

高尿酸血症のための乳酸菌

高尿酸血症は、血液中の尿酸レベルが上昇している状態です。通常の上限は6.8mg/dLであり、7mg/dLを超えると飽和状態とされ、症状が現れる可能性があります。これは、尿酸の産生量の増加、尿酸の排泄の減少、またはその両方の過程の結果として起こります。[4]

ヒトの体内で尿酸の蓄積が増加し、または排泄が減少することは、痛風や高尿酸血症の発症機序と密接に関連しています。これは、プリン体を豊富に含む食品の摂取量の高さに強く影響を受けます[1]。これにより尿酸結晶の沈着が生じ、高い合併症の負荷を引き起こし、最終的に痛風、動脈硬化、2型糖尿病、血管障害、慢性腎臓病などの組織障害を引き起こす可能性があります。[5]

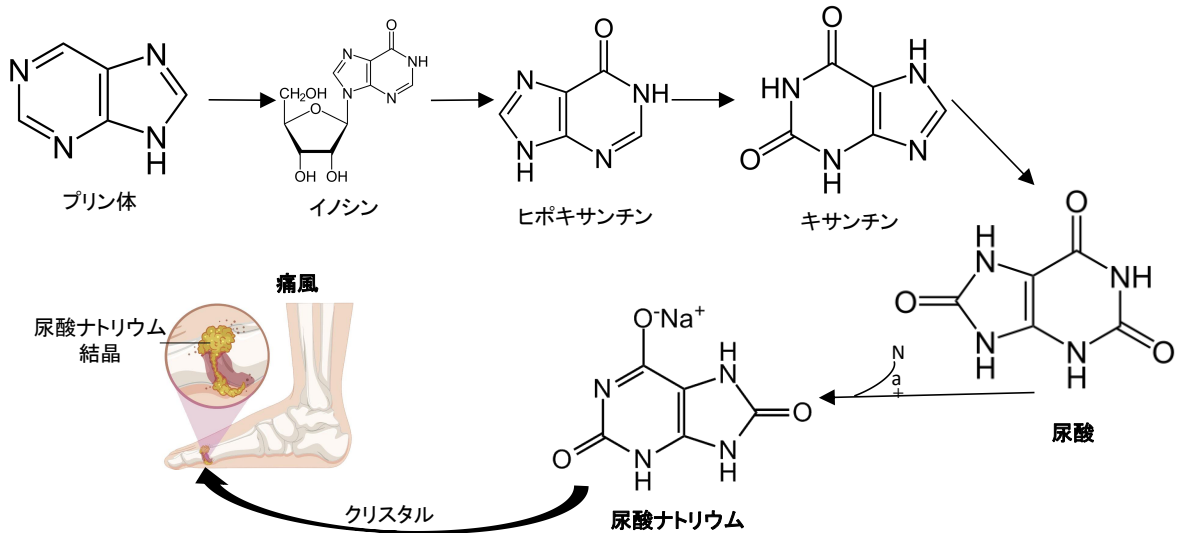


図1. プリン体から尿酸への変換と痛風の発症。

様々なリスク要因が、高尿酸血症のリスクの上昇と関連しています。これには、一部の薬物、アルコール摂取、腎臓疾患、高血圧、甲状腺機能低下症、農薬の曝露、そして肥満が含まれます。[3]

世界および日本において、痛風と高尿酸血症の患者数は増加しています。高尿酸血症は、痛風だけでなく、代謝症候群や高血圧、脂質異常症、糖尿病、肥満、慢性腎臓病（CKD）などの心血管疾患とも関連していると報告されています。[7]

日本の医療データベースを使用した回顧的な横断研究では、日本人の高尿酸血症の正確な有病率は、男性では26.8%、女性では0.9%であることが報告されています。[6]

現在までに、高尿酸血症の治療には、キサンチンオキシダーゼ(尿酸生成の主要酵素である)阻害剤、尿酸排泄促進薬、尿酸酸化酵素(ウリカーゼ)などの3種類の尿酸低下薬が一般的に使用されています。しかし、これらの薬剤の副作用は、アレルギー反応、重篤な皮膚反応、心血管への副作用、肝毒性、腎過敏症反応などがあり、長期的な使用を制限しています。そのため、高尿酸血症を軽減するための効果的かつ副作用のない対策を開発することは、特に尿酸の長期的な制御には非常に緊急な課題です。^[5]

無症候性高尿酸血症(AH)は、痛風の早期段階です。新たな報告が示すところによれば、腸内細菌叢は痛風と関連しています。^[8]腸内細菌叢を介したプリン体吸収の低減は、プロバイオティクスの摂取を通じて管理することができ、血清尿酸の上昇を逆転させる有望な方法として浮上しています。^[9]

一部のプロバイオティクスは、尿酸をアランチンに加水分解するウリカーゼ活性を持つと報告されています。そのため、尿酸の排泄は、尿酸トランスポーターと腸内細菌叢の活性によって腸管を通じて行われます。しかし、高尿酸血症、痛風、代謝症候群、慢性腎臓病の患者では、尿酸の排泄は腸内細菌叢に依存しています。腸内細菌叢の不均衡は、尿酸の排泄量が減少し、高尿酸血症と痛風のリスク因子となる可能性があります。^[9]

LM-GH70

LM-GH70の2つの菌株のプロバイオティック特性の評価と、in vivoでの尿酸低下効果が行われました。

in vitroでのプロバイオティック特性:

酸および胆汁塩の耐性:

プロバイオティクスの酸に対する耐性は、pH=3.0の条件で1時間間試験されました。耐性の評価では、CFU比率が計算されました。CFUpH=3.0/CFUpH=7.2の0時間と1時間後での比率を用いました。

胆汁塩の耐性の評価は、0.1%(w/v)の牛胆汁塩を含む培地で24時間行われました。

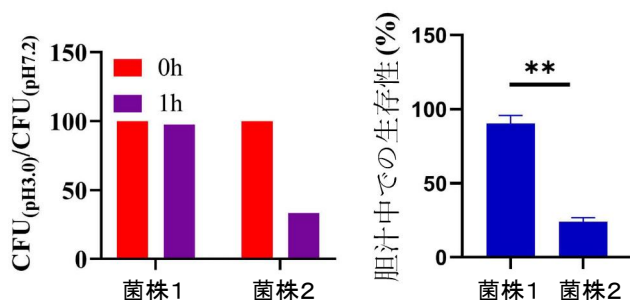


図2. (A) LM-GH70の2つの菌株の胃液(pH=3.0)と通常のpH 7.2におけるCFU比率;(B) LM-GH70の2つの菌株の胆汁塩(0.1% w/v)中での生存性(24時間)。

菌体表面の親水性:

菌体表面の親水性を評価するために、炭化水素(キシレン)および他の2つの溶剤(エチルアセテートおよびクロロホルム)への菌体の吸着性を評価しました。

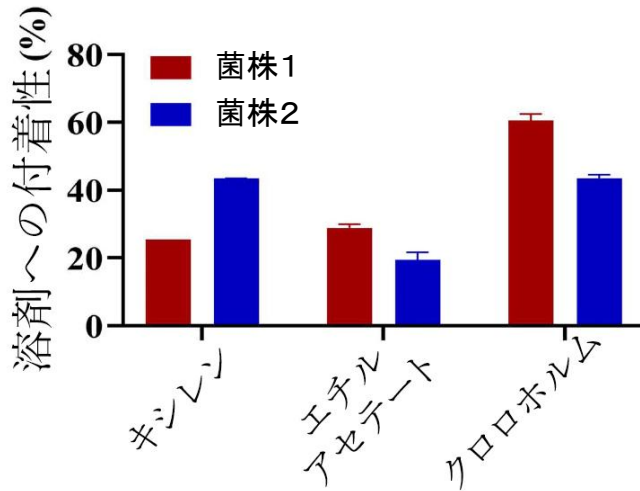


図3. LM-GH70のキシレン、エチルアセテート、およびクロロホルムへの吸着性

自己凝集、共凝集、抗酸化活性:

自己凝集(個々の菌株の増殖能力)および共凝集(*S.aureus*に対する能力)。抗酸化活性の評価には、 β -カロテンリノレートモデルが使用されました。それぞれの2つの菌株とその代謝物の抗酸化活性を評価するために使用されました。

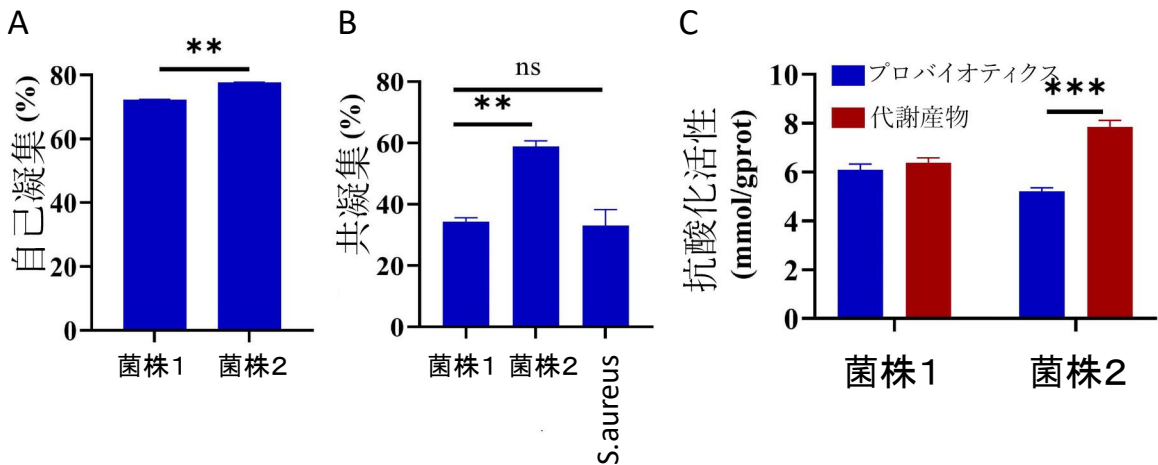


図4. (A) LM-GH70の自己凝集能力; (B) LM-GH70の共凝集能力; (C) LM-GH70およびそれらの代謝物の抗酸化活性。

図2に示されるように、菌株1は胃酸に対して2%の減少、胆汁塩に対しては10%の減少を示しました。一方、菌株2は胃酸に対しては56%の減少、胆汁塩に対しては80%の減少を示しました。図3に示されるように、両プロバイオティクス菌株はキシレンへの吸着率が50%未満でした。図4において、菌株2は菌株1よりも高い自己凝集能力と共凝集能力を示し、これは菌株2が病原菌の吸着を強く拮抗する可能性を示唆しています。

体内の高尿酸は酸化ストレスと密接に関連しているため、2つのプロバイオティクス菌株の抗酸化効果が評価されました。菌株1は72%の抗酸化活性を示し、一方、菌株2は77%の抗酸化活性を示しました。特に菌株2では、分泌される代謝物が細胞自体よりも高い抗酸化活性を持っていることがわかりました。これは、プロバイオティクスが分泌する代謝物が強力な抗酸化効果を持っていることを示しています。

in vivoでの尿酸低下効果：

2つのプロバイオティクスが高尿酸血症の進行を防ぐことができるかを探るために、8週齢で体重が240-260gの健康なSPFグレードのSprague Dawley (SD) メスラット48匹を使用しました。これらのラットは4つのグループ(各12匹)に分けられました。(1) 空白(陽性対照PC)；(2) 高尿酸モデルグループ(陰性対照NC)；(3) 菌株1予防高尿酸(GA)；菌株2予防高尿酸(GB)。陽性対照と陰性対照グループは標準食を与えられましたが、菌株1と菌株2グループはそれぞれ菌株1と菌株2のプロバイオティクスを21日間摂取しました。8日目に陽性対照以外のすべてのグループには尿酸阻害剤であるオテラシルカリウムとアデニンが与えられ、14日間高尿酸血症が誘発されました(図5)。最後の投与後、ラットは12時間断食し、その後血液サンプルを採取しました。血清は尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRE)、尿酸(UA)、マロンアルデヒド(MDA)、総抗酸化能(T-ROC)およびグルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-PX)のレベルを測定するために使用されました。また、小腸組織も採取し、IL-7、IL-6、およびTNF- α の濃度はElisa試験によって検出されました。

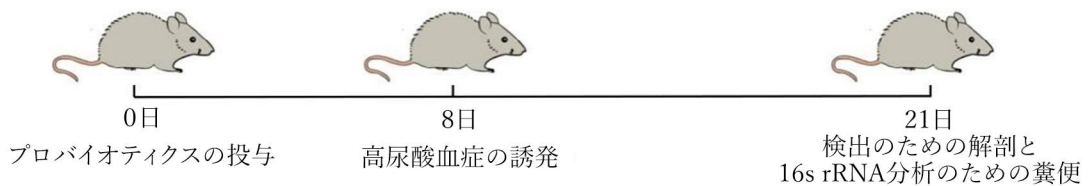


図5. LM-GH70によるラット高尿酸血症モデルへの予防プロセス

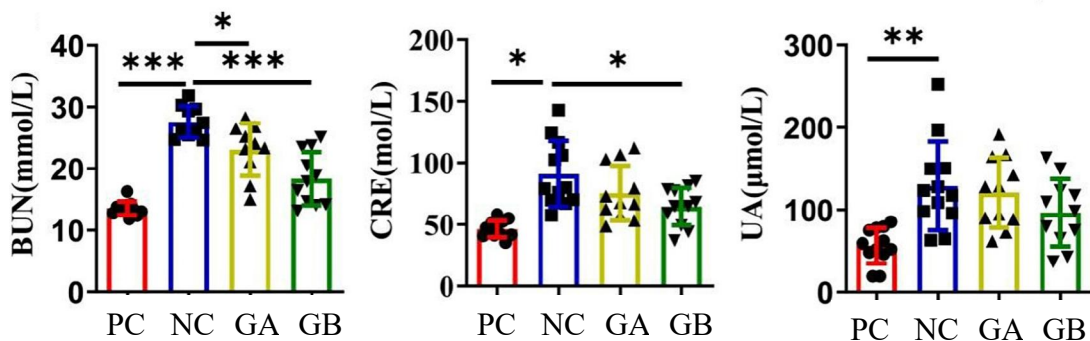


図6. 異なるラットグループにおける血清中の尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRE)、および尿酸(UA)のレベル。

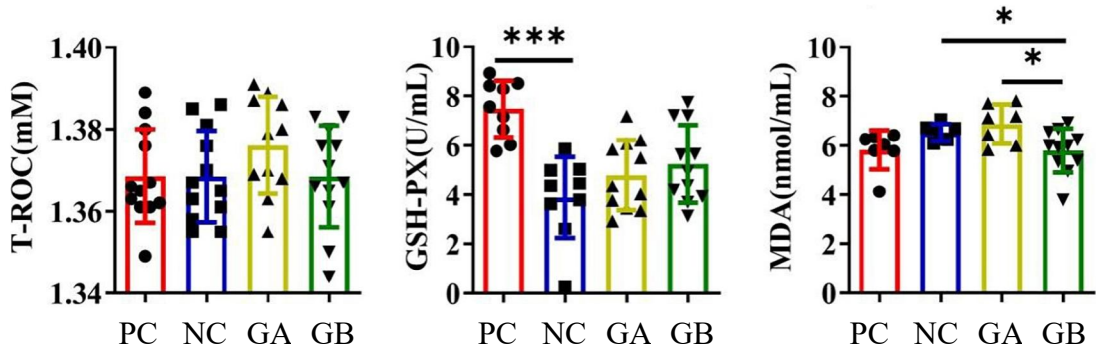


図7. 異なるラットグループにおける血清中の総抗酸化能(T-ROC)、グルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-PX)、およびマロンアルデヒド(MDA)のレベル。

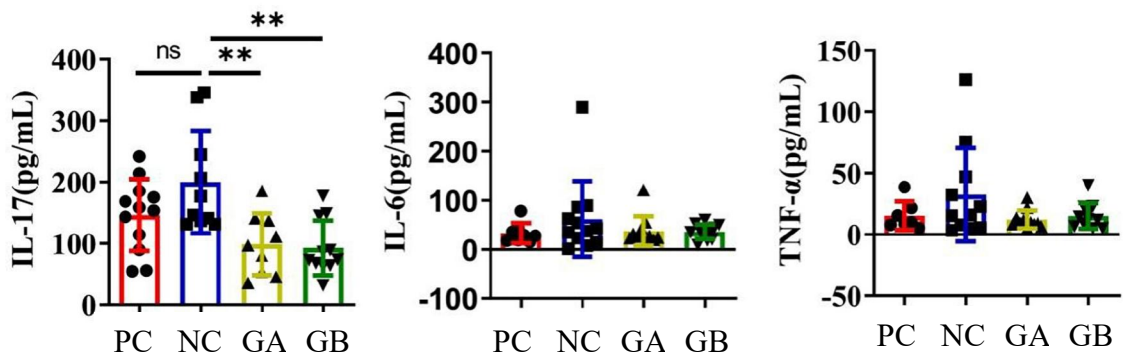


図8. 小腸におけるIL-17、IL-6、TNF-αのレベル。

*PC: 陽性対照グループ; NC: 陰性対照グループ; : 高尿酸+菌株1; LM: 高尿酸+菌株2

図6に示されているように、高プリン体食と尿酸阻害剤オテラシルカリウムの陰性対照群では、血中の尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRE)、およびUAのレベルがすべて上昇しています。陽性対照群と比較して、経口でプロバイオティクスを同時に投与すると、菌株1グループでは血清中のUALレベルは陰性対照群の94%であり、菌株2グループでは陰性対照群の75%です。BUN、CRE、およびUAのレベルは、すべて陰性対照群よりも低いことが確認され、経口プロバイオティクスはある程度まで高尿酸症の進行を予防できる可能性が示唆されます。興味深いことに、空白グループ(陽性対照群)と菌株2グループのUALレベルには有意な差がなく、これは菌株2が高尿酸血症の形成を効果的に防ぐことができることを示しています。

図7に示されているように、T-ROCについてはこれらのグループ間で有意な差はありません。しかし、GSH-PXのレベルは陰性対照群で空白(陽性対照)群と比較して約50%減少しており、抗酸化能の損傷を示しています。菌株1と菌株2の介入後、GSH-PXレベルはわずかに回復し、それぞれ空白群の63%と70%に達し、特に菌株2の場合、プロバイオティクスは抗酸化システムを修復することによって高尿酸血症の発展と進行を予防する可能性があることを示しています。

マロンアルデヒド(MDA)、IL-17、IL-6、およびTNF- α のレベルは陰性対照群で増加傾向を示していました(図7、図8)。さらに、陰性対照群と比較して、これらの炎症マーカーはすべて有意に誘導されました。具体的には、菌株2の介入後、これらのレベルは陽性対照群のレベルと同様に保たれました。上記の結果に基づくと、菌株2は高尿酸症の形成と進行を抑制する過程で積極的な予防的な役割を果たしています。

腸内細菌叢に対する菌株1と菌株2の影響

腸内細菌叢と高尿酸症の関係を理解するために、16S rRNAのMiseqシーケンス解析を実施し、異なるグループの腸内細菌叢の多様性と豊度を決定しました。高プリン食と尿酸酸化酵素阻害剤オテラシルカリウムを21日間投与した後、マイクロバイオームの豊度は陽性対照群よりも陰性対照群でわずかに高くなりましたが、これは高プリン食の投与によるものかもしれません。プロバイオティクスの投与後、マイクロバイオームの豊度は陰性対照群よりも低くなりましたが、特に菌株2グループでは顕著でした。主座標分析(PCoA)の結果から、陰性対照群の系統的なコミュニティ構造は陽性対照群と著しく異なり、菌株1グループと菌株2グループも陰性対照群とわずかに分離していました。これは高プリン食と尿酸酸化酵素阻害剤オテラシルカリウムが腸内細菌叢の組成を変化させる影響を示しており、菌株1と菌株2は腸内変化の影響をある程度緩和する可能性があります。したがって、菌株1と菌株2は腸内細菌叢の構造を変化させることにより、高尿酸症の発症を予防する可能性があります。

高尿酸血症ラットにおけるLM-GHの効果

この研究の第2段階では、LM-GH70による治療を開始する1週間前にラットに高尿酸血症を誘発しました。



図9.ラット高尿酸血症モデルに対するLM-GH70の治療プロセス

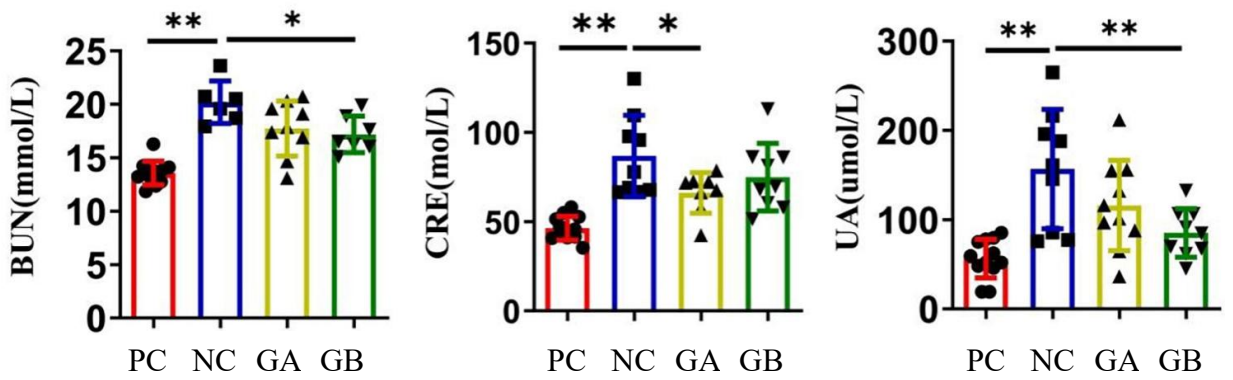


図10. 異なるラットグループにおける血清中の尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRE)、および尿酸(UA)のレベル。

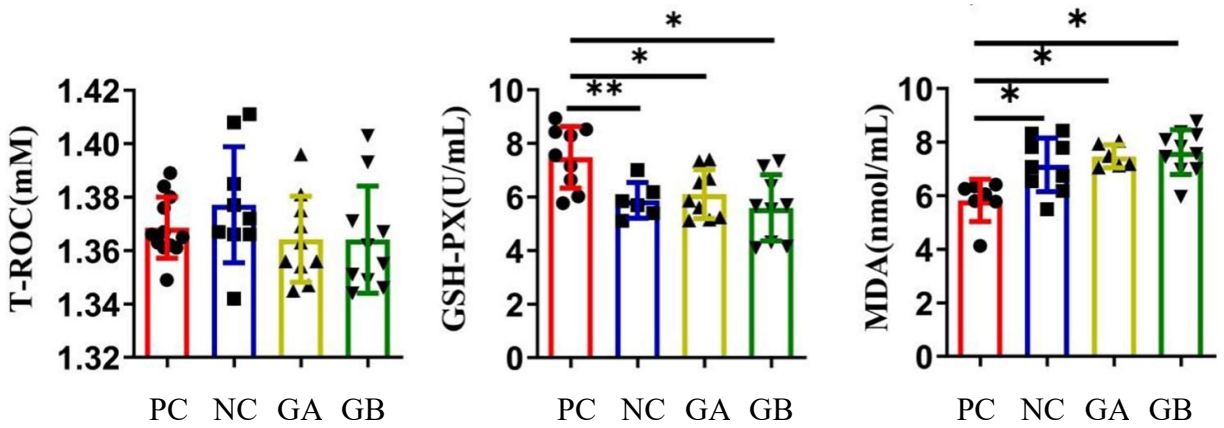


図11. 異なるラットグループにおける血清中の総抗酸化能(T-ROC)、グルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-PX)、およびマロンアルデヒド(MDA)のレベル。

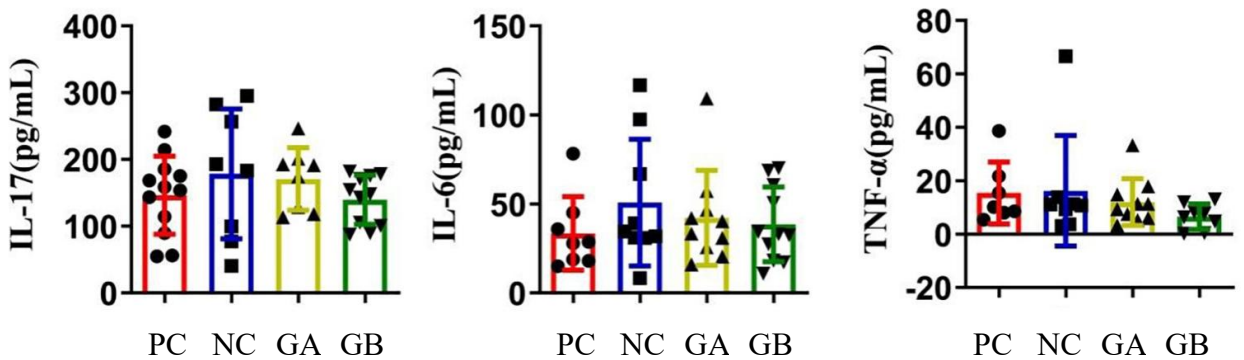


図12. 小腸におけるIL-17、IL-6、TNF-αのレベル。



以前の研究では、菌株1と菌株2が、特に菌株2において、健康なラットにおける高尿酸血症の形成と発症を予防できることが証明されました。高尿酸血症ラットにおけるその治療能力をさらに試験するために、最初に高尿酸血症モデルを構築し、次にプロバイオティクスを経口的に治療した(図9)。図10に示すように、菌株2はBUNレベルをわずかに低下させることができ、菌株1はCREレベルを低下させることができます。同様に、菌株1と菌株2はどちらもUALレベルを低下させ、それぞれTモデル群の75%と50%に近づき、これらのプロバイオティクスが高尿酸血症の症状を逆転させる可能性があることを示した。しかしながら、2つの株は両方とも、高尿酸血症ラットにおけるT-ROCおよびGSH-PXに影響を与えない(図11)。また、高尿酸血症ラットでは炎症因子が有意に増加していたが、ブランク群、GA、GBでは有意差はなかった(図12)。

高尿酸血症ラットでは、プロバイオティクスの治療後に腸内細菌叢も評価されました。ラットの糞便微生物叢におけるChao1指数は、高プリン食とオテラシルカリウムによる処理後に大幅に低下しました。また、菌株2介入後にchao1が増加したことは、高尿酸血症が腸内細菌叢の総量を減少させる可能性があり、プロバイオティクスが腸内細菌叢の回復を促進できることを示しています。ベン分析により、NCグループはブランクグループ(PC)とは大きく異なる腸内細菌叢の構造を有し、GAおよびGBは微生物叢の変化に対するオテラシルカリウムの効果を減少させる可能性があることが示されました。

まとめると、LM-GH70の菌株2は菌株1と比較して、*in vitro*でより高い自己凝集/共凝集能と抗酸化能を示しました。一方、菌株1は*in vivo*研究でより高い酸と胆汁塩の耐性を示しました。高プリン食の条件下では、菌株1と菌株2の高尿酸に対する保護効果が明らかになりました。さらに、菌株2は炎症の軽減や体内の抗酸化能の向上を含む、予防および治療モデルにおいて腸内細菌叢の構造を調節しました。

References

1. Rehab M. Hafez, Tahany M. Abdel-Rahman, Rasha M. Naguib, Uric acid in plants and microorganisms: Biological applications and genetics - A review, *Journal of Advanced Research*, Volume 8, Issue 5, 2017, Pages 475-486, ISSN 2090-1232, <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.05.003>.
2. Lei-Wen Xiang, Jing Li, Jin-Ming Lin, Hai-Fang Li, Determination of gouty arthritis' biomarkers in human urine using reversed-phase high-performance liquid chromatography, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, Volume 4, Issue 2, 2014, Pages 153-158, ISSN 2095-1779, <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2013.11.003>.
3. Li L, Zhang Y, Zeng C. Update on the epidemiology, genetics, and therapeutic options of hyperuricemia. *Am J Transl Res*. 2020 Jul 15;12(7):3167-3181. PMID: 32774692; PMCID: PMC7407685.
4. George C, Minter DA. Hyperuricemia. [Updated 2023 Feb 11]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459218/>
5. Cao J, Liu Q, Hao H, Bu Y, Tian X, Wang T and Yi H (2022) *Lactobacillus paracasei* X11 Ameliorates Hyperuricemia and Modulates Gut Microbiota in Mice. *Front. Immunol.* 13:940228. doi: 10.3389/fimmu.2022.940228
6. Zhang D. Treatment for hyperuricemia and gout in Japan: Aspect of prescription and duration. *J Clin Hypertens*. 2022;24:1076–1078. <https://doi.org/10.1111/jch.14538>
7. Akari S, Nakamura T, Furusawa K, Miyazaki Y, Kario K. The reality of treatment for hyperuricemia and gout in Japan: A historical cohort study using health insurance claims data. *J Clin Hypertens*. 2022;24:1068–1075. <https://doi.org/10.1111/jch.14539>
8. Hai-Tao Yang, Wen-Juan Xiu, Jing-Kun Liu, Yi Yang, Xian-Geng Hou, YingYing Zheng, Ting-Ting Wu, Chen-Xin Wu & Xiang Xie (2021) Gut Microbiota Characterization in Patients with Asymptomatic Hyperuricemia: probiotics increased, *Bioengineered*, 12:1, 7263-7275, DOI: 10.1080/21655979.2021.1976897.
9. Armachius James, Hengming Ke, Ting Yao & Yousheng Wang (2023) The Role of Probiotics in Purine Metabolism, Hyperuricemia and Gout: Mechanisms and Interventions, *Food Reviews International*, 39:1, 261-277, DOI: 10.1080/87559129.2021.1904412
10. Lee, Y.; Werlinger, P.; Suh, J.-W.; Cheng, J. Potential Probiotic *Lactobacillus paracasei* MJM60396 Prevents Hyperuricemia in a Multiple Way by Absorbing Purine, Suppressing Xanthine Oxidase and Regulating Urate Excretion in Mice. *Microorganisms* 2022, 10, 851. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050851>