



酪酸菌および 3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロピオン酸配合食品摂取による腸内環境改善効果の検討： ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験

荻野目夏望¹⁾／横川 剛¹⁾／名嶋真智²⁾／
宮田晃史³⁾／白土 直⁴⁾

● 要旨

目的：本試験は酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) および米ぬか発酵物由来 3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロピオン酸 (以下, HMPA) 配合食品の腸内環境の改善効果を検討したものである。

方法：酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) および HMPA 配合食品の腸内環境・腸内細菌叢 (腸内フローラ) の改善効果を確認するために, メタゲノム解析 (腸内細菌推移), メタボローム解析 (短鎖脂肪酸), 排便日誌の取得をランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験にて行った。また副次アウトカムとして, 主観評価, 血液生化学的検査と血液学検査, 尿一般検査を実施した。試験期間中アンケートにて副作用の有無も確認した。

結果：BMI 20 kg/m² 以上 30 kg/m² 未満の 20 歳以上 65 歳以下で排便が週 5 日以下の健常な日本人男女を対象として試験を実施した。酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) および HMPA 配合食品を摂取する群 16 名 (男性 5 名, 女性 11 名), 試験品から酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) と HMPA を除いたプラセボ品を摂取する群 15 名 (男性 5 名, 女性 10 名) の 2 群で解析を行った。8 週摂取後に試験品群はプラセボ群と比較して酪酸菌 (*Clostridium butyricum*), 酪酸産生菌である *Coprococcus*, 12 週摂取後には酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) の腸内細菌の有意な増加ならびに, 酪酸・酢酸の産生促進が認められた。また主観評価の便通の爽快感で有意な改善が認められた。本試験において安全性には問題なかった。

まとめ：酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) および HMPA 配合食品には腸内の善玉菌 (酪酸菌) を増やし, 酪酸や酢酸などの短鎖脂肪酸の産生を促進することで腸内細菌叢 (腸内フローラ) などの腸内環境を改善する効果があることが分かった。また主観評価でも便通の爽快感で有意な結果が認められた。一方で試験期間中に有害事象は発見されず, 安全性が示唆された。

Key words：酪酸菌 (*Clostridium butyricum*), 米ぬか発酵物, 3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロピオン酸, HMPA, 腸内環境, 腸内細菌叢 (腸内フローラ), 便通, 短鎖脂肪酸, 酪酸, 酢酸

はじめに

近年肉食中心の食生活, 新型コロナ禍での外出自粛の要請・テレワークの推進などで, 人々は高脂肪

低食物繊維の食事や運動不足・不規則な生活やストレス環境下におかれている。なかでも野菜不足と運動不足に起因するとされる便秘を訴える人は年々増加し, 女性の 2 人に 1 人は便秘であるといわれて

1) 株式会社ニコリオ 2) 日本臨床試験協会 (JACTA ; Japan Clinical Trial Association)

3) 日本橋エムズクリニック 4) オルト株式会社

いる¹⁾。

ほとんどの便秘は機能性便秘であり、生活習慣の改善と腸内環境の改善、ならびに排便時の姿勢や環境づくりなどでコントロールできることが多い²⁾。腸内環境はヒトが生まれながらに持つ腸内細菌叢（腸内フローラ）の構成によって左右される。すなわち、便秘しづらい腸内環境は腸内細菌のバランスによって決定される。

一方、ヒトの腸内には500～1,000種以上、100兆個以上の腸内細菌が主に大腸に存在し、成人1人に存在する腸内細菌の重量は約1.5kgにのぼるとされる。腸内細菌の役割として、免疫力の改善^{3,4)}、肥満の改善などにも寄与しており⁵⁾、最近の研究では自閉症やうつ病などの精神疾患や脳腸相関といった概念が示唆されている^{6)~9)}。腸内細菌叢（腸内フローラ）の乱れ（dysbiosis）は、ストレスへの抵抗性の低下¹⁰⁾、免疫力の低下¹¹⁾、肌のバリア機能の低下など腸内環境の悪化により健康への悪影響が知られている。とりわけ、腸内環境の悪化と肥満の関連が指摘されている。

近年、腸内細菌叢（腸内フローラ）と宿主であるヒトの肥満との関係を示唆する研究成果が報告されている¹²⁾¹³⁾。高脂肪食の摂取は、*Firmicutes* 門、*Proteobacteria* 門の増加、*Bacteroidetes* 門の減少を招き、腸内細菌叢（腸内フローラ）のバランスを崩す要因となり、腸管バリア機能など腸自体の機能を低下させる。また、悪玉菌と一般的にいわれる腸内細菌が産生する炎症物質が体内に侵入しやすくなることで、代謝機能に影響を及ぼすことが示唆されている¹⁴⁾¹⁵⁾。さらに、Gordonらの研究によると、肥満と腸内細菌叢（腸内フローラ）との相関が遺伝子改変マウスにより明らかになり¹⁶⁾、同様にヒトにおいても腸内細菌叢構成比と肥満に相関があることが確認されている¹⁷⁾。一方で、腸内細菌叢（腸内フローラ）のバランスを整えることで善玉菌と一般的にいわれる腸内細菌が酪酸や酢酸などの短鎖脂肪酸を産生し、ヒト体内へ吸収された後に、短鎖脂肪酸の受容体であるGPR41やGPR43などを介して脂質代謝を経由した脂肪燃焼作用など代謝機能に作用することが報告されている¹⁸⁾。

短鎖脂肪酸の一つである酪酸は大腸粘膜上皮のエネルギー源として活用され、良質な腸内細菌叢（腸内フローラ）を作るのに必須である¹⁹⁾。酪酸などの

短鎖脂肪酸が腸内での生成を促進することができれば、腸内細菌叢（腸内フローラ）の改善につながり、さらに便通改善にもつながると考えられる。

酪酸産生菌は短鎖脂肪酸である酪酸を産生する菌の総称で、特に酪酸菌（*Clostridium butyricum*）が代表的な菌とされている。酪酸菌（*Clostridium butyricum*）は、ヒトや土壌など環境中にも存在し、さらには医薬品としても使われている。酪酸菌（*Clostridium butyricum*）は、偏性嫌気性の芽胞を形成するグラム陽性の桿菌である。酸素が存在する好気性下では活動・増殖せず、芽胞（殻）状態となる。酪酸菌は、食品として摂取後に生きたまま大腸へ到達し、酸素が全くない嫌気性条件下で活動し、酪酸や酢酸を始めとする短鎖脂肪酸を産生する。酪酸菌により生成された短鎖脂肪酸（酪酸、酢酸、プロピオン酸）は健康を維持する多くの生理作用があるといわれている²⁰⁾。

腸内細菌叢（腸内フローラ）のバランスを整え、腸内環境を改善するものとして近年注目を浴びているのが「プロバイオティクス」である。プロバイオティクスは「適切な量で投与すると、宿主に健康上の利益を与える生きた微生物」と定義される²¹⁾。すなわち腸内細菌叢（腸内フローラ）の改善にはプロバイオティクスを摂取することが有効とされている。ところが、腸管常在性の細菌群は、“定着抵抗性（CR）”という仕組みに基づいてサプリメントなどで摂取した外在性の微生物の腸内定着を阻害することが知られている²²⁾。したがって、酪酸菌などの有用菌は継続して摂取することが重要である。

また、摂取後に血中や尿中の主要な代謝産物として報告のあるHMPAは肥満モデルマウスにおいて腸内細菌叢（腸内フローラ）の細菌の増減と相関関係にあることが報告されている²³⁾²⁴⁾。このHMPAはコーヒーや小麦全粒粉²⁴⁾などの食品の他、クルクミン²⁵⁾、 γ -オリザノール²³⁾、ヘスペリジン²⁶⁾などのポリフェノール化合物を摂取した際の代謝物として、黒酢²⁷⁾や樽酒²⁸⁾などの発酵食品にも含まれていることが報告されている。

しかしながら、酪酸菌（*Clostridium butyricum*）や短鎖脂肪酸による腸内環境や便通に関する報告はあるものの、酪酸菌（*Clostridium butyricum*）とHMPAの併用による効果を報告するものは報告されていない。

そこで我々は、酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) および米ぬか発酵物由来の HMPA を配合した食品 (サプリメント) を 12 週間摂取することによる腸内環境改善および便秘改善機能への影響を検証するため、年齢 20 歳以上 65 歳以下で排便回数が 1 週間 5 日以下の健常な日本人を対象として、ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験を実施した。

I. 対象および方法

1. 試験デザイン

日本臨床試験協会 (JACTA) (東京) を試験機関とし、宮田晃史 (日本橋エムズクリニック院長) (東京) を試験総括責任医師として、ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験を実施した。測定は JACTA 内検査室にて行った。本試験は UMIN-CTR に計画を登録され (ID: UMIN 000043592), オルト株式会社の資金提供により実施された。

2. 対象者

株式会社ブレイクスルー (東京) が一般募集し、以下の選択基準を満たし、除外基準に合致せず、被験品の摂取を自ら希望する者を被験者とした。

1) 選択基準

- ① 20 歳以上 65 歳以下
- ② BMI が 20 kg/m^2 以上 30 kg/m^2 未満
- ③ 排便が週 5 日以下の人 (排便があっても残便感がある状態で排便が数日に 1 回程度に減少し、排便の間隔が不規則な人)

2) 除外基準

- ① 肥満、脂質異常症、糖尿病により医師による治療、投薬、生活指導を受けている者
- ② 抗凝固薬 (ワルファリンなど)、抗血小板薬 (アスピリン、クロピドグレル、チクロピジン、シロスタゾールなど) を常用している者
- ③ BMI が 30 kg/m^2 以上の者
- ④ 家族性高コレステロール血症と判断される者
- ⑤ 重篤な脳血管疾患、心疾患、肝疾患、腎疾患、消化器疾患、届出が必要な感染症などに罹患

している者

- ⑥ ペースメーカー、除細動器を使用している者
- ⑦ 胃切除、胃腸縫合術、腸管切除など消化器系に大きな手術歴のある者
- ⑧ 血圧測定、血液検査で著しい異常が認められる者
- ⑨ 高度の貧血のある者
- ⑩ 閉経前後の女性で体調の著しい変化がみられる者
- ⑪ 薬物または食品 (特に柑橘類) に対しアレルギー症状を示す恐れのある者
- ⑫ 体重、体脂肪に影響する医薬品、健康食品、サプリメント (カテキン・ケルセチン等のポリフェノール、グラブリジン含有甘草抽出物、キトグルカン、難消化性デキストリン等の食物繊維などの成分を含むもの) を常用している者
- ⑬ 血清脂質に影響する医薬品、健康食品、サプリメント (EPA, DHA, 中鎖脂肪酸, 植物ステロール, セサミン, ウコン, ポリフェノール, 難消化性デキストリン等の食物繊維などの成分を含むもの) を常用している者
- ⑭ 血糖に影響する医薬品、健康食品、サプリメント (難消化性デキストリン等の食物繊維, ポリフェノールなどの成分を含むもの) を常用している者
- ⑮ 過度の喫煙者*¹ およびアルコールの常用者*² ならびに食生活が極度に不規則な者
- ⑯ 摂取開始前 16 週間以内に 400 mL 献血を行った女性、または摂取開始前 12 週間以内に 400 mL 献血を行った男性。また、摂取開始前 4 週間以内に 200 mL 献血または 2 週間以内に成分献血を行った者
- ⑰ 妊娠中または妊娠している可能性のある女性、および授乳中の女性
- ⑱ 他の臨床試験に現在参加しているか、あるいは 4 週間以内に参加していた者
- ⑲ その他、試験責任医師が不適格であると判断した者

*¹: 概ね 1 日 21 本以上の喫煙者を指す。

*²: 概ね 1 日純アルコールで 20 g (日本酒; 1 合 180 mL, ビール; 中瓶 1 本 500 mL, ウイスキー; ダブル 60 mL, 焼酎; 0.5 合 90 mL, ワイン; グラス 2 杯弱 200 mL 程度) 以上の量を週 6 日以上飲酒している者を指す。

表1 被験食品の組成

	試験品	プラセボ品
酪酸菌末 (<i>Clostridium butyricum</i>)	14 mg (生菌数として1,400万個)	—
米ぬか発酵物 (HMPA 23%)	50 mg	—
ビフィズス菌末	0.01 mg	0.01 mg
乳酸菌クレモリス菌末	0.01 mg	0.01 mg
賦形剤	適量	適量
合計 (1粒)	230 mg	220 mg

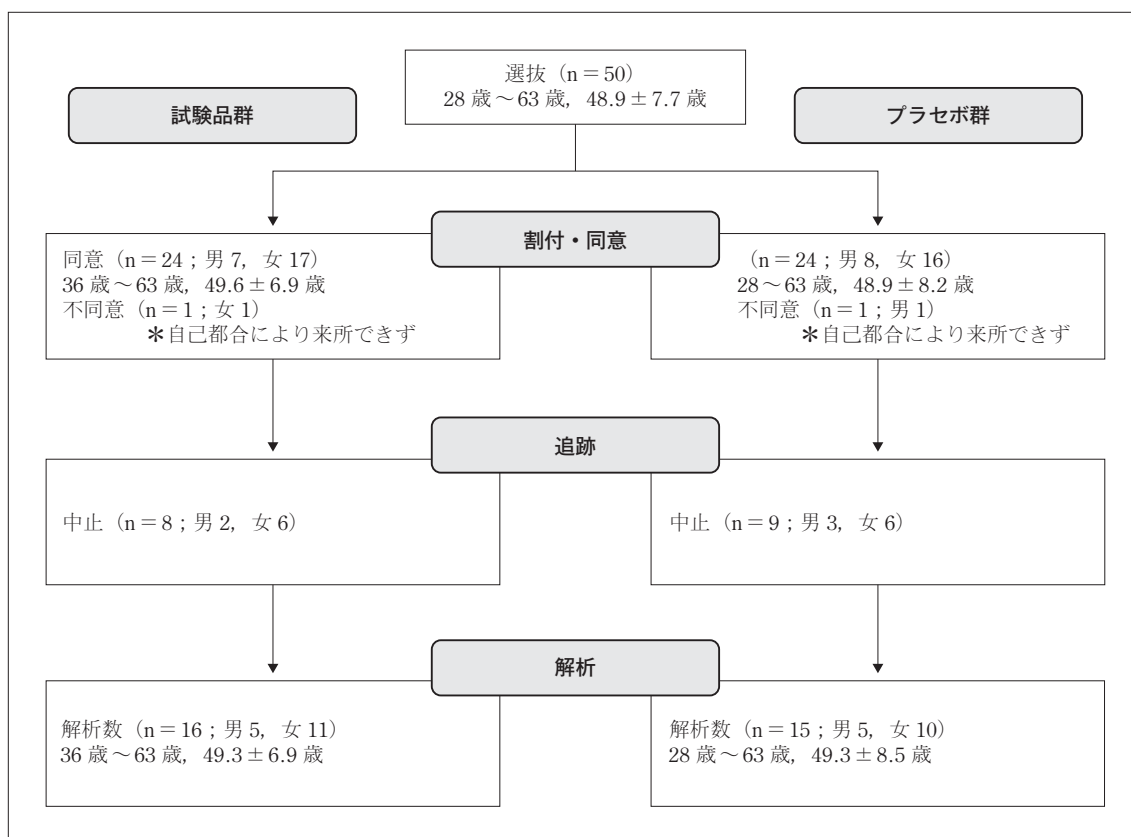


図1 試験解析のプロセス

3. 倫理審査委員会および被験者の同意

本試験はヘルシンキ宣言（2013年改訂WMAフォルタレザ総会）および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に則り、薬事法有識者会議倫理審査委員会（委員長：宝賀寿男弁護士）の承認を得たのち、被験者に同意説明文書を渡し、文書および口頭により本試験の目的と方法を十分に説明し、被験者から自由意思による同意を文書で得て実施された。

4. 試験品

試験品は、規格化された酪酸菌 (*Clostridium butyricum* : 酪酸菌数として10億個/g) および規

格化された米ぬか発酵物由来HMPA（丸善製薬株式会社製：HMPAとして23%以上含有）が配合された食品（ハードカプセル）とし、対照として酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) とHMPAをのぞいたプラセボ品（ハードカプセル）を用いた。試験品の詳細を表1に示す。摂取量は1日1粒（230mgのハードカプセル中に酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) 14.0mg（1,400万個/1日あたり）、HMPA 11.5mg/1日あたり）とし、12週継続摂取させた。

5. 無作為化

試験全体には80名が応募し、試験総括責任医師の判断により、選択基準を満たし除外基準に合致しない50名を選択した。試験に関係のない割付責任者が偏りを防ぐために、男女比と年齢を考慮したうえで乱数表を用いて試験に同意した48名をグループAとグループBにそれぞれ24名振り分けた(図1)。グループAは試験品を摂取(試験品群)、グループBはプラセボ品を摂取(プラセボ群)とした。割付内容は割付責任者が厳重に保管し、試験実施により得られた測定データ類の固定後に試験実施機関に開示した。

6. 試験スケジュール

試験スケジュールを図2に示した。試験は2021年3月18日から6月17日にかけて実施した。摂取前と摂取4週、8週、12週後に来所日当日朝に、採便容器(テクノスルガ社製、スプーン型保存液あり)に約1gの採便を行い、指定の検査機関へ提出させた。

試験期間中は全被験者が新たにサプリメントの摂取を開始しないこと、腸内環境や便通に影響を与えうる医薬品、サプリメントやドリンクを摂取しないこと、過度な運動や暴飲暴食をせず普段通りの食事と運動を維持することを指示した。さらに、すべての被験者に試験品の摂取状況、毎食の内容、就労時間、睡眠時間、喫煙本数、歩数を記した日誌の提出を義務付けた。

7. 評価項目

1) 観察項目

- 腸内環境細菌叢検査〔メタゲノム解析(腸内細菌推移)、メタボローム解析(短鎖脂肪酸)〕
- 血液生化学的検査〔TP, アルブミン定量, 尿素窒素, クレアチニン, 尿酸, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ, アラニンアミノトランスフェラーゼ, γ -グルタミルトランスベプチダーゼ, アルカリフォスファターゼ, 乳酸脱水素酵素, クレアチンキナーゼ, 総コレステロール, TG, LDLコレステロール, HDLコレステロール, 血糖値, HbA1c〕
- 血液学的検査〔白血球数(WBC), 赤血球数(RBC), ヘモグロビン(HGB), ヘマトクリット(HCT), 平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球ヘモグロビン量(MCH), 平均赤血球ヘモ

グロビン濃度(MCHC), 血小板(PLT)〕

2) 検査項目

- 便検査(メタゲノム解析, メタボローム解析)
- 便通・便性アンケート検査〔排便回数, 排便量, 便性状(ブリストルスケール)およびその他腹部症状〕
- 血液生化学的検査(TP, アルブミン定量, 尿素窒素, クレアチニン, 尿酸, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ, アラニンアミノトランスフェラーゼ, γ -グルタミルトランスベプチダーゼ, アルカリフォスファターゼ, 乳酸脱水素酵素, クレアチンキナーゼ, 総コレステロール, TG, LDLコレステロール, HDLコレステロール, 血糖値, HbA1c)
- 血液学的検査〔白血球数(WBC), 赤血球数(RBC), ヘモグロビン(HGB), ヘマトクリット(HCT), 平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球ヘモグロビン量(MCH), 平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC), 血小板(PLT)〕
- 尿一般検査(比重, pH, 蛋白, 糖, ケトン体, 潜血, ウロビリノゲン, ビリルビン, 白血球, 亜硝酸塩, 色調, 混濁)

8. 統計処理

解析はFASを採用した。主観評価スコアは平均値±標準偏差で示した。各群の摂取前と摂取後の比較は対応のあるt検定, 群間での比較と被験者背景の偏りについてはStudentのt検定を行った。サンプルサイズとデータの多重性は考慮せず, 欠損値はなかった。いずれも両側検定で危険率5%未満($p < 0.05$)を有意差ありと判定し, 統計解析ソフトは, Statcel 4(柳井久江, 2015)を使用した。

II. 結 果

1. 被験者背景

選択した48人全員が介入を開始した。17名が政府の緊急事態宣言のため, 自身の判断で来院を見合わせたため, 脱落した。31人(男性10人, 女性21人)が試験を完遂した。試験対象者の年齢, 介入前のBMIについて試験品群・プラセボ群で群間の偏りはなかった。

解析対象は試験品群16名(男性5名, 女性11名, 年齢 49.3 ± 6.9 歳), プラセボ群15名(男性5名, 女性10名, 年齢 49.3 ± 8.5 歳)の男女31

表3 腸内細菌の推移

項目	時点	測定値		p 値 ²⁾
		試験品群 ¹⁾	プラセボ群 ¹⁾	
<i>Clostridium butyricum</i> (種)	▲ 1 w (a)	1.5 ± 6.0	0.0 ± 0.0	0.341
	4 w (b)	1.7 ± 6.0	0.0 ± 0.0	0.283
	△ a - b	0.2 ± 0.4 [†]	0.0 ± 0.0	
	8 w (c)	1.1 ± 1.9	0.0 ± 0.0	0.032 [#]
	△ a - c	- 0.4 ± 5.2	0.0 ± 0.0	
	12 w (d)	1.4 ± 2.1	0.0 ± 0.0	0.014 [#]
△ a - d	- 0.1 ± 4.8	0.0 ± 0.0		
<i>Bifidobacterium</i> (属)	▲ 1 w (a)	4021.1 ± 4037.3	3653.8 ± 2704.9	0.77
	4 w (b)	4964.1 ± 4660.5	3749.4 ± 2575.0	0.381
	△ a - b	943.0 ± 2723.7	95.6 ± 1834.8	
	8 w (c)	8727.1 ± 9440.0	7738.3 ± 7089.7	0.745
	△ a - c	4706.0 ± 7145.5 [*]	4084.5 ± 5716.6 [*]	
	12 w (d)	4458.9 ± 4304.2	3104.5 ± 2363.8	0.291
△ a - d	437.8 ± 2253.0	- 549.3 ± 1889.4		
<i>Roseburia</i> (属)	▲ 1 w (a)	955.4 ± 1162.4	1480.0 ± 1929.8	0.363
	4 w (b)	1503.1 ± 1786.0	1519.7 ± 2083.6	0.981
	△ a - b	547.7 ± 1148.6 [†]	39.7 ± 1085.8	
	8 w (c)	2196.2 ± 2255.8	2029.8 ± 2769.0	0.855
	△ a - c	1240.8 ± 1645.0 ^{**}	549.8 ± 1768.6	
	12 w (d)	921.2 ± 903.5	829.3 ± 1225.4	0.813
△ a - d	- 34.3 ± 1104.9	- 650.7 ± 1331.4 [†]		
<i>Coprococcus</i> (属)	▲ 1 w (a)	353.1 ± 509.8	108.1 ± 112.0	0.079 [‡]
	4 w (b)	276.9 ± 264.4	175.5 ± 210.1	0.249
	△ a - b	- 76.2 ± 398.7	67.4 ± 126.1 [†]	
	8 w (c)	547.3 ± 517.1	222.2 ± 294.9	0.042 [#]
	△ a - c	194.3 ± 319.7 [*]	114.1 ± 230.4 [†]	
	12 w (d)	348.5 ± 447.0	150.1 ± 176.0	0.119
△ a - d	- 4.6 ± 219.4	42.1 ± 117.3		
<i>clostridium IV</i> (属)	▲ 1 w (a)	1148.1 ± 2322.8	774.3 ± 643.5	0.552
	4 w (b)	972.3 ± 1761.6	641.1 ± 580.0	0.494
	△ a - b	- 175.8 ± 733.2	- 133.3 ± 430.3	
	8 w (c)	1566.9 ± 2095.6	929.1 ± 922.4	0.287
	△ a - c	418.8 ± 2449.5	154.7 ± 748.8	
	12 w (d)	893.1 ± 2211.3	464.9 ± 412.8	0.467
△ a - d	- 255.1 ± 586.8	- 309.4 ± 443.7 [*]		
<i>Lachnospiraceae</i> (科)	▲ 1 w (a)	11541.9 ± 4867.5	11974.5 ± 4060.0	0.791
	4 w (b)	14208.7 ± 5039.7	12127.4 ± 5058.0	0.261
	△ a - b	2666.8 ± 4103.7 [*]	152.9 ± 4329.2	
	8 w (c)	29604.6 ± 18304.2	23059.6 ± 9217.0	0.223
	△ a - c	18062.7 ± 17532.7 ^{**}	11085.1 ± 7891.9 ^{**}	
	12 w (d)	14051.8 ± 5516.0	12816.7 ± 5245.7	0.529
△ a - d	2509.9 ± 3791.0 [*]	842.2 ± 3698.5		

平均 ± 標準偏差, n: 試験品群 16, プラセボ群 15

1) [†]: p < 0.1, * : p < 0.05, ** : p < 0.01 vs. 使用前2) [‡]: p < 0.1, # : p < 0.05 vs. プラセボ群

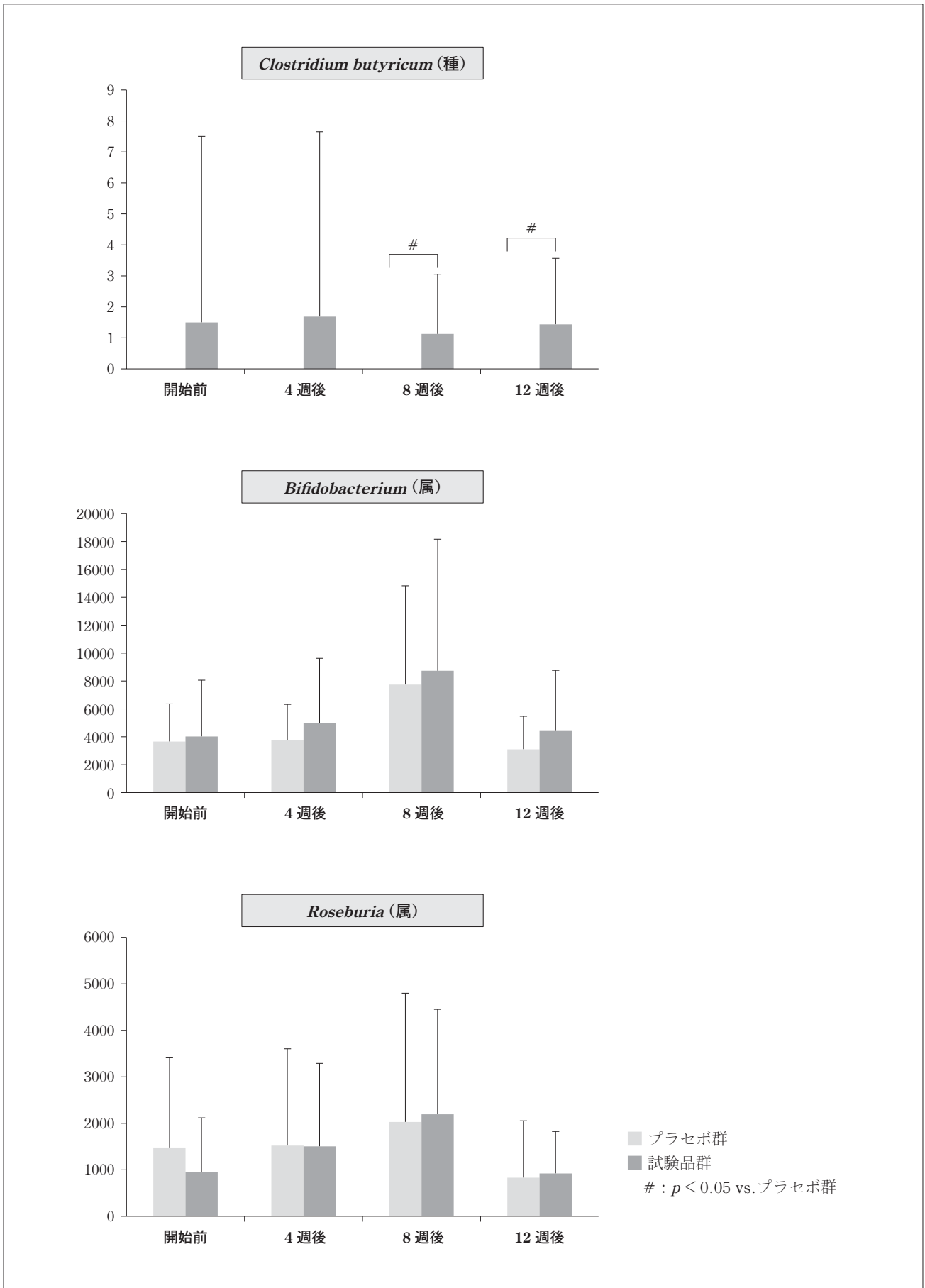


図 3-1 腸内細菌測定値の数値および変化量(1)

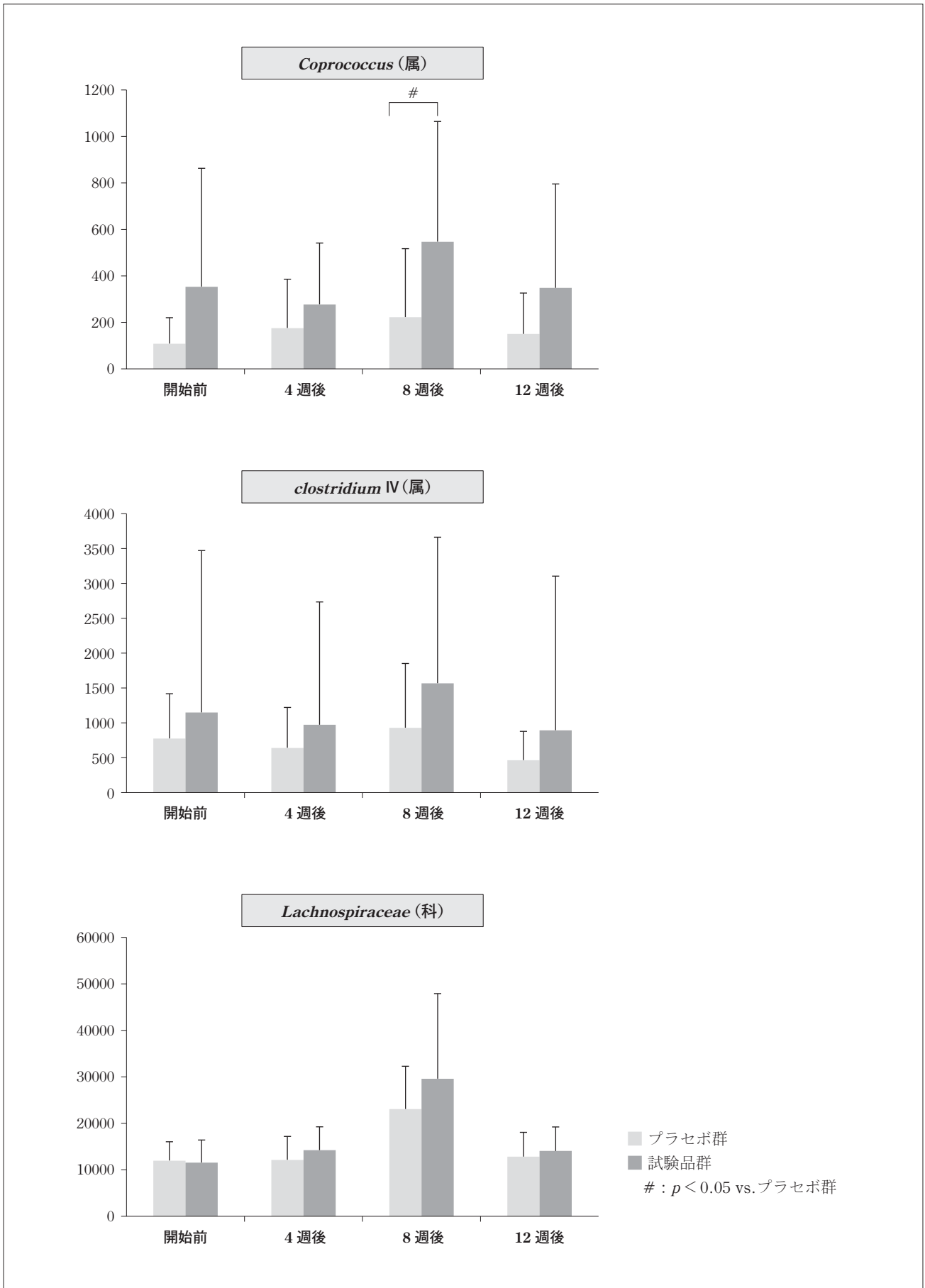


図 3-2 腸内細菌測定値の数値および変化量 (2)

表4 短鎖脂肪酸の推移

項目	時点	測定値		p 値 ²⁾
		試験品群 ¹⁾	対照品群 ¹⁾	
酢酸	▲ 1 w (a)	21.94 ± 7.80	25.98 ± 9.29	0.438
	4 w (b)	19.94 ± 8.15	26.42 ± 12.10	
	△ a - b	- 2.00 ± 6.03	0.44 ± 10.75	
	8 w (c)	30.15 ± 10.72	28.18 ± 10.29	0.066 [‡]
	△ a - c	8.20 ± 8.80 ^{**}	2.19 ± 8.72	
	12 w (d)	27.67 ± 11.25	21.86 ± 9.10	0.001 ^{##}
△ a - d	5.73 ± 6.58 ^{**}	- 4.12 ± 7.56 [†]		
n- 酪酸	▲ 1 w (a)	6.76 ± 3.53	8.27 ± 4.69	0.446
	4 w (b)	7.19 ± 4.85	7.42 ± 5.30	
	△ a - b	0.43 ± 3.03	- 0.85 ± 5.80	
	8 w (c)	7.61 ± 3.09	8.44 ± 5.76	0.718
	△ a - c	0.85 ± 4.13	0.17 ± 5.92	
	12 w (d)	8.75 ± 4.08	6.54 ± 4.88	0.033 [#]
△ a - d	1.98 ± 4.45 [†]	- 1.73 ± 4.62		

平均値 ± 標準偏差, n: 試験品群 16, 対照品群 15

1) †: $p < 0.1$, **: $p < 0.01$ vs. 使用前

2) ‡: $p < 0.1$, #: $p < 0.05$, ##: $p < 0.01$ vs. プラセボ群

試験において有害事象の発現はみられなかった。

Ⅲ. 考 察

我々は、酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) および米ぬか発酵由来の HMPA [3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル) プロピオン酸] を配合した食品 (サプリメント) または対照食品を 1 日 1 粒摂取することで便秘がちな健常人の腸内環境および便通への影響を検証するため、ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験を行った。その結果、8 週および 12 週摂取後に試験品群はプラセボ群と比較して、酪酸菌である *Clostridium butyricum*, 酪酸産生菌である *Coprococcus* の腸内細菌の有意な増加ならびに、短鎖脂肪酸である酪酸・酢酸の産生促進が認められた。また主観評価における便通の爽快感で有意な改善が認められた。

また、血液生化学検査と医師の診察により、12 週間の摂取期間中に有害事象は発見されず、試験品を摂取することによる安全性が確認された。

当該試験品を摂取することで、腸内環境の改善が認められたが、これは HMPA と酪酸菌の増加が寄与していると推察される。本試験で採用された試験品には酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) と HMPA

が含まれている。酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) はヒトの腸内細菌叢 (腸内フローラ) に存在する腸内細菌の一種であり、大腸粘膜上皮のエネルギー源として活用される酪酸や酢酸などの短鎖脂肪酸を産生する²⁹⁾。酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) は芽胞を持つため、経口摂取された際でも胃酸の影響を受けず、生きたまま大腸まで到達するため、試験品を摂取することで腸内の酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) の占有率と短鎖脂肪酸量の増加につながると推察される。本試験でも 8 週摂取後からプラセボと比較して酪酸菌が有意に増加していることが確認され、被験者体内で酪酸を産生する腸内細菌 (酪酸菌) の占有率の上昇が起こったことが推察された。また、HMPA は、*in vivo* の試験において、*Bacteroidetes* 門に属する腸内細菌を増加させ、*Firmicutes* 門に属する腸内細菌を減少させることにより、宿主の代謝恒常性に関わる腸内細菌を調節すること³⁰⁾ が明らかになっている。この作用により善玉菌と悪玉菌のバランスを調整し、相対的に悪玉菌の比率を低下させ、善玉菌の比率を上げることで腸内環境を改善する働きがあると考えられる。一般に、腸内環境の改善は腸内の有用菌や短鎖脂肪酸を増やすことなどと認識されている³¹⁾。本試験では酪

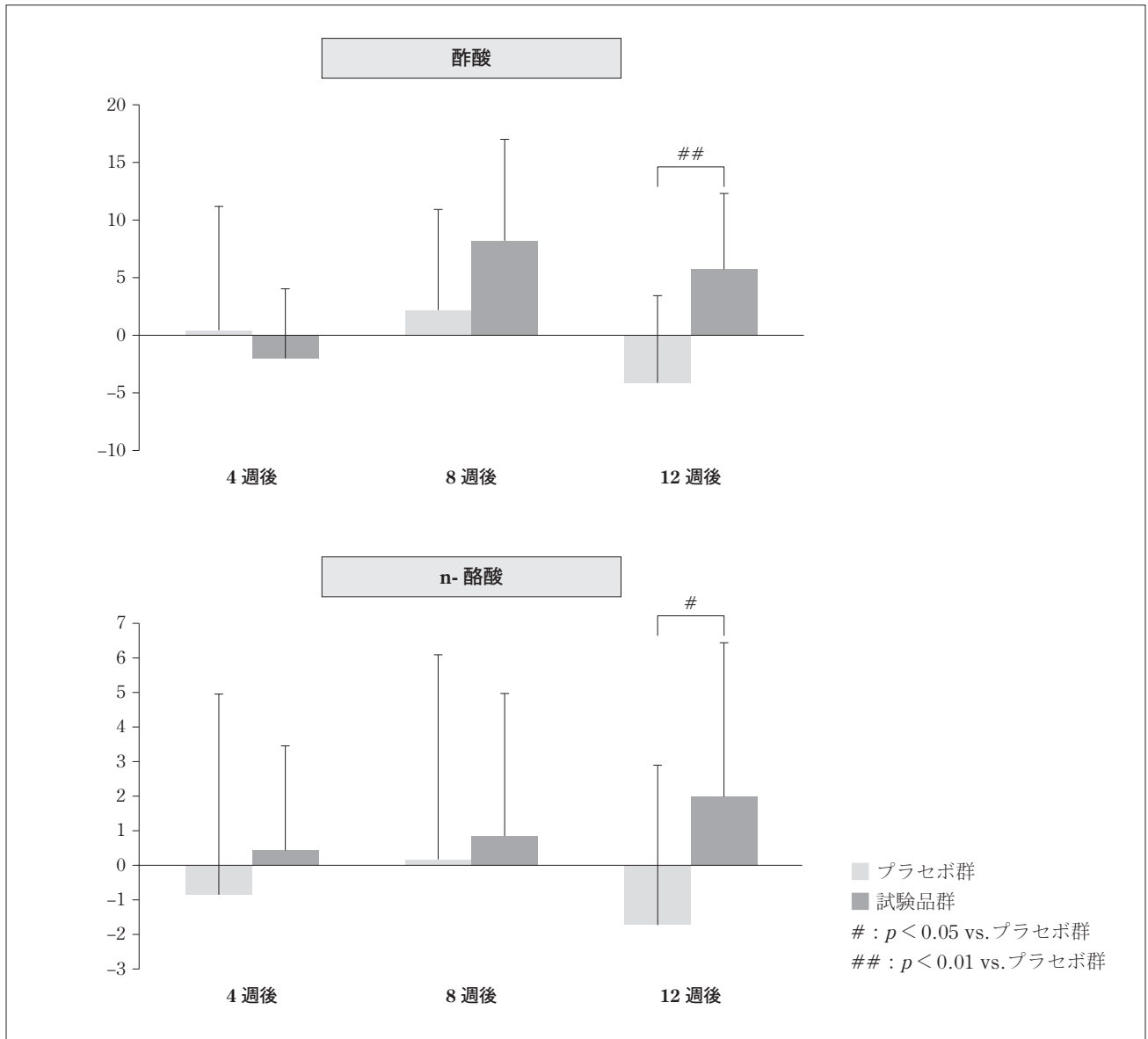


図4 短鎖脂肪酸の推移および変化量

酸菌である *Clostridium butyricum* と酪酸産生菌である *Coprococcus* の増加と短鎖脂肪酸である酪酸と酢酸の産生増加が認められたため、腸内環境が改善に向かったと判断することができる。

酪酸などの短鎖脂肪酸は大腸の粘膜細胞のエネルギー源となったり、蠕動運動を促進することで便通を改善する機能が知られている³²⁾。特に大腸の粘膜では血管から供給されるエネルギーよりも大腸内で供給される短鎖脂肪酸のエネルギーに依存していることが分かっている³³⁾。そのほか、酪酸や酢酸などの短鎖脂肪酸は、腸管タイトジャンクションの強化、腸内細菌由来の有害物質の流入を防ぐ腸管バリア機能の改善、免疫細胞を活性化することが知られ

ている³⁴⁾³⁵⁾。さらに酪酸は一時的な下痢症状を予防することが知られている³⁶⁾。しかし、経口摂取した酪酸などの短鎖脂肪酸は小腸で吸収されてしまい、大腸へはほとんど到達しない。大腸内で活用されるには酪酸などの短鎖脂肪酸を産生する酪酸菌などからの産生を期待する必要がある。芽胞を持つ酪酸菌であれば食品等で経口摂取することで生きたまま大腸に届き、酪酸を継続的に産生することができる。これらのことから、酪酸菌を含む当該試験品の摂取により腸内において酪酸菌が増加し、酪酸および酢酸の産生の増加が認められたことから、本試験での便通に対する影響については腸内環境の改善および腸内における短鎖脂肪酸の関与が考えられる。

表5 便通・便性における主観評価の推移

項目	時点	点		p 値 ²⁾
		試験品群 ¹⁾	対照品群 ¹⁾	
量	▲ 1 w (a)	10.8 ± 7.7	12.4 ± 9.3	0.189
	4 w (b)	20.5 ± 13.9	17.1 ± 11.2	
	∠ a - b	9.8 ± 9.4 ^{**}	4.7 ± 11.6	
	8 w (c)	19.5 ± 12.6	21.6 ± 13.6	0.936
	∠ a - c	8.8 ± 9.5 ^{**}	9.1 ± 14.2 [*]	
	12 w (d)	20.3 ± 13.3	22.5 ± 13.3	
∠ a - d	9.5 ± 10.1 ^{**}	10.1 ± 13.6 [*]	0.896	
回数	▲ 1 w (a)	3.6 ± 1.4	4.1 ± 1.7	0.449
	4 w (b)	5.6 ± 2.4	5.4 ± 2.4	
	∠ a - b	2.0 ± 1.9 ^{**}	1.3 ± 2.9 [†]	
	8 w (c)	5.6 ± 2.1	5.1 ± 2.6	0.303
	∠ a - c	2.0 ± 1.5 ^{**}	1.0 ± 3.5	
	12 w (d)	5.8 ± 2.3	6.3 ± 3.0	
∠ a - d	2.1 ± 1.8 ^{**}	2.2 ± 3.5 [*]	0.940	
爽快感	▲ 1 w (a)	2.5 ± 0.6	2.6 ± 0.6	0.236
	4 w (b)	2.9 ± 0.6	2.8 ± 0.5	
	∠ a - b	0.5 ± 0.6 [*]	0.1 ± 0.8	
	8 w (c)	2.8 ± 0.6	2.7 ± 1.0	0.482
	∠ a - c	0.3 ± 0.6 [*]	0.1 ± 1.1	
	12 w (d)	3.0 ± 0.6	2.5 ± 0.8	
∠ a - d	0.6 ± 0.6 ^{**}	- 0.1 ± 0.9	0.029 [#]	
形状	▲ 1 w (a)	2.2 ± 0.6	2.1 ± 0.5	0.507
	4 w (b)	2.4 ± 0.4	2.2 ± 0.6	
	∠ a - b	0.2 ± 0.6	0.1 ± 0.7	
	8 w (c)	2.3 ± 0.6	2.4 ± 0.8	0.383
	∠ a - c	0.1 ± 0.3	0.3 ± 1.0	
	12 w (d)	2.4 ± 0.5	2.4 ± 0.6	
∠ a - d	0.2 ± 0.5	0.3 ± 0.7	0.825	
色	▲ 1 w (a)	1.6 ± 0.5	1.4 ± 0.4	0.017 [#]
	4 w (b)	1.7 ± 0.6	1.9 ± 0.4	
	∠ a - b	0.0 ± 0.3	0.5 ± 0.6 ^{**}	
	8 w (c)	1.7 ± 0.5	1.6 ± 0.6	0.530
	∠ a - c	0.1 ± 0.2 [*]	0.2 ± 0.8	
	12 w (d)	1.7 ± 0.5	1.8 ± 0.4	
∠ a - d	0.1 ± 0.3	0.4 ± 0.6 [*]	0.066 [‡]	
匂い	▲ 1 w (a)	3.0 ± 0.5	2.7 ± 0.6	0.852
	4 w (b)	3.0 ± 0.6	2.6 ± 0.5	
	∠ a - b	0.0 ± 0.6	- 0.1 ± 0.8	
	8 w (c)	3.0 ± 0.5	2.4 ± 0.9	0.461
	∠ a - c	0.0 ± 0.5	- 0.3 ± 1.1	
	12 w (d)	3.0 ± 0.6	2.8 ± 0.5	
∠ a - d	- 0.1 ± 0.7	0.1 ± 0.5	0.385	

平均値 ± 標準偏差, n : 試験品群 16, 対照品群 15

1) * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ vs. 使用前

2) † : $p < 0.1$, # : $p < 0.05$ vs. プラセボ群

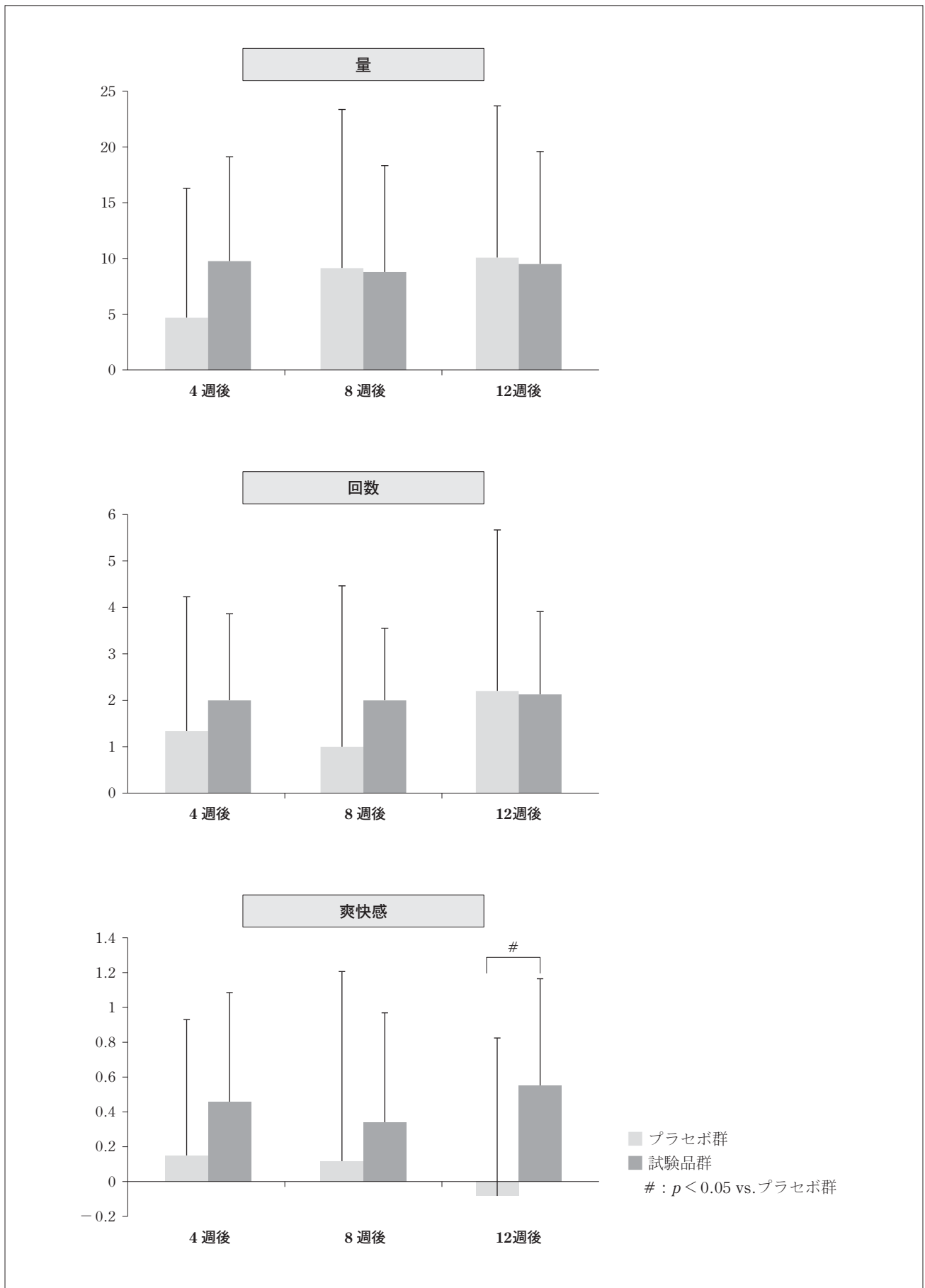


図 5-1 便通・便性における主観評価の推移と変化量 (1)

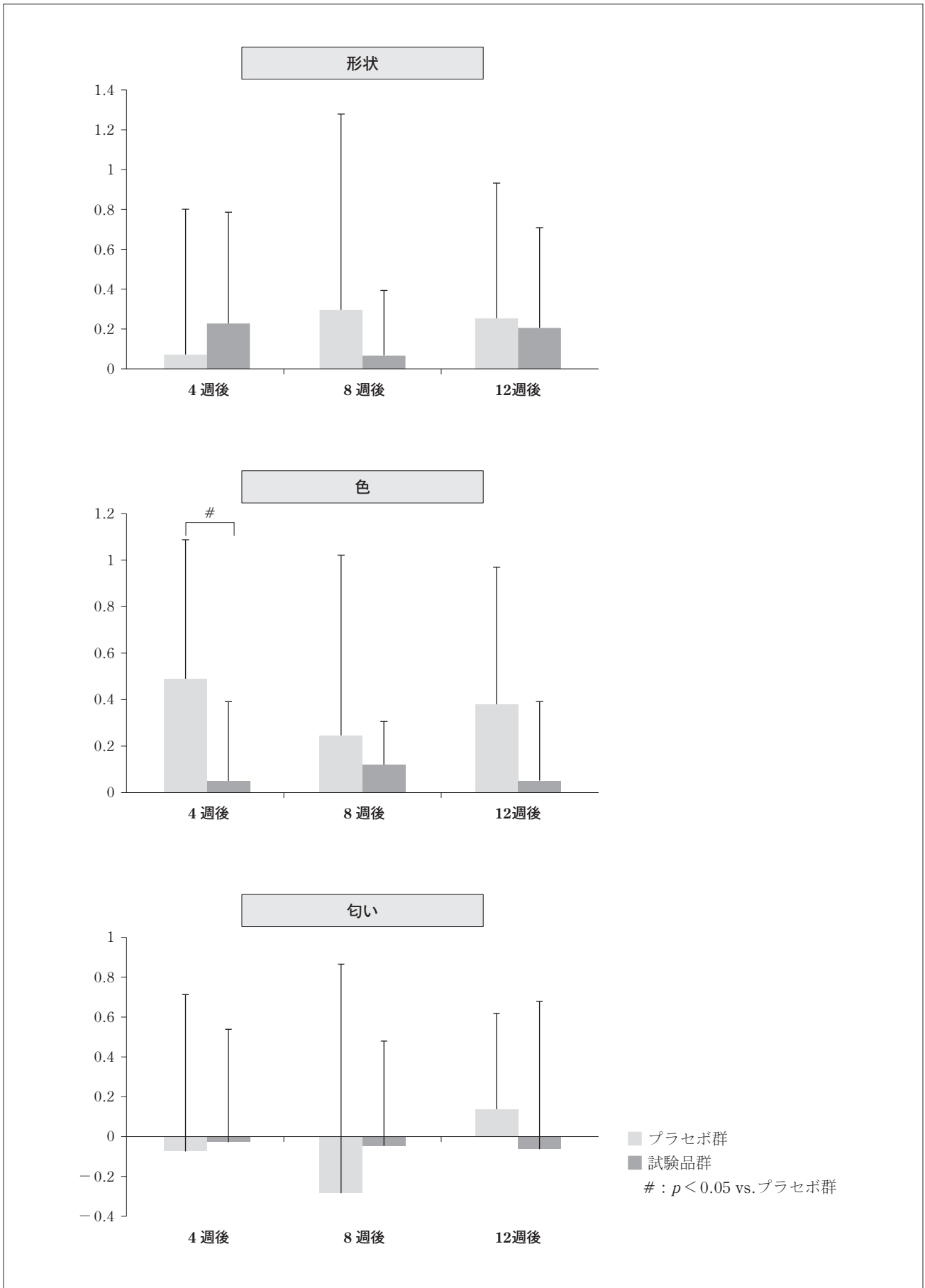


図 5-2 便通・便性における主観評価の推移と変化量 (2)

他方、本試験では便通の量や回数などは有意な改善を認められなかったが、主観評価の「便通の爽快感」で有意な改善が認められた。「便秘」とは、便の量および回数ではなく、便秘症ガイドライン³⁷⁾において「本来体外に排出すべき糞便を十分量かつ快適に排出できない状態」と定義されている。すなわち、便の量・回数・色・匂いなどはその時に摂取した食物に由来するところが大きい、腹部膨満感など腹部の不快感が解消されることで「本来排出すべき糞便を快適に排出できている状態」だと判断することができる。本試験では、「便通の爽快感」が向上したことで、「残便感」「便のキレ」などについて効果を発揮し、ガイドラインに沿った便秘の定義上「便秘が軽減した」と考えることができる。加えて、腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸はエネルギー源となるだけでなく³⁷⁾、腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸は腸管の蠕動運動や大腸粘膜の粘液分泌を亢進させることで糞便の腸管通過をスムーズにする³⁸⁾。したがって、当該試験品を摂取することにより短鎖脂肪酸による腸管の蠕動運動が活発になり、腸内に便の残りなく1回の便通でしっかり排出されたことから「便通の爽快感」の高評価が続いたのではないかと思われる。

本試験により、酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) と HMPA を摂取することで腸内環境改善・便通改善効果が示唆された。酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) はヒトの腸内常在菌であるが、酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) を含む食事は臭豆腐など一部の食品にしか含まれておらず、酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) そのものを経口摂取で摂取する意義は高いと考えられる。しかし、酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) と代謝産物である HMPA と一緒に経口摂取することによる体内相互機序も明らかになっていないため、今後の課題としたい。

ま と め

酪酸菌 (*Clostridium butyricum*) および HMPA 配合食品には酪酸菌や酪酸産生菌などのいわゆる善玉菌を増やし、酪酸や酢酸などの短鎖脂肪酸を増加させ、腸内環境改善効果・便通改善効果があることが分かった。また主観評価でも便通の爽快感で改善効果が認められた。一方で試験期間中に有害事象は発見されず、安全性が示唆された。

利 益 相 反

本試験の試験食品および研究資金はオルト株式会社が負担し、本試験の実施は、オルト株式会社が第三者機関である日本臨床試験協会 (JACTA) に委託し、実施された。その他の開示すべき利益相反事項はない。

参 考 文 献

- 1) 西 基, 三宅浩次, 国本正雄. 女子高校生の便秘に関する因子. 小児保健研究. **61**: 520-4, 2002.
- 2) 浦尾正彦. 排便と健康. 順天堂醫事雑誌. **60**: 16-24, 2014.
- 3) Atarashi K, Tanoue T, Ando M, et al. Th17 cell induction by adhesion of microbes to intestinal epithelial cells. *Cell*. **163**: 367, 2015.
- 4) Shimada Y, Kinoshita M, Harada K, et al. Commensal bacteria dependent indole production enhances epithelial barrier function in the colon. *PLoS One*. **8**: e80604, 2013.
- 5) Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*. **143**: 913-6.e7, 2012.
- 6) Pärtty A, Kalliomäki M, Wacklin P, et al. A possible link between early probiotic intervention and the risk of neuropsychiatric disorders later in childhood a randomized trial. *Pediatr Res*. **77**: 823-8, 2015.
- 7) Logan AC, Katzman M. Major depressive disorder: probiotics may be an adjuvant therapy. *Med Hypotheses*. **64**: 533-8, 2005.
- 8) Heijtz RD, Wang S, Anuar F, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci*. **108**: 3047-52, 2011.
- 9) 福土 審. 脳腸相関とストレス. ストレス科学研究. **28**: 16-19, 2013.
- 10) 須藤信行. ストレスと腸内フローラ. 腸内細菌学雑誌. **19**: 25-9, 2005.
- 11) 種本 俊, 筋野智久, 金井隆典. 腸内細菌叢と免疫の関わり. 日本臨床免疫学会誌. **40**: 408-15, 2017.
- 12) Devaraj S, Hemarajata P, Versalovic J. The human gut microbiome and body metabolism: implications for obesity and diabetes. *Clin Chem*. **59**: 617-28, 2013.
- 13) Angelakis E, Armougom F, Million M, et al. The relationship between gut microbiota and weight gain in humans. *Future Microbiol*. **7**: 91-109, 2012.
- 14) Cani PD, Delzenne NM. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr Pharm Des*. **15**: 1546-58, 2009.
- 15) 山城雄一郎. 腸内細菌 - 宿主の健康と疾病への密接な関係. 順天堂醫事雑誌. **60**: 25-34, 2014.
- 16) Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, et al. The Human

- Microbiome Project. *Nature*. **444**: 1027-31, 2006.
- 17) Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, et al. Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. **444**: 1022-3, 2006.
 - 18) Kimura I, Ozawa K, Inoue D, et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun*. **4**: 1829, 2013.
 - 19) Scheppach W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. *Gut*. **35** (1 Suppl): S35-8, 1994.
 - 20) 坂田 隆, 市川宏文. 短鎖脂肪酸の生理活性. *日油化学会誌*. **46**: 1205-12, 1997.
 - 21) Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*. **66**: 365-78, 1989.
 - 22) Bohnhoff M, Drake BL, Miller CP. The effect of an antibiotic on the susceptibility of the mouse's intestinal tract to *Salmonella* infection. *Antibiot Annu*. **3**: 453-5, 1955-1956.
 - 23) Fujiwara S, Sakurai S, Sugimoto I, et al. Absorption and metabolism of gamma-oryzanol in rats. *Chem Pharm Bull*. **31**: 645-52, 1983.
 - 24) Vitaglione P, Mennella I, Ferracane R, et al. Whole-grain wheat consumption reduces inflammation in a randomized controlled trial on overweight and obese subjects with unhealthy dietary and lifestyle behaviors: role of polyphenols bound to cereal dietary fiber. *Am J Clin Nutr*. **101**: 251-61, 2015.
 - 25) Tan S, Calani L, Bresciani L, et al. The degradation of curcuminoids in a human faecal fermentation model. *Int J Food Sci Nutr*. **66**: 790-6, 2015.
 - 26) Roowi S, Mullen W, Edwards CA, et al. Yoghurt impacts on the excretion of phenolic acids derived from colonic breakdown of orange juice flavanones in humans. *Mol Nutr Food Res*. **53** (Suppl 1): S68-S75, 2009.
 - 27) Shimoji Y, Tamura Y, Nakamura Y, et al. Isolation and identification of DPPH radical scavenging compounds in Kurosu (Japanese unpolished rice vinegar). *J Agric Food Chem*. **50**: 6501-3, 2002.
 - 28) 高尾佳史, 山田 翼, 古川恵司ら. 樽酒中の成分とその火落菌増殖抑制効果. *日本醸造協会誌*. **107**: 868-74, 2012.
 - 29) Scheppach W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. *Gut*. **35** (1 Suppl): S35-8, 1994.
 - 30) Ohue-Kitano R, Taira S, Watanabe K, et al. 3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)propionic Acid Produced from 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic Acid by Gut Microbiota Improves Host Metabolic Condition in Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*. **11**: 1036, 2019.
 - 31) 田中祥之. 腸内環境及び便通を改善する機能性表示食品. *生物工学*. **95**: 590-3, 2017.
 - 32) 金子俊之, 河本高伸, 菊池弘恵ら. イソマルトオリゴ糖摂取が健常人の便通と腸内環境に及ぼす影響. *日本家政学誌*. **44**: 245-54, 1993.
 - 33) Angelakis E, Armougom F, Million M, et al. The relationship between gut microbiota and weight gain in humans. *Future Microbiol*. **7**: 91-109, 2012.
 - 34) Vanegas SM, Meydani M, Barnett JB, et al. Substituting whole grains for refined grains in a 6-wk randomized trial has a modest effect on gut microbiota and immune and inflammatory markers of healthy adults. *Am J Clin Nutr*. **105**: 635-50, 2012.
 - 35) Allen JM, Mailing LJ, Niemi GM, et al. Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Med Sci Sports Exerc*. **50**: 747-57, 2018.
 - 36) Krokowicz L, Kaczmarek BF, Krokowicz P, et al. Sodium butyrate and short chain fatty acids in prevention of travellers' diarrhoea: a randomized prospective study. *Travel Med Infect Dis*. **12**: 183-8, 2014.
 - 37) 眞部紀明, 春間 賢. 慢性便秘症診療ガイドライン 2017. *日内会誌*. **109**: 254-9, 2020.
 - 38) 安藤 朗. 新たな臓器としての腸内細菌叢. *日消誌*. **112**: 1939-46, 2015.
-