

令和 3 年度 研究実績報告書

一般財団法人 日本産業科学研究所
宮地 尚 理事長様

申請者

国立大学法人 筑波大学 生命環境系
教授 青柳 秀紀

研究課題

慢性腎臓病予防用の食品素材の開発

研究内容

国内外で慢性腎臓病（Chronic Kidney Disease : CDK）が深刻な問題となっている。CDK により腎機能が低下すると、リンの体外への排泄量が減少し、血液中のリン濃度が増加することで、骨線維症、血管の石灰化、腎機能の消失などが生じ、脳卒中、心筋梗塞、骨粗鬆症、認知症などの発症リスクが高くなる。CKD の初期ステージではリンの摂取制限（食事療法）と医師から処方されるリン吸着剤（医薬品）の経口投与を併用し、腸内のリンを吸着除去し、腸管から血液中へのリンの移行を抑え、血液中のリン酸濃度を低下させる。しかしながら、リン吸着剤は便秘や副作用などの問題点も指摘されている

この現状を踏まえ申請者は、医薬品ではなく日常的に摂取が可能な、“食用可能な有用腸内細菌を用いてリンを吸収・蓄積させ、その菌体を糞便として体外に排出させる”、慢性腎臓病予防用の食品素材の開発に関する基礎的研究を試みた。

研究結果

食用可能なビフィズス菌、乳酸菌など 30 株を対象に、リン吸収・蓄積能や増殖特性を比較評価し、種々検討した結果、今回検討した菌株の中では、*Lactobacillus casei* が高いリン吸収・蓄積能を示した。しかしながら、ポリリン酸を蛍光染色する DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) を用いて、*L. casei* の菌体内のポリリン酸を蛍光顕微鏡で観察した結果、一部の *L. casei* はポリリン酸の顕著な蓄積が認められたが、大部分の *L. casei* は弱い蛍光を示した（ポリリン酸をあまり蓄積していなかった）。そこで、リン蓄積能（リン除去能）の高い菌を選択的に培養化、視覚的に識別可能な新規培地を開発した。また、リンを蓄積する菌は比重が重いことを活用し、比重差を利用したリン蓄積能の高い菌の選抜法を開発した。開発した手法を用いることで、ポリリン酸の蓄積能の

高い *L. casei* のみを選択的に回収、選抜、培養化ができた。得られた *L. casei* は凍結保存しても高いリン蓄積能の保持が認められた。

種々検討した結果、*L. casei* を摂食し安定的にリン除去効果を得るために、胃酸耐性を向上させる必要が示唆された。そこで、食用可能な種々の素材を検討した結果、アロエベラを適切な条件下でプレバイオティクスとして使用する事で、胃酸耐性を向上させることができた。アロエベラと *L. casei* を適切な条件で混合し、スプレードライで乾燥させ、慢性腎臓病予防用の食品素材を作成した。作成した食品素材を、培地、ソフトドリンク、ミルク、などに添加し、種々検討した結果、良好なリンの除去が認められた。なお、本研究で作成した慢性腎臓病予防用の食品素材の性能を評価するために、Council of Scientific and Industrial Research (CSIR)-Central Food Technological Research Institute (CFTRI), India にて高リン酸血症 Wistar ラットモデルの構築に成功した(今後、ラットモデルを使用した国際共同研究を行う)。

以上、得られた成果を基盤にさらに研究を推進することで、日常の生活の中で CKD の予防が可能な食品素材を完成させ、国内外の CKD 患者の Quality of Life の向上に貢献したい。

研究業績

学術論文

- (1) Ajeeta Anand, Muthukumar Serva Peddha, Hideki Aoyagi:* Construction and characterization of a rapid hyperphosphataemia (chronic kidney disorder) model using adenine. (in preparation, 2022).

学会発表

- 1) Ajeeta Anand, Muthukumar Serva Peddha, Hideki Aoyagi: Rapid construction of hyperphosphatemia rat model using adenine. 第 73 回日本生物工学会大会. オンライン. 2021 年 10 月.
- 2) Hideki Aoyagi: Analysis of the characteristics of microbial cell liquid culture and its application for the new culture method. The 33rd Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference. Keynote speaker (招待). オンライン 2021 年 11 月.
- 3) 小澤 拓真、青柳 秀紀: 胃酸と胆汁酸に耐性を有するプロバイオティクスの新規な評価・選抜法の開発. 第 10 回日本生物工学会 東日本支部コロキウム. オンライン. 2022 年 3 月.