

ビフィズス菌製剤による慢性腎不全の進行抑制効果の検討

安藤康宏 宮田幸雄 丹波嘉一郎 斉藤 修
武藤重明 黒巢恵美 本間寿美子 草野英二
浅野 泰

Effect of oral intake of an enteric capsule preparation containing *Bifidobacterium longum* on the progression of chronic renal failure

Yasuhiro ANDO, Yukio MIYATA, Kaichiro TANBA, Osamu SAITO, Shigeaki MUTO,
Megumi KUROSU, Sumiko HOMMA, Eiji KUSANO, and Yasushi ASANO

Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Jichi Medical School, Tochigi, Japan

Since the accumulation of intestinal putrefactive products, such as indole and phenol, is known to play a role in the exacerbation of chronic renal failure, reduction of these intestinal putrefactive products can be expected to retard the progression of renal failure.

In the present study, an enteric capsule preparation containing *Bifidobacterium longum* (Bifidus HD®) was administered orally to 27 patients with chronic renal failure(CRF) for 6 months. Though no significant effect was found in the whole group, a significant retardation of the progression of renal failure was found in patients with an initial serum creatinine level ≥ 4.0 mg/dl or those with an initial serum inorganic phosphate level ≥ 4.0 mg/dl. There was no adverse effect observed in any case. Bifidus HD® is considered a useful tool for suppressing the progression of chronic renal failure(CRF) in the conservative period.

Jpn J Nephrol 2003 ; 45 : 759-764.

Key words : *Bifidobacterium*, chronic renal failure(CRF), intestinal bacteria

緒 言

慢性腎不全では便秘がしばしばみられる。便秘の原因は、薬剤や食物以外にストレスなど精神的な不調があげられているが、いずれの原因においても腸内細菌叢のバランスが乱れ、それに伴い腸内腐敗産物も変動するといわれている^{1,2)}。

事実、南らは透析患者の腸内細菌叢を調査し、*E. coli*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* に代表される好気性菌が健康人には 0.1~0.2%しか存在しないのに対して、透析患者では 15.6%と異常高値であることを示している³⁾。そして、

これら患者に対してビフィズス菌製剤を投与すると腸内環境が改善し、糞便中のアンモニア、インドール、フェノールなどの腸内腐敗産物が有意に減少したと報告している。アンモニア、インドールは肝臓での代謝により尿素、インドキシル硫酸に変換され^{4,5)}尿中へ排泄されるが、腎機能障害が起こると体内へ蓄積する。これらの蓄積された代謝産物は腎不全を悪化させる uremic toxin と考えられている^{6,7)}。そして、透析患者ではビフィズス菌製剤服用で血中インドキシル硫酸などが有意に低下することが報告されている^{8,9)}。よって、ビフィズス菌製剤は、これら uremic toxin の前駆体物質である腸内腐敗産物を減少させることで保存

期腎不全の進行を抑制する可能性がある。

今回われわれは、保存療法の一つとしてビフィズス菌製剤のビフィズス菌 HD[®] (森下仁丹(株), 大阪)を慢性腎不全患者に投与し、腎不全の進行抑制効果について検討したので報告する。

対象と方法

1. 対象

投与開始時の血清クレアチニン(S-Cr)が2~7 mg/dl の範囲にあり、試験開始前からS-Cr値の逆数の減少速度が一定している進行性慢性腎不全患者で、本試験にあらかじめ文書で同意を得ることができた30例を登録症例としたが、研究開始早期に服用を中止した症例、早期に透析を導入した症例の3例は脱落例とし、27例(男性19例、女性8例、年齢58.4±12.8歳)を対象症例とした。

ただし、血圧の異常高値および不安定症例、重症心疾患症例、感染症罹患中の症例、妊娠症例などの病態変化が著しい症例や自己管理の著しく不良な症例など、主治医が不適当と判断した症例はあらかじめ登録症例から除外した。

2. 投与方法

ビフィズス菌 HD[®] を1日1包(0.9g)、朝食前に24週間投与した。併用禁止薬剤として服用2週間前から試験終了時まで乳酸菌製剤の投与は制限したが、これまで継続中の薬剤(経口吸着剤は含むがリン吸着剤は含まない)、食事内容の変更は行わなかった。なお、ビフィズス菌 HD[®] は腸溶性マイクロカプセルにビフィズス菌を充填し胃酸によるビフィズス菌の死滅を防いだ製剤で、1包中にビフィズス菌(*Bifidobacterium longum*)が 2×10^9 colony forming unit(cfu)含有されており、レモン風味で、水なしで服用できる医療補助食品として販売されている。

3. 検査項目

投与開始日、投与4, 8, 12, 16, 20, 24週後にS-Crを必須項目として測定し、体重、血圧、血液生化学検査(尿素窒素、尿酸、Na、K、Cl、Ca、P、TP、Alb、T、Cho、GOT、GPT、Al-P、LDH)、一般血液検査(RBC、WBC、Hb、Ht、血小板数)、蓄尿(蛋白、尿素窒素、尿中Cr、尿量)は可能な限り測定した。そして、腎不全の進行速度は得られたS-Cr値からMitchらの方法¹⁰⁾に準じて評価を行うこととした。すなわち、投与前観察期間および試験期間における1/Cr値からそれぞれの回帰式を求め、回帰式の傾き(試験期間をA、観察期間をB)を比較する方法である。

Table 1. Criteria for evaluation of the efficacy of Bifidus HD[®]

A/B ratio*	Changes in other prescribed medications and diet during the study period	
	not changed	changed
~0.30	1. marked improvement	2. improvement
0.31~0.60	2. improvement	3. marginal improvement
0.61~0.90	3. marginal improvement	4. unchanged
0.91~1.09	4. unchanged	5. deteriorated
1.10~	5. deteriorated	5. deteriorated

* : see text for the detail of A/B ratio

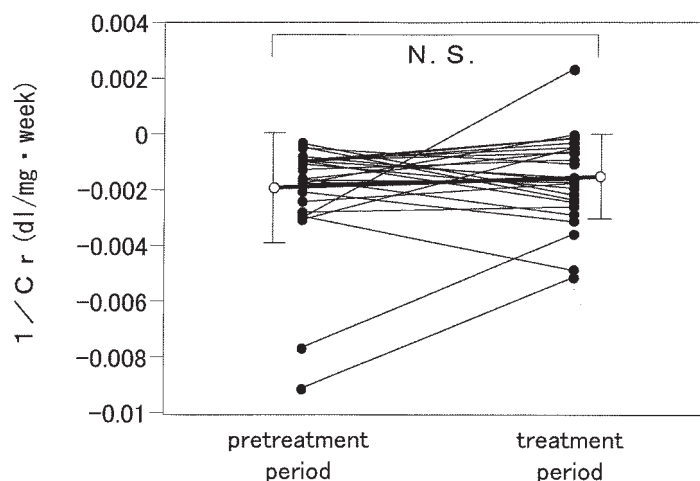


Fig. 1. Comparison of the 1/Cr slopes before vs. during treatment in all cases (n=27)

Table 1に示す通り5段階で全般改善度を評価し、試験期間中に検査値を変動させる可能性のある併用薬剤の変更が行われた症例については、1段下げて評価した。

統計解析はStudent's *t*-test、Fisherの直接確率検定およびマロニー法を用い、危険率(p値)0.05未満を有意差ありとした。

結果

24週間投与予定で研究を開始したが、患者の来院都合により8例の患者は28週間投与とした。

Fig. 1は全症例におけるビフィズス菌 HD[®] の投与前後の1/Crの傾斜変化を示す。観察期間中の1/Crの傾斜は -0.00203 ± 0.00198 (平均±標準偏差 dl/mg · week)で、試験期間中の1/Crの傾斜が -0.00162 ± 0.00152 へと改善傾向を示すものの有意差は認められなかった。また、症例毎の5段階評価における全般改善度については、著明改善

Table 2. Number of effective and ineffective cases in patient subgroups divided by the pretreatment serum creatinine level (mg/dl)

	~2.9	3.0~3.9	4.0~4.9	5.0~5.9	6.0~	Fisher's test
Effective cases	1	1	7	4	1	p=0.009
Ineffective cases	5	4	0	3	1	

Table 3. Number of effective and ineffective cases in patient subgroups divided by the levels of pretreatment clinical and laboratory parameters

Parameters		Effective cases	Ineffective cases	Fisher's test
Inorganic phosphate (mg/dl)	~2.9	1	3	p=0.044
	3.0~3.9	4	7	
	4.0~4.9	5	1	
	5.0~	4	0	
Urinary protein (g/day)	~1.99	8	0	p=0.009
	2.00~3.99	0	2	
	4.00~5.99	1	0	
	6.00~	0	1	

が 4 例, 改善が 5 例, やや改善が 6 例, 不変が 2 例, 悪化が 10 例であった。

しかし, 改善群(著明改善, 改善, やや改善)と非改善群(不変, 悪化)それぞれの服用開始時の S-Cr 値について 1.0 mg/dl 刻みで各階層別の症例数を求め, Fisher の直接確率検定を行ったところ, 両群間に有意差が認められた ($p < 0.01$) (Table 2)。他の臨床検査項目においても同様に服用開始時の値を検定したところ, リン(P)値および蓄尿蛋白値にそれぞれ有意差が認められた ($p < 0.05$, $p < 0.01$) (Table 3)が, それ以外の項目には認められなかった。そこで S-Cr 値と P 値がそれぞれ 4.0 mg/dl 以上の患者を抽出 (S-Cr : $n=16$, P : $n=10$)し, 再度, 投与前後の 1/Cr の傾斜変化を解析した。S-Cr 値 4.0 mg/dl 以上の患者の観察期間中の 1/Cr の傾斜は -0.00224 ± 0.00245 で, 試験期間中の 1/Cr の傾斜が -0.00135 ± 0.00134 となり, 有意な変化が認められた ($p < 0.05$) (Fig. 2)。同様に P 値が 4.0 mg/dl 以上の患者においても -0.00305 ± 0.00278 から -0.00173 ± 0.00148 へと有意な変化が認められた ($p < 0.05$) (Fig. 3)。一方, S-Cr 値, P 値とも 4.0 mg/dl 未満の症例について検定を行ったところ, 観察期間中の 1/Cr の傾斜はそれぞれ -0.00172 ± 0.00087 , -0.00143 ± 0.00083 であり, 試験期間中の 1/Cr の傾斜は -0.00201 ± 0.00168 , -0.00156 ± 0.00154 といずれも有意な変化は認められなかった。

蓄尿蛋白量については, 症例数が 12 例と全症例数の半数以下のため解析を行わなかった。

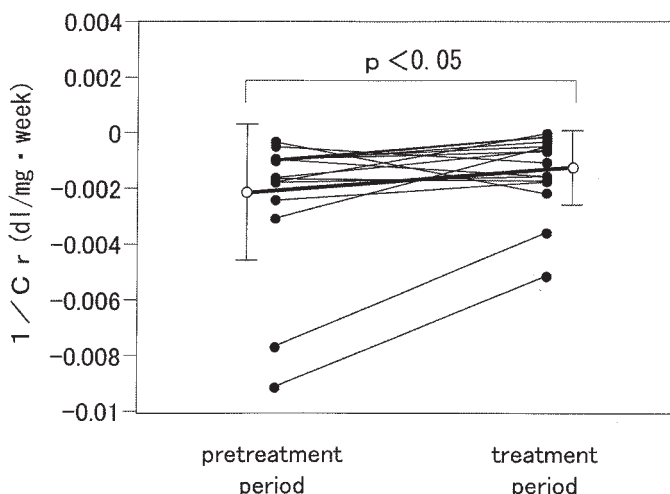


Fig. 2. Comparison of the 1/Cr slopes before vs. during treatment in patients with an initial Cr above 4.0 mg/dl (n=16)

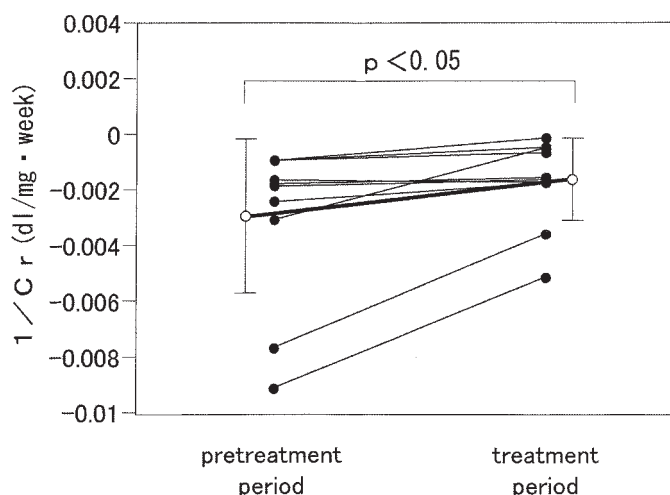


Fig. 3. Comparison of the 1/Cr slopes before vs. during treatment in patients with an initial serum phosphate above 4.0 mg/dl (n=10)

体重, 血圧, 血液生化学検査, 一般血液検査, 蓄尿は Table 4 に示す通り試験期間中に有意な変化は認められなかった。副作用に関しても全例に認められなかった。

Table 4. Clinical and laboratory parameters during the study period

Parameters		Before treatment 0 W	During treatment 24 W
Serum creatinine	(mg/dl)	4.23 ± 1.22 (n=27)	4.96 ± 1.54 (n=25)
Body weight	(kg)	61.5 ± 10.73 (n=22)	62.3 ± 7.93 (n=18)
Systolic blood pressure	(mmHg)	152.4 ± 20.74 (n=19)	149.1 ± 18.66 (n=19)
Diastolic blood pressure	(mmHg)	84.0 ± 11.32 (n=19)	83.2 ± 11.43 (n=19)
Serum urea nitrogen	(mg/dl)	49.3 ± 15.93 (n=26)	53.0 ± 17.04 (n=25)
Serum uric acid	(mg/dl)	6.66 ± 1.53 (n=25)	6.52 ± 1.23 (n=25)
Na	(mEq/l)	139.0 ± 1.93 (n=26)	139.5 ± 2.59 (n=25)
K	(mEq/l)	4.91 ± 0.59 (n=26)	4.93 ± 0.72 (n=25)
Cl	(mEq/l)	108.2 ± 3.03 (n=26)	107.8 ± 4.30 (n=25)
Ca	(mg/dl)	8.48 ± 0.41 (n=25)	8.25 ± 0.51 (n=24)
Inorganic phosphate	(mg/dl)	3.97 ± 0.91 (n=25)	4.21 ± 1.02 (n=24)
Total protein	(g/dl)	7.01 ± 0.51 (n=27)	7.13 ± 0.61 (n=24)
Albumin	(g/dl)	3.75 ± 0.38 (n=26)	3.85 ± 0.35 (n=24)
Total cholesterol	(mg/dl)	170.1 ± 31.3 (n=25)	181.0 ± 25.4 (n=12)
GOT	(IU/l)	17.1 ± 5.57 (n=27)	17.0 ± 5.24 (n=12)
GPT	(IU/l)	12.2 ± 4.95 (n=27)	12.3 ± 5.71 (n=12)
Al-P	(IU/l)	220.8 ± 99.1 (n=19)	302.0 ± 143.8 (n=3)
LDH	(U/l)	415.5 ± 106.4 (n=27)	411.6 ± 102.7 (n=10)
RBC	(10 ⁴ /μl)	313.1 ± 61.0 (n=27)	312.4 ± 54.9 (n=25)
WBC	(10 ³ /μl)	6.28 ± 1.68 (n=27)	6.26 ± 1.89 (n=25)
Hemoglobin	(g/dl)	10.16 ± 1.78 (n=27)	10.08 ± 1.57 (n=25)
Hematocrit	(%)	30.5 ± 5.06 (n=27)	30.4 ± 4.56 (n=25)
Platelet	(10 ⁴ /μl)	20.3 ± 5.79 (n=27)	20.5 ± 5.33 (n=25)
Urinary protein	(g/day)	2.04 ± 1.73 (n=12)	1.84 ± 1.35 (n=22)
Urinary urea nitrogen	(g/day)	5.45 ± 1.64 (n=12)	5.43 ± 1.76 (n=21)
Urinary creatinine	(g/day)	0.93 ± 0.28 (n=12)	0.91 ± 0.26 (n=22)
Urine volume	(ml/day)	1,823 ± 332.8 (n=12)	1,885 ± 378.0 (n=20)

mean ± SD

考 察

慢性腎不全の進行を促進する因子は、高血圧、蛋白・リンの過剰摂取など様々である。これらの増悪因子に対してアンジオテンシン変換酵素阻害剤、アンジオテンシンII受容体拮抗薬の投与、蛋白制限などの対策がとられる。また、尿毒素の増加自体による腎不全の進行を抑制する目的で経口吸着剤(クレメジン®)が投与され、その有効性はすでに確立している^{11,12)}。

われわれが検討したビフィズス菌 HD® は、腸溶性マイクロカプセル内にビフィズス菌が封入されているため生きたままのビフィズス菌が直接結腸に到達し、それが増殖すると同時にすでに生息している腸内ビフィズス菌の増殖を促す。このビフィズス菌が乳酸と酢酸を産生し、腸内 pH を弱酸性に傾ける。その結果、好気性菌の増殖が抑制され腸内腐敗産物(アンモニア、インドール、フェノール、スカトールなど)の産生量が減少することはすでに報告されている³⁾。また、ラクツロースはビフィズス菌によって分解され乳酸となる¹³⁾が、これも腸管の弱酸性化によりア

ンモニアの腸管から血中への吸収を抑制することが報告されている¹⁴⁾。

今回は、ビフィズス菌 HD® を服用することで、上述の2つの作用機序から緒言で述べたごとく、uremic toxin の産生が減少し、腎不全の進行が抑制されることを期待し、これを検証した。

その結果、全症例(n=27)が観察期間と試験期間の I/Cr の傾斜変化において改善傾向を示すものの、有意差は認められなかった。しかし、服用開始時における S-Cr 値と P 値が、いずれも 4.0 mg/dl 以上と腎不全のより進行した症例において I/Cr の傾斜改善に有意差が認められた(p<0.05)。これらの群での透析導入への延長期間は個人差のバラツキが大きいと一概に言えないが、S-Cr 値が 4.0 mg/dl 以上の症例群では、服用前の平均透析導入予定期間が 37.9 週後から服用後に 76.8 週後へと 38.9 週間延長することができた。同様に、P 値が 4.0 mg/dl 以上の症例群でも服用前が 61.6 週から服用後 140.6 週へと 79.0 週間延長することができた。また、これらの群での改善率は 75.0% (16 例中 12 例)と 90.0% (10 例中 9 例)と非常に高い結果が

得られた。

S-Cr 値, P 値がそれぞれ 4.0 mg/dl 以上でのみに有効であったことは, 腸内腐敗産物の血中濃度を測定していないため詳細な機序は不明であるが, 腸内腐敗物由来の尿毒物質蓄積の腎への影響が有意になるのはある程度腎機能が悪化してからの可能性があり, 6 カ月という観察期間では軽度の変化は有意に検出できなかった可能性が考えられる。また, P については蛋白摂取量を考慮しなければならないが, 症例は少ないものの, 蓄尿中尿素窒素の量からマロニー法で推定した蛋白摂取量については有意な差は認められなかった (Table 4)。よって, 蛋白摂取量は本試験では影響を及ぼさなかったものと考えられる。

なお今回は, 研究開始前から経口吸着剤 (クレメジン®) を投与していた患者 14 例も対象に組み入れている。これらクレメジン® 併用症例における観察期間から試験期間の 1/Cr の推移は -0.00180 ± 0.00210 から -0.00164 ± 0.00131 であり, 有意な変化は認められなかった。そのうえで, S-Cr 値が 4.0 mg/dl 以上の 10 例の内, 7 例は併用療法で腎不全進行速度の低下がみられた。この 7 例はいずれも S-Cr 値が 4.0 mg/dl 以上の症例であった。よって, ビフィズス菌の作用は経口吸着剤による腐敗産物の吸着除去作用を阻害するものではないと考えられる。

これまで, 経口吸着剤以外での腎不全の進行抑制に関する研究報告は, 成田らの保存療法としてラクツロースを投与することで効果があったとの報告¹⁵⁾にとどまっている。しかし, ラクツロースも, これを基に行った多施設共同研究では下痢が高頻度に発現し, 実用化に至っていない。一方, ビフィズス菌 HD® は, 上述した通り, 腸内に生存するビフィズス菌がラクツロースを分散することで乳酸と酢酸を産生し, 効果をもたらした可能性が考えられるが, 下痢などの副作用はなかった。

以上, ビフィズス菌 HD® は, 下痢で長期間の継続使用が困難なラクツロース療法に比べて有意な副作用はなく, 患者のコンプライアンスも良好で, 慢性腎不全の保存的療法の一つとして有用と思われる。今後さらに症例を増やし, S-Cr あるいは P の階層別有効性についてより詳細に検討する必要があると考える。

ま と め

保存期における慢性腎不全患者にビフィズス菌 HD® を投与し, 腎不全の進行抑制について検討を行った。

観察期間と試験期間の 1/Cr の傾きについては改善傾向

を示すものの有意差は認められなかったが, 投与開始時における S-Cr 値, P 値の層別において 4.0 mg/dl 以上の症例では有意な改善が認められた。

全例において有害な副作用は認められなかった。

謝 辞

本稿を終えるにあたり, 研究費を提供して下さった財団法人健康科学振興財団, 資料まとめて協力して下さったジェイドルフ株式会社へ深く感謝致します。

文 献

1. Shimoyama T, Hori S, Tamura K, Yamamura M, Tanaka M, Yamazaki K. Microflora of patients with stool abnormality. *Bifidobacteria Microflora* 1984; 3: 35-42.
2. 光岡知足. 腸内フローラの研究と機能性食品. *腸内細菌学雑誌* 2002; 15: 57-89.
3. 南 浩二, 田中晋二, 高橋計行, 辻野正隆, 谷村 弘, 石本喜和男, 角田卓也, 梅本善哉, 田仲紀陽, 正木和人, 壬生祥文, 坂東義文, 南野郁代. 透析患者における腸内細菌叢の改善と腐敗産物の産生抑制に対する腸溶性ビフィズス菌製剤の臨床効果. *透析会誌* 1999; 32: 349-356.
4. 青柳一正, 大場正二, 宮崎三弘, 永瀬宗重, 成田光陽, 東條静夫. グアニジノ化合物一腎不全治療への掛け橋. *循環器科* 1985; 17: 340-351.
5. 阿部貴弥. 食物繊維製剤が透析患者の腸内菌叢由来尿毒素に及ぼす影響. *透析会誌* 1996; 29: 1529-1537.
6. Ringoir S. An update on uremic toxins. *Kidney Internat* 1997; 52: S2-S4.
7. 磯田和雄; VI. 腎不全 1. Uremic toxin. *Annual Review 腎臓* 1998; 127-133.
8. 高山文夫, 青山 功, 筑紫さおり, 中村桜子, 筒井修一, 丹羽利充. 透析患者における腸内細菌叢由来尿毒症物質の血中濃度と腸溶性ビフィズス菌製剤の有効性. *透析会誌* 2001; 34(Suppl 1): 661.
9. 久木山厚子, 福島 純, 下村貴文, 桑原邦治, 高宮登美, 野上千佐, 宮本哲明, 松岡 潔, 有菌健二, 早野恵子, 福井博義. 透析患者に対するビフィズス菌 HD® の投与効果についての検討. *透析会誌* 1999; 32(Suppl 1): 631.
10. Mitch WE, Walser M, Buffington GA, Lemann J Jr. A simple method of estimating progression of chronic renal failure. *Lancet* 1976; 2(7999): 1326-1328.
11. 小出桂三, 越川昭三, 山根至二, 日高三郎, 関根 宏, 斉藤幹郎, 金田 浩, 松井則明, 浅野 泰, 小高通夫, 入江康文, 中澤了一, 三條貞三, 多川 斉, 川口良人, 加藤暎一, 太田和夫, 杉野信博, 中川成之輔, 大野丞二, 小出輝, 中村一路, 高橋 進, 秋葉 隆, 長沢俊彦, 石田尚志, 前田貞亮, 三村信英, 笹岡拓雄, 堺 秀人, 酒井 糾, 日台英雄, 荒川正昭, 平沢由平, 宮村祥二, 本田西男, 柴田昌雄, 白井大祿, 南方 保, 藤田嘉一, 石川兵衛, 大沢源吾, 藤見 惺. 慢性腎不全の進行抑制に対する

- AST-120 の臨床評価—Placebo を対照とした多施設二重盲検試験—。臨床評価 1987 ; 15 : 527-564.
12. 越川昭三, 小出桂三, 山根至二, 日高三郎, 小山陽子, 沢崎孝司, 高橋忠久, 関根 宏, 高橋 寿, 斉藤幹郎, 金田浩, 松井則明, 浅野 泰, 小高通夫, 若新政史, 嶋田俊恒, 三村信英, 三條貞三, 多川 齊, 川口良人, 加藤映一, 杉野信博, 太田和夫, 小出 輝, 遠山純子, 中村一路, 中川成之輔, 横張龍一, 高橋 進, 秋葉 隆, 長沢俊彦, 五味朋子, 小椋陽介, 原 茂子, 前田貞亮, 瀬在義則, 堺 秀人, 酒井 糾, 石田尚志, 日台英雄, 笹岡拓雄, 平沢由平, 荒川正昭, 宮村祥二, 本田西男, 下村旭, 柴田昌雄, 大橋宏重, 乾 拓郎, 神田千秋, 白井大祿, 南方 保, 田中宏一, 石川兵衛, 藤田嘉一, 大澤源吾, 内藤説也, 藤見 惺. 慢性腎不全に対する AST-120 の透析導入遅延効果について. 腎と透析 1992 ; 32 : 783-794.
 13. Hoffmann K, Bircher J. Veränderungen der bakteriellen Darmbesiedlung nach Laktulosegaben Schweiz. Med Wschr 1969 ; 99 : 608-609.
 14. Castell DO, Moore EW. Ammonia absorption from the human colon—The role of nonionic diffusion—. Gastroenterology 1971 ; 60 : 33-42.
 15. 成田光陽, 宮崎三弘, 青柳一正, 永瀬宗重, 大場正二, 坂本まき子, 山口直人, 石井久美子, 鈴木理志, 中村日出子, 菊池 博, 小林正貴, 太田義章, 寺崎太郎, 渡辺孝太郎, 小山哲夫, 紅露恒男, 東條静夫. 慢性腎不全に対する Lactulose の効果—長期投与例の検討—. 厚生省特定疾患進行性腎障害調査研究班昭和 61 年度研究業績. 1987 ; 244-249.