が、成犬では10³個程度しか検出されていなかった。しかし今回は、動物1) と2) で*Bifidobacterium*の量が一定でなかったために、難治性アレルギー皮膚炎の病態と腸内細菌フローラ叢の善玉菌/悪玉菌のバランスとの相関関係を考察するに至らなかった。

しかし一方で、ラフィノン®を投与後では善玉菌が増加し、悪玉菌が減少する傾向がみられた。とくに供試動物1) では、もともと*Bifidobacterium*が不検出であったためにラフィノン®の投与で*Bifidobacterium*が増えることはなかったものの、悪玉菌 (*Clostridium*) がなくなっていたことは特筆すべきことである。

ラフィノン®は腸内フローラの改善、腸内免疫の活性化に寄与し、難治性アレルギー皮膚炎をはじめとするさまざまな疾患に対して効果を発揮することが期待できる。

参考文献

- ・大川博、中島由樹：有孢子性乳酸菌、低分子オリゴサッカライドのシンバイオティクスとしての動物用サプリメント開発の試み、第28回動物臨床医学会プロシーディング、No.3、170-171 (2008)

表1 難治性アレルギー皮膚炎のラフィノン投与による糞便内細菌叢の変化

| 供試動物1 | 投与前 (2007.7.15) | | 投与後 (2007.7.29) | |
|-----------------------------------|-----------------------|-------|------------------------|-------|
| | 菌数実数値 | 菌数対数値 | 菌数実数値 | 菌数対数値 |
| <i>Bifidobacterium</i> | — | — | — | — |
| <i>Clostridium Lecithinase(+)</i> | 2.0 × 10 ³ | 3.0 | — | — |
| <i>Total bacteria</i> | 6.4 × 10 ⁹ | 9.8 | 5.0 × 10 ¹⁰ | 8.7 |
| 供試動物2 | 投与前 (2007.7.22) | | 投与後 (2007.8.11) | |
| | 菌数実数値 | 菌数対数値 | 菌数実数値 | 菌数対数値 |
| <i>Bifidobacterium</i> | 2.0 × 10 ⁸ | 8.3 | 6.0 × 10 ⁸ | 8.8 |
| <i>Clostridium Lecithinase(+)</i> | 1.3 × 10 ⁶ | 6.1 | 0.4 × 10 ⁶ | 5.6 |
| <i>Total bacteria</i> | 2.0 × 10 ⁹ | 9.3 | 9.7 × 10 ⁹ | 10.0 |