

# 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S）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への試み

大川 博<sup>1)</sup> 中島 由樹<sup>2)</sup>

1) 株式会社スケアクロウ 2) 三菱化学フーズ株式会社

## はじめに

我々は、生体の自然免疫、特に腸管の粘膜免疫系（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探索を行い、製剤化とともにイヌ腸内細菌に対する影響の予備的検討を行ったので報告する。

表1 腸内フローラ調節物質について

プロバイオティクス	腸内フローラのバランスを改善することにより、宿主（人や動物など）に有益な作用をもたらす生きた微生物群。
プレバイオティクス	プロバイオティクスのような有用な菌を増やし、腸内環境の改善を促進する物質。オリゴ糖や食物繊維などはプロバイオティクスを用いた食品に添加され、プレバイオティクスとして働く。
シンバイオティクス	プロバイオティクスとプレバイオティクスを組み合わせたものをシンバイオティクスといい、特定保険用商品などによくみられる組み合わせである。

## 試験材料

試験薬として株）スケアクロウが試作した「ラフィノンS」を使用した。これは、有孢子性乳酸菌（表2）（*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（図1）（三糖類MW:504.44 g/mol：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。

表2 有孢子性乳酸菌(*Bacillus coagulans*)の特長

形態	両端半球状のまっすぐな桿菌で長連鎖をなすことは少ない。生活細胞の大きさは0.5～0.8 μ/2.5～10 μで、運動性を示さないが若い細胞ではグラム陽性で運動性がある。
生理的性質	18～62℃で生育生産し、40～50℃で生育が最も旺盛である。pH4.3～9.5の間で生育し、pH4.0以下では生育しないが胞子が死滅することはない。インドール、色素、アンモニア、硫化水素などは発生しない。
乳酸菌型	ホモ酪酸型で、右旋性の乳酸(L型)を産生する。
胞子の性質	65～90℃、加熱時間30分では全く胞子数の減少は見られず、95℃では加熱時間が長くなると徐々に減少する。

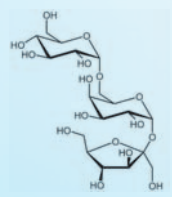


図1 IUPAC(β-D-フルクトフランシル=α-D-ガラクトピラノシル-(1-6)-α-D-グルコピラノシル)

## 結果 / 考察

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Sの影響についての予備的データを得ることができた。まず、成犬と仔犬の腸内フローラの比較であるが、仔犬の方が一般的に善玉菌と呼ばれる *Bifidobacterium* の存在比が多く、成犬の *Bifidobacterium* は仔犬のそれに比べて1/106程度であった。また成犬、仔犬ともにラフィノンSの投与によって、総細菌数は2倍程度上昇していた。さらに、仔犬の *Bifidobacterium* 数は約2倍に増加し、悪玉菌と呼ばれる *Clostridium* は1/106に減少していた。また、ラフィノンSは100mg/kg/dayの投与量で仔犬の腸内環境を改善し、成犬に対しても総細菌数の増加がみられた。これらのことから、ラフィノンSの予備実験の段階でシンバイオティクスとして腸内フローラの改善に有用である可能性の大きな結果が得られた。さらに、成犬に対しては、*Bifidobacterium* 及び *Clostridium* いずれにおいても有意と思われる変化はみられなかった。これに対してはラフィノンSの投与量、投与期間、他の腸内細菌同定などの精細な調査が必要と思われる。

今後我々はイヌ糞便内細菌叢の解析を継続しながら、ラフィノンSの効果について研究を続けるとともに、他の補完代替療法で用いられて

効果が確認されている素材（パンフェノンなど）との併用による効果を検証する予定である。

### ●糞便内細菌叢の検索

糞便サンプル 1g を秤量し、直ちに 9ml の嫌気性希釈液を含む中試験管に移し 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。その後集落の形状、グラム染色性、菌の形態によって菌群を決定し集計した。(表3、図2、3)

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

### ●試供動物

イヌ（チワワ種：Canis Familiaris）5 年齢♀、その仔♀ 3ヶ月齢各1頭を対象とした。飼料については調整された市販品を与えた。

表3 成犬及び仔犬のラフィノンS投与による糞便内細菌叢の変化

成犬腸内フローラ	投与前 (2007.8.29)		投与後 (2007.9.3)		仔犬腸内フローラ	投与前 (2007.8.29)		投与後 (2007.9.3)	
	菌数実数値	菌数対数値	菌数実数値	菌数対数値		菌数実数値	菌数対数値	菌数実数値	菌数対数値
<i>Bifidobacterium</i>	9.0 × 10 <sup>3</sup>	3.95	—	—	<i>Bifidobacterium</i>	1.2 × 10 <sup>9</sup>	9.08	2.0 × 10 <sup>9</sup>	9.30
<i>Clostridium Lecithinase(+)</i>	2.0 × 10 <sup>2</sup>	2.30	2.2 × 10 <sup>3</sup>	3.34	<i>Clostridium Lecithinase(+)</i>	6.0 × 10 <sup>6</sup>	6.78	8.0 × 10 <sup>2</sup>	2.90
Total bacteria	2.4 × 10 <sup>10</sup>	10.38	5.0 × 10 <sup>10</sup>	10.70	Total bacteria	2.0 × 10 <sup>10</sup>	10.31	4.6 × 10 <sup>10</sup>	10.66

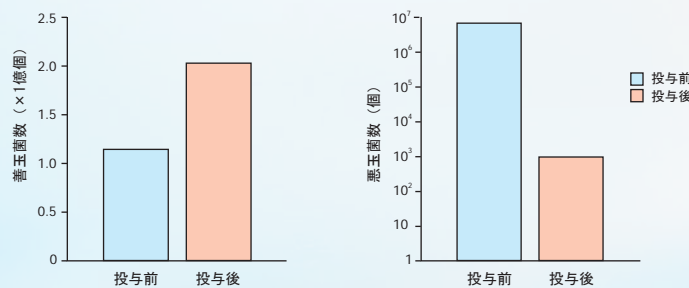


図2 仔犬におけるラフィノンSによる腸内善玉菌数(*Bifidobacterium*)および悪玉菌数(*Clostridium*)の変化

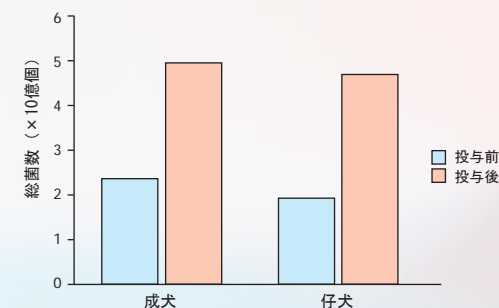


図3 成犬および仔犬におけるラフィノンSによる腸内細菌(総菌数)の変化