

[EC-12規格]

| 製品名 EC-12 | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------|
| 項目 | 規格値 | 試験方法 |
| 外観 | 淡黄色微細粉末 | 目視試験 |
| 水分 | 7%以下 | 乾燥減量法(105°C、2時間) |
| 有効成分 | 乳酸球菌 5.0 × 10 ¹² /g以上 | 検鏡計数法 |
| TNF-α誘導活性 | 比活性0.9以上 | 当社測定法 |
| IL-12誘導活性 | 比活性0.9以上 | 当社測定法 |
| 一般生菌数 | 3,000CFU/g以下 | 標準寒天培地培養法 |
| 真菌類 | 1,000CFU/g以下 | ポテトデキストロース寒天培地培養法 |
| 大腸菌群 | 陰性 | デソキシコレート寒天培地塗養法 |
| 重金属(Pbとして) | 20ppm以下 | 硫化ナトリウム比色法 |
| ヒ素(A ₈₂ O ₃) | 2ppm以下 | 原子吸光光度法 |
| [備考] | 品質保証期間:2年間(未開封) | |

EC-12とは

<ヨーグルト不老長寿説>

ヨーグルトなどの乳酸菌発酵食品が健康に良いという話は20世紀の初頭にまでさかのぼります。1908年にノーベル医学・生理学賞を受賞したメチニコフの有名な「ヨーグルトを大量に食べる習慣のあるブルガリア地方に長寿の人が多い」というヨーグルトによる不老長寿説を唱えたことに端を発しています。しかしブルガリアのヨーグルトから分離した菌はヒトの腸内に定着しないことがわかり、この説も消えかかってしまいました。

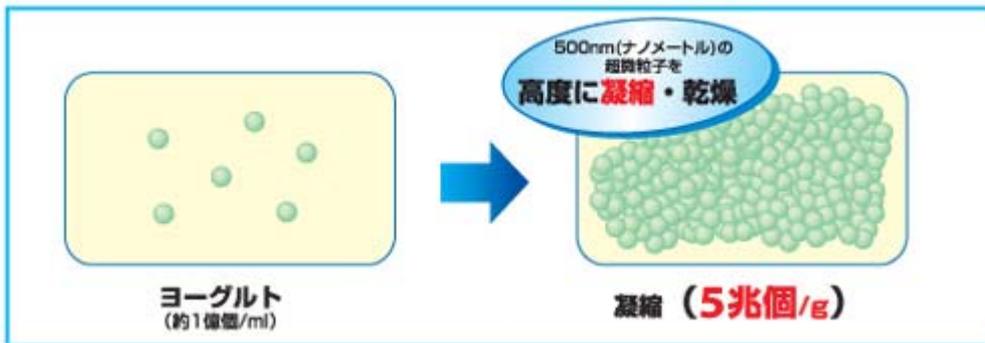
<殺菌菌体の生理効果>

しかしその後の日本人による研究で、「発酵乳を摂取したマウスの平均寿命が牛乳を与えたマウスより約8%増加する」ことが明らかとなったのです。この研究は発酵乳の研究の中でも大変有名ですが、試験に用いられた発酵乳が殺菌されていたことを知っていた方は少ないと思います。この研究によって乳酸菌は死んでいたとしても、身体に大きな生理効果を与えることが明らかとなりました。メチニコフの提案は正しかったのではないのでしょうか？

<乳酸菌は「数の論理」>

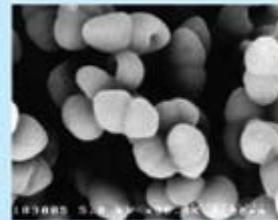
乳酸菌が死んでいても効果があることはご理解頂けたと思いますが、「殺菌しても良いかもしれないが、生きていた方がもっと良いのでは？」という考えが当然生まれてくることと思います。しかしそれは生菌と殺菌乳酸菌が「菌数が同じ」ときの話だと思えます。「菌数が圧倒的に違うのならどちらが有利でしょうか？」それが私たちの提案です。

乳酸球菌EC-12株 それは「ナノ」の力



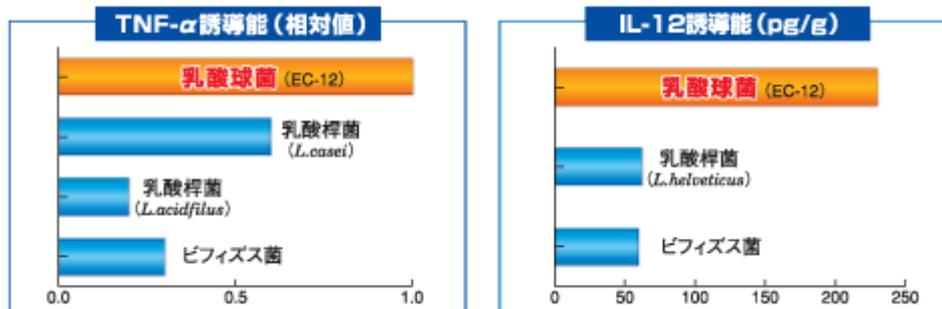
特徴

- ① 生きた菌ではないので耐熱性が非常に強い
- ② 品質が安定しており、商品の味に刺激を与えない
- ③ 少量でかなりの菌数を摂取できる (グラムあたり5兆個)
- ④ 生産ラインを汚染しないので衛生的である
- ⑤ 独自のキットにより、最終商品中で菌数の測定が可能



中野敏明ら(北里大学医学部 皮膚科)より提供

乳酸菌におけるTNF- α およびIL-12の誘導能比較



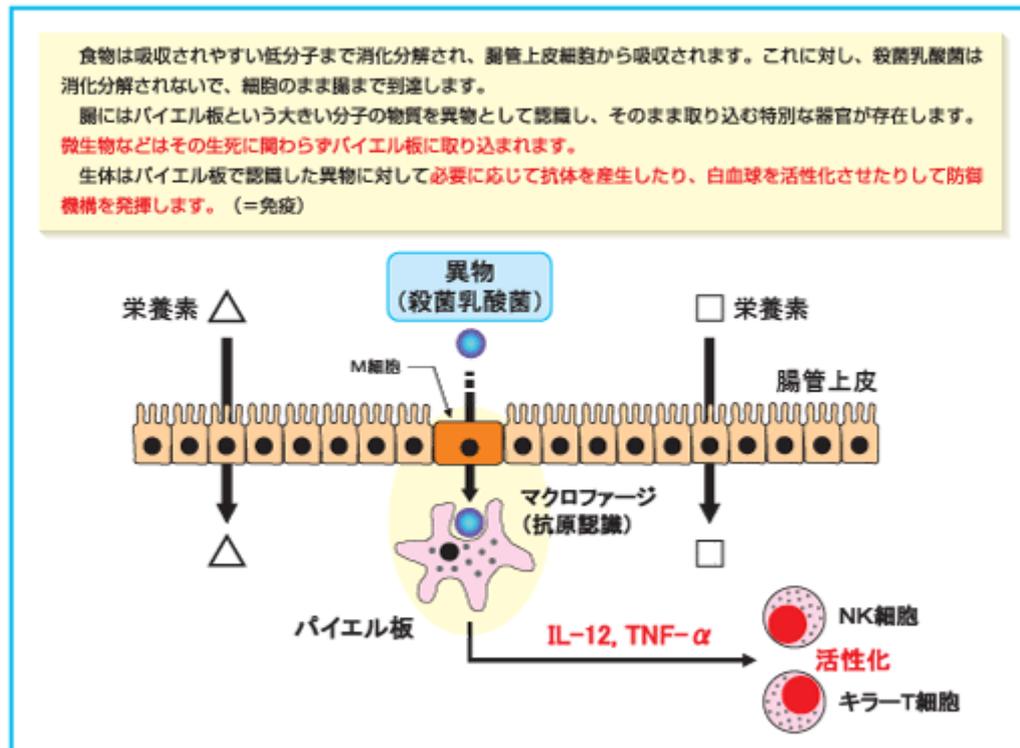
上の図はEC-12に使用されている乳酸球菌EC-12のTNF- α 活性化度を試験管の中で測った

ものを示したものです。乳酸球菌EC-12が他の乳酸菌より高い活性化度を示していることが判ります。TNF- α はマクロファージから産生される抗腫瘍物質であり、EC-12の抗腫瘍効果にマクロファージが関与していることが伺えます。

また抗腫瘍効果にはさらにもう一つ別の作用も期待できます。右の図は、乳酸球菌のインターロイキン-12(IL-12)産生能を示したものです。やはり他の乳酸菌よりも産生能が高いことが判ります。

単球やマクロファージから産生されるIL-12という物質(サイトカイン)は、Th1型ヘルパーT細胞を誘導して抗腫瘍免疫を活性化する作用があることが知られています。すなわち乳酸球菌EC-12の抗腫瘍効果はマクロファージのみならず、T細胞、NK細胞にも関与している可能性も示されました。

殺菌菌体が免疫機構に影響を与えるメカニズム



[▲このページのTOPへ](#)

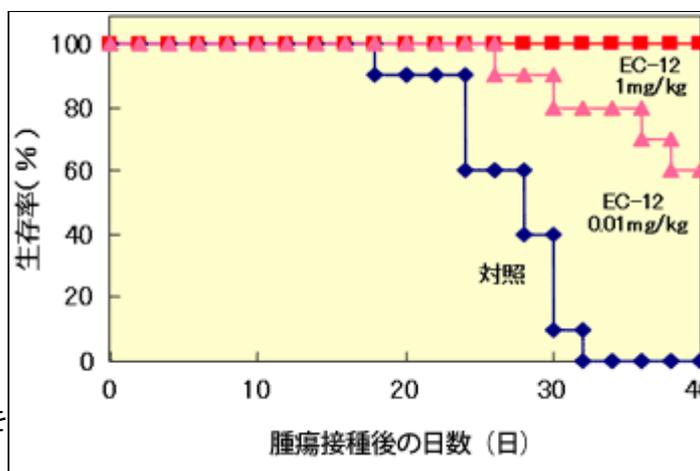
抗腫瘍に関するデータ

<方法>

7週齢のBALB/c雌性マウスにEC-12をマウス体重あたり0.01mg/kg,または1mg/kg濃度で実験期間中毎日経口投与した。経口投与1週間目に繊維肉腫細胞であるMeth Aを背部皮下に2.0×10⁶/mouse濃度で接種した。腫瘍接種後の生存率を観察した。

<結果>

この試験では、生理食塩水を投与したマウスは18~32日目まで死亡したが、殺菌乳酸菌EC-12投与群では試験期間の40日目まで経過しても1匹も死亡しなかった。また、投与量が100分の1量におい

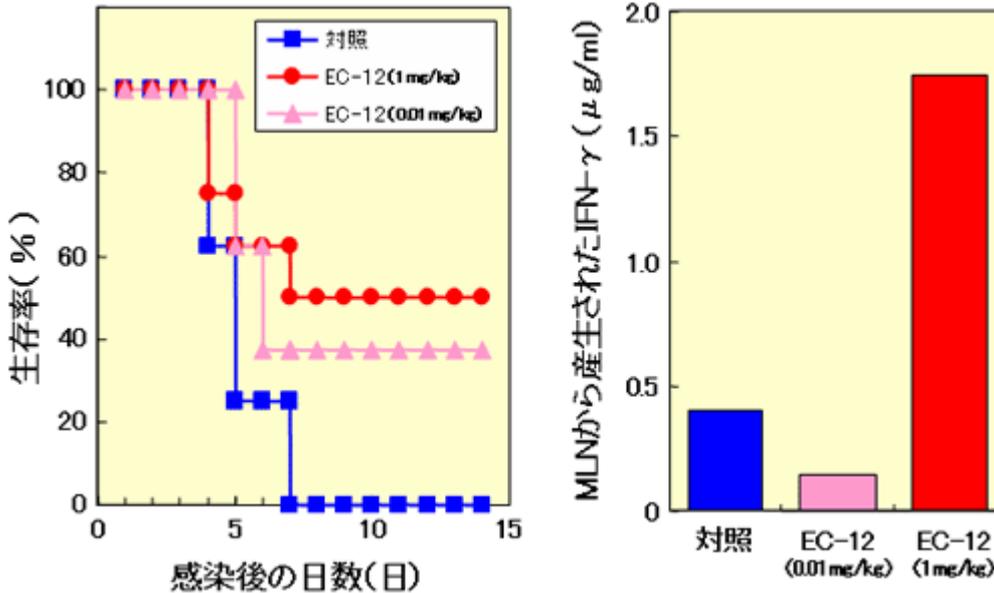


でも対照群に比較し、生存率の高いことが認められたため、抗腫瘍効果において用量依存性が確認された。

第15回 日本バイオセラピー学会 演題番号:O-44(2002)より

[▲このページのTOPへ](#)

生体防御に関するデータ



<方法>

7週齢のBALB/c雌系マウスにEC-12を0.01mg/kgあるいは1mg/kg経口投与し、投与開始から3日目にLD₅₀の10倍量に相当するリステリア菌(L.monocytogenes)を感染させた。また、各投与群から得られた腸間膜リンパ節(MLN)細胞にリステリア菌の抗原を接触させ、産生するサイトカインを測定した。

<結果>

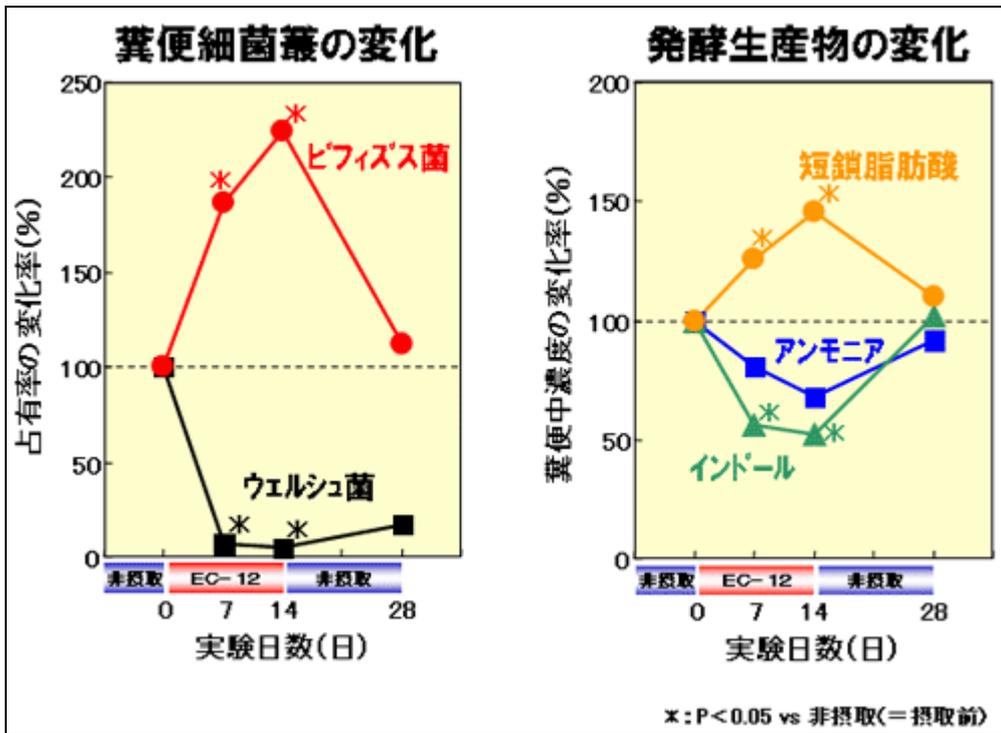
対照群は感染後7日目に全例死亡したのに対し、EC-12摂取群は実験終了時においても40%以上の生存率を示し、臓器内菌数に関してもEC-12摂取群は有意な排菌効果が認められた。これは、in situ 実験系においてTh1型サイトカインであるIFN-γの産生が確認されたことから、細胞性免疫が亢進したためと考えられる。

また、フローサイトメトリー(FACS解析)を用いた解析により、殺菌乳酸菌EC-12にはマクロファージおよびT細胞の活性化を促進する作用があり、免疫賦活剤として生体防御機構に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

J. New Rem. & Clin., 53 (3), 78-88 (2004)より

[▲このページのTOPへ](#)

腸内菌叢改善に関するデータ



<方法>

本試験はボランティア(健康成人:19-24歳)8人に対して行った。ボランティアは顆粒化したEC-12を1日当たり200mg(菌数1兆個)、就寝前に摂取した。試験開始前1週間を対照、試験開始から2週間はEC-12摂取期間、その後2週間を非摂取期間とした。採便は0日目(対照)、7日目(EC-12摂取1週間)、14日目(EC-12摂取2週間)および28日目(非摂取2週間)に行い、糞便細菌叢や糞便の理化学性状を調べた。

<結果>

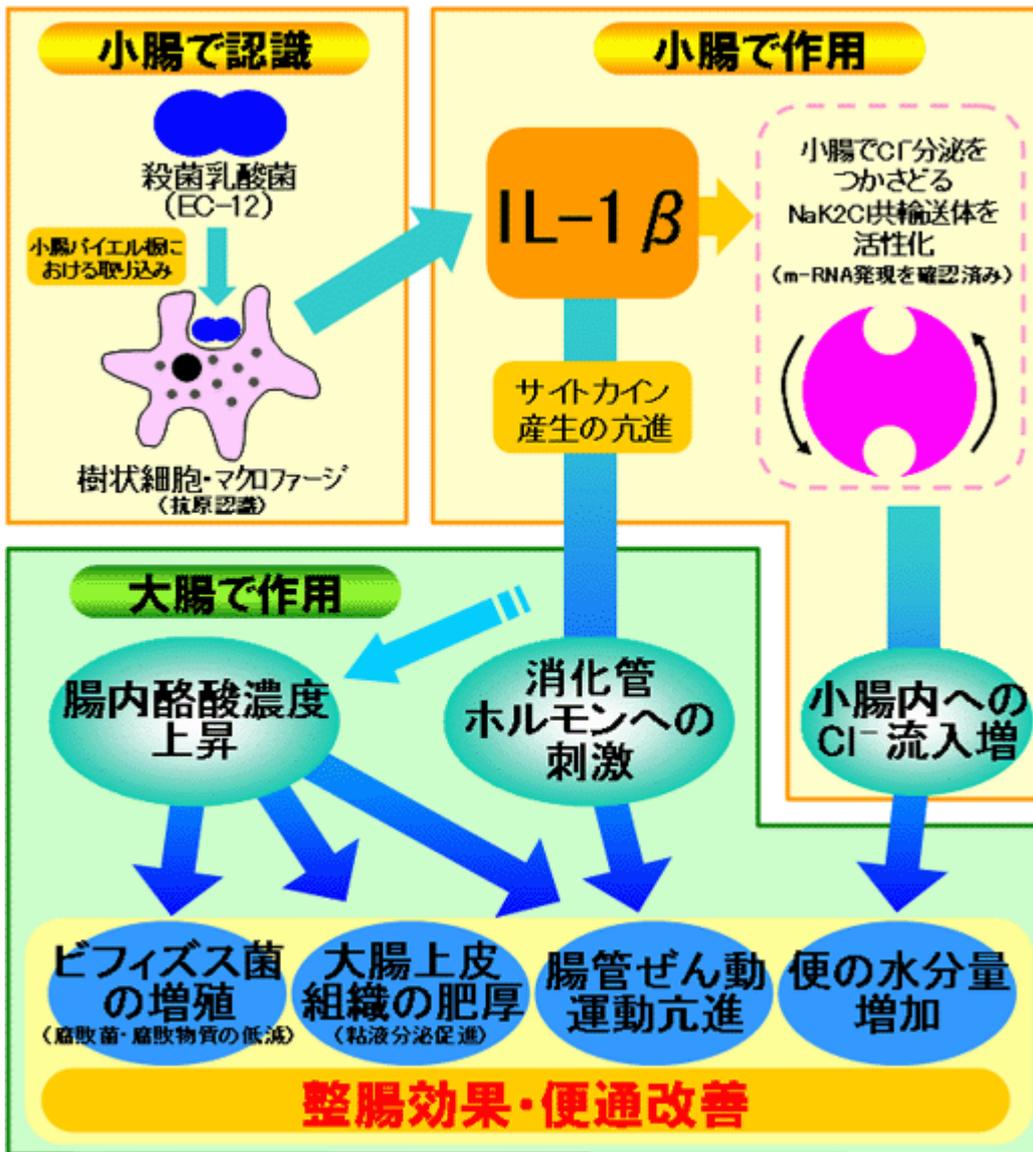
殺菌乳酸菌EC-12摂取期間のみ**ビフィズス菌(善玉菌)**の占有率が有意に増え、**ウェルシュ菌(悪玉菌)**が有意に減るという現象が観察され、便通や便性に関するパラメーターも全て良好な傾向を示した。**殺菌した乳酸菌による整腸効果を初めて示したものである。**

Microb. Ecol. Health Dis., 16 (4), 188-194 (2004)より

[▲このページのTOPへ](#)

整腸効果のメカニズム

整腸効果の作用機構モデル



消化管上部から取り込まれた菌体成分はパイエル板からM細胞に取り込まれ、抗原提示細胞により認識されることが報告されている一方、EC-12を摂取した際の整腸作用は大腸におけるものである。今回、小腸でIL-1 β が発現し、大腸における塩素イオンの輸送および腸管ぜん動運動が活性化されたことが確認されたことから、殺菌乳酸菌EC-12投与による整腸・便秘改善効果は小腸の腸管免疫機構を介して、大腸に作用することによりもたらされることが示唆された。

便秘改善作用のメカニズム

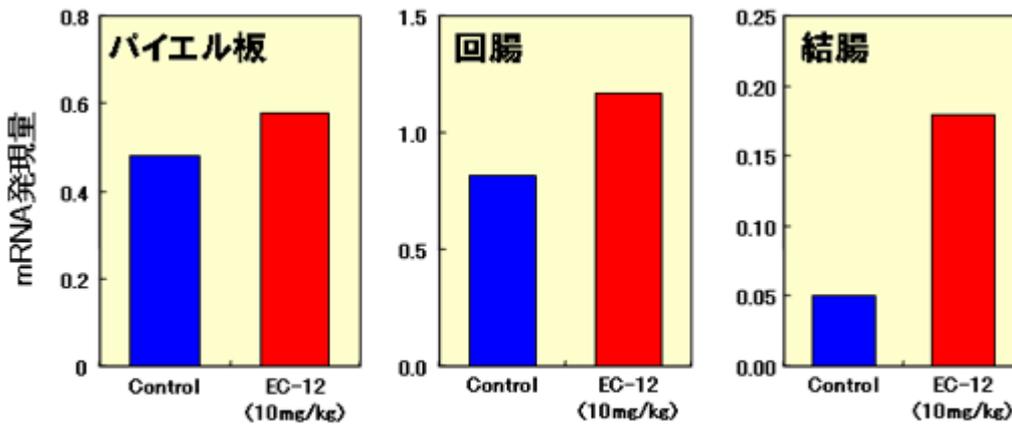


図1. IL-1β遺伝子の発現 (=炎症性サイトカイン) 図2. NKCC1遺伝子の発現 (=塩素イオンの輸送に関わる) 図3. iNOS遺伝子の発現 (=腸管運動に関係する)

<方法>

試験はSD系雄性ラットを用い、EC-12:10mg/kg投与群と、生理食塩水投与の対照群とし、各群5匹で各々7日間強制経口投与した。飼育期間終了後に剖検して消化管上皮細胞を採取し、パイエル板のIL-1β、腸管上皮細胞中のNKCC1(NaK2Cl共輸送体)及び腸管組織中iNOSのmRNA発現量を測定した。

<結果>

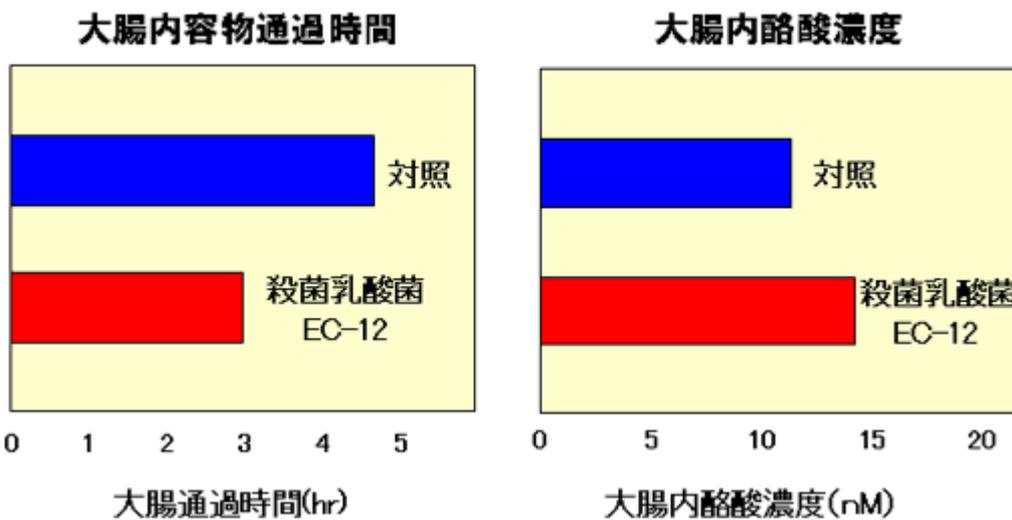
EC-12投与で小腸パイエル板におけるIL-1βのmRNA発現量が有意に高値を示した(図1)。回腸上皮細胞ではNaK2Cl共輸送体であるNKCC1のmRNA発現量が有意に高値(図2)を示しており、IL-1β遺伝子発現により、回腸(小腸)における塩素イオン分泌量の亢進が示唆された。一方で、結腸では無投与対照群よりも低値を示したことから、これらの作用は主に小腸のみで起こる可能性が示唆された。また、血管拡張作用を有し、腸管運動にも関係しているといわれているiNOSの遺伝子は結腸(大腸)においてEC-12投与で有意に高値を示した(図3)。

<結論>

以上のことから殺菌乳酸菌EC-12摂取による便通改善作用は、小腸腸管パイエル板で認識されたEC-12が腸管免疫系を介して、①塩素イオン流入に伴う便の水分量増加および②iNOS遺伝子発現による腸管運動の変化によりもたらされたことが示唆された。

第58回日本栄養・食糧学会大会 演題番号:3F-13p (2004)より

便通促進効果



<方法>

試験は成雌ブタ(LWD系雑種、体重91~153kg)を用い、被験物質にEC-12、対照物質にビール酵母を餌に混合して用いた。給餌量は1日2.4kgで、朝(9時)晩(21時)に等分して給餌した。飲水は自由摂取とした。試験開始後8日の朝の給餌時に消化管内滞留時間測定用マーカーとしてCo-EDTA(液相マーカー)及びYbCl₃(固相マーカー)を投与した。また、夜の給餌時にEu-EDTA(液相マーカー)及びCeCl₃(固相マーカー)を投与した。マーカー投与から2日間それ

ぞれサンプリングを行い、マーカーの移動時間より、腸管内容物の大腸通過時間を測定した。盲腸内容物採取期間中に排泄された糞便については、糞便毎に重量測定後、有機酸、胆汁酸およびアンモニア濃度測定および消化管内滞留時間を測定した。(n=3)

〈結果〉

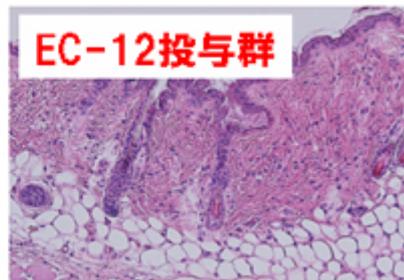
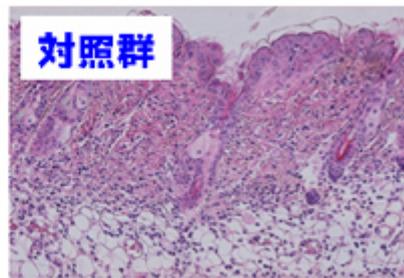
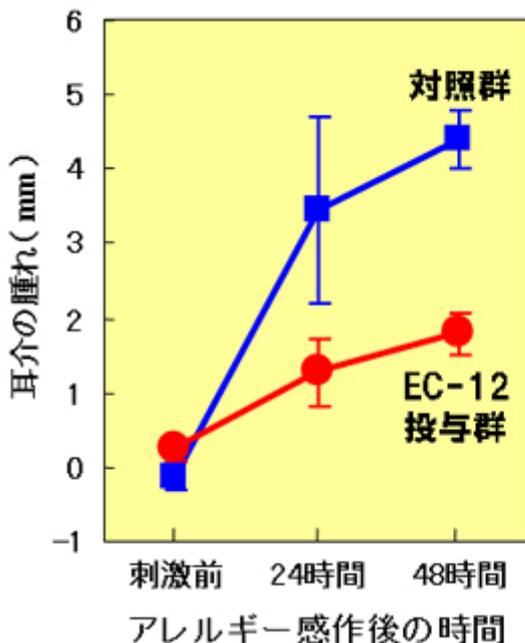
殺菌乳酸菌EC-12を摂取すると、**対照飼料を投与したときと比較して大腸通過時間が3分の2以下に短縮**しており、便通を促進することが示唆された。一方**大腸酪酸濃度**についても約**30%の増加**が観察された。酪酸は、腸壁に直接作用して、大腸壁を厚くするとともに、粘液物質の分泌を促進させることが知られている。

Microb. Ecol. Health Dis. in pressより

[▲このページのTOPへ](#)

IV型アレルギーに関するデータ

抗炎症効果(マウス接触性皮膚炎モデル)



〈方法〉

4週齢のBALB/cマウスをEC-12摂取群(10mg/kg/日相当の自由摂食)と、通常食摂取群に分け、接触過敏症を誘導し比較検討した。16週齢時に各群を0.5%ジニトロフルオロベンゼン(DNFB)液50μLにて感作させ、接触過敏症を誘導し、感作後5日後に0.2%DNFB液20μLを耳介部に塗布して、接触過敏反応を惹起させた。過敏症誘導24時間後と48時間後に耳介部の腫張をDial thickness gaugeで測定した。

〈結果〉

殺菌乳酸菌EC-12を与えていたマウスは、通常の飼料を投与していたマウスと比較して、**耳の腫れは半分**に抑えられた。また、**耳介部を組織染色して観察すると、EC-12投与群では炎症細胞の浸潤が顕著に抑制**されていることが明らかになった。

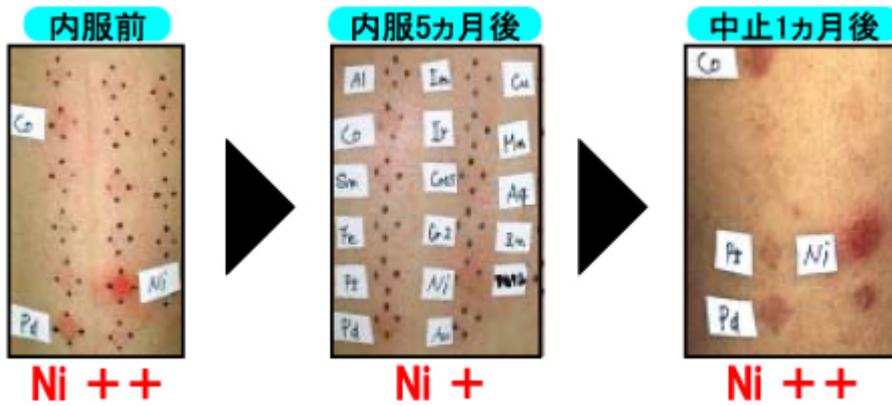
殺菌乳酸菌EC-12を継続的に摂取することによって、**炎症を起こすアレルギー反応が制御**されていることが示唆された。

第33回日本皮膚アレルギー学会総会 演題番号:C-14(2003)より

臨床応用試験：ヒト接触皮膚炎抑制効果

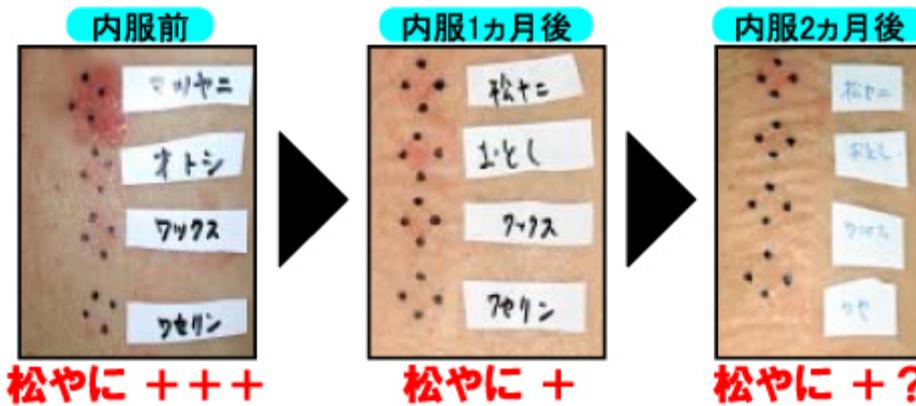
マウスのDNFB感作モデルでの有効性をふまえてヒト接触過敏症患者に応用

〈症例1：ニッケルアレルギー〉



金属ネックレスによる接触性皮膚炎の24歳女性。金属パッチテストでニッケルに対し48時間後ICDRG(国際接触皮膚炎共同研究班)で2+と強く反応を示した。EC-12を1日3回計600mg摂取し経時的にパッチテストで反応を追い、3カ月後と5カ月後に反応が抑制されていたことを確認した後、1ヶ月間内服を中止し再度金属パッチテストを行った結果、元の2+に戻った。その後、摂取を再開。

<症例2: 松やにアレルギー>



バイオリン奏者で弦を研ぐ松やにによる接触過敏症と診断された52歳女性。松やに10%濃度にかかなりの反応を呈したが、EC-12を毎日600mg 摂取1カ月後と2カ月後ではともに反応が抑制された。現在も仕事でバイオリンを弾いているが、自覚症状も軽減し、満足されている。

ヒト接触性皮膚炎患者の臨床応用に対し有用であった。また、摂取中止による効果の減弱が認められたことから、継続的な摂取が好ましいことが示された。

第34回日本皮膚アレルギー学会総会 演題番号: B27(2004)より

[▲このページのTOPへ](#)

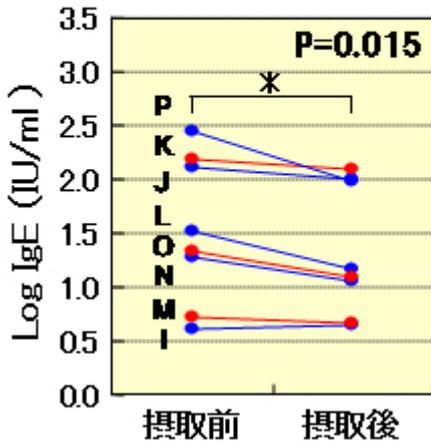
I型アレルギーに関するデータ

花粉症改善効果(ヒト臨床試験)

- 総IgE
- 特異的IgE
 - ・花 粉: スギ、ヒノキ、カモガヤ、ブタクサ、ヨモギ
 - ・ダ ニ: ヤケヒョウヒダニ、コナヒョウヒダニ
 - ・室内 塵: ハウスダスト-2、ハウスダスト-6
 - ・動 物: ネコ上皮、イヌ上皮

スギ花粉 抗原特異的IgEの変化

- ・真 菌： アスペルギルス、カンジダ、アルテルナリア、ペニシリウム
- ・食 品： 卵白、乳牛、エビ、インゲン、エンドウ、小麦、米、そば、大豆、ピーナッツ、牛肉、鶏肉
- ・その他： アニサキス、マラセチア



| No. | 性別 年齢 | 評 価 | | | 総 IgE (IU/ml) | | スギ花粉 抗原特異的 IgE (IU/ml) | | |
|-----|----------|-----|----|-----|-----------------|--------|-----------------------------|--------|------|
| | | 医師 | 患者 | 満足度 | 摂取前 | 変化 摂取後 | 摂取前 | 変化 摂取後 | |
| I | ♀26 | 4 | 3 | 4 | 179 | ↓14 | 4.09 | ↓ | 4.55 |
| J | ♂50 | 2 | 2 | 2 | 654 | ↑1458 | 129 | ↑ | 102 |
| K | ♀26 | 3 | 2 | 1 | 11990 | ↓8974 | 154 | ↓ | 124 |
| L | ♂31 | 5 | 4 | 2 | 1468 | ↑1811 | 33.2 | ↑ | 14.6 |
| M | ♀47 | 5 | 5 | 5 | 16 | ↓14 | 5.25 | ↓ | 4.6 |
| N | ♀33 | 2 | 2 | 2 | 283 | ↓174 | 19.4 | ↓ | 11.6 |
| O | ♀58 | 1 | 1 | 1 | 104 | ↓99 | 21.7 | ↓ | 12.7 |
| P | ♀36 | 1 | 1 | 1 | 5453 | ↓2822 | 281 | ↓ | 96.5 |

評価スコア 1: 著効(すごく良い) / 2: 軽快(良い) / 3: やや軽快(良くない) / 4: 無効(悪い) / 5: 評価不能(脱落)

＜方法＞

通院している炎症性皮膚疾患患者150例に対して1日あたり400mgのEC-12を2ヶ月以上連続摂取していただき、医師が有効と判断した疾患(花粉症)に対して継続摂取していただいた。EC-12投与前後の血中総IgE値および抗原特異的IgE値(IgE RAST)の変動を指標とした改善効果を検討するとともに、医師による客観的、患者本人による主観的病態改善効果をスコア化することにより総合して評価した。

＜結論＞

花粉症患者の中で、継続的にデータが取得できたのは8例であった。殺菌乳酸菌EC-12の摂取により、花粉症の発症要因となるスギ特異的IgE抗体産生が抑制される傾向を示した。また、医師の有効性評価と患者本人の満足度が得られ、花粉症に対するQOL改善効果が示唆された。

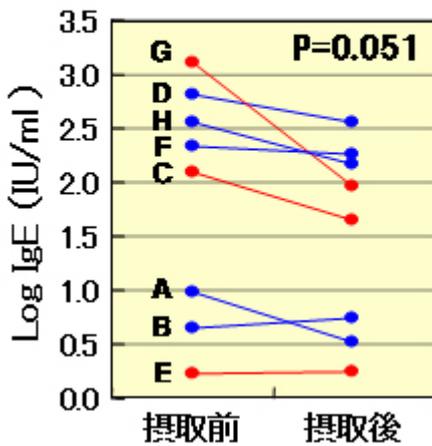
なお、総IgEや他の抗原特異的IgEの値は摂取前後で目立った変化は認められなかった。

第1回 食品免疫学会 演題番号:P11 O3(2005)

アトピー性皮膚炎改善効果(ヒト臨床試験)

- 総IgE
- 特異的IgE
 - ・花 粉： スギ、ヒノキ、カモガヤ、ブタクサ、ヨモギ
 - ・ダ ニ： ヤケヒョウヒダニ、コナヒョウヒダニ

ハウスダスト-6 抗原特異的IgEの変化



- ・室内塵: ハウスダスト-2、ハウスダスト-6
- ・動物: ネコ上皮、イヌ上皮
- ・真菌: アスペルギルス、カンジダ、アルテルナリア、ペニシリウム
- ・食品: 卵白、乳牛、エビ、インゲン、エンドウ、小麦、米、そば、大豆、ピーナッツ、牛肉、鶏肉
- ・その他: アニサキス、マラセチア

| I.D. | 性別 年齢 | 評価 | | | 総 IgE (IU/ml) | | ハウスダスト-6 抗原特異的 IgE (IU/ml) | | |
|------|----------|----|----|-----|-----------------|----------|---------------------------------|----|------|
| | | 医師 | 患者 | 満足度 | 摂取前 | 変化 | 摂取前 | 変化 | 摂取後 |
| A | ♂35 | 2 | 2 | 2 | 8172 | 10,852 | 9.72 | → | 3.24 |
| B | ♂31 | 3 | 2 | 1 | 516 | 597 | 4.43 | | 5.71 |
| C | ♀25 | 2 | 4 | 4 | 2352 | → 1216 | 128 | → | 45.6 |
| D | ♂34 | 2 | 4 | 2 | 12,033 | → 10,429 | 660 | → | 376 |
| E | ♀45 | 4 | 4 | 4 | 2687 | 5181 | 1.72 | | 1.79 |
| F | ♂32 | 5 | 5 | 5 | 4197 | 5136 | 216 | → | 183 |
| G | ♀37 | 3 | 3 | 2 | 10,400 | → 6207 | 1320 | → | 92.2 |
| H | ♂22 | 3 | 3 | 3 | 2857 | 2850 | 364 | → | 148 |

評価スコア 1: 著効(すごく良い) / 2: 軽快(良い) / 3: やや軽快(良くない) / 4: 無効(悪い) / 5: 評価不能(脱落)

〈方法〉

通院している炎症性皮膚疾患患者150例に対して1日あたり400mgのEC-12を2ヶ月以上連続摂取していただき、医師が有効と判断した疾患(アトピー性皮膚炎)に対して継続摂取していただいた。EC-12投与前後の血中総IgE値および抗原特異的IgE値(IgE RAST)の変動を指標とした改善効果を検討するとともに、医師による客観的、患者本人による主観的病態改善効果をスコア化することにより総合して評価した。

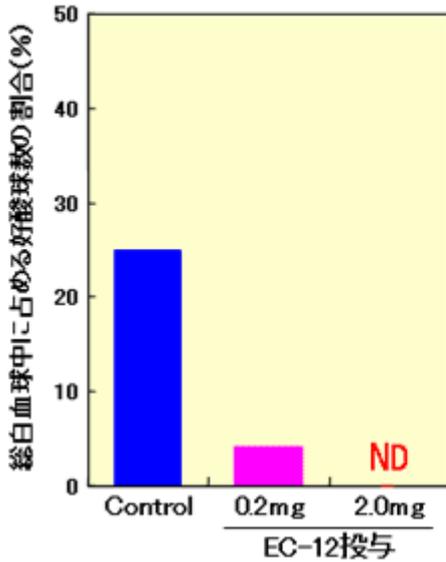
〈結果〉

アトピー性皮膚炎患者の中で、継続的にデータが取得できたのは8例であった。殺菌乳酸菌EC-12の摂取により、アトピー性皮膚炎の発症要因となる可能性の高いハウスダスト-6抗原特異的IgE抗体産生が抑制される傾向を示した。また、医師の有効性評価と患者本人の満足度が得られ、アトピー性皮膚炎に対するQOL改善効果が示唆された。なお、総IgEや他の抗原特異的IgEの値は摂取前後で目立った変化は認められなかった。

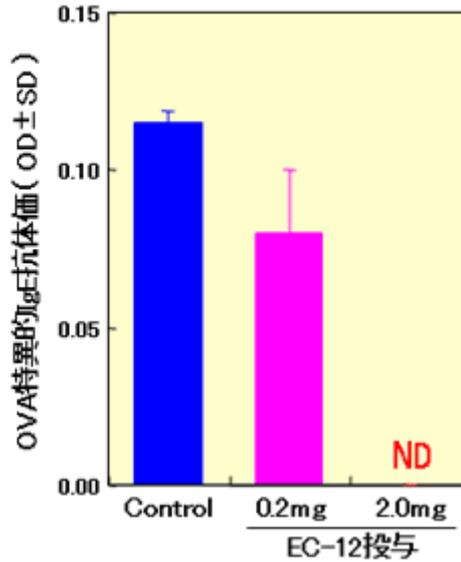
Hindgut Club Japan 演題番号:P19(2005)

アレルギー抑制効果(マウス喘息誘発モデル)

炎症性細胞の集積抑制



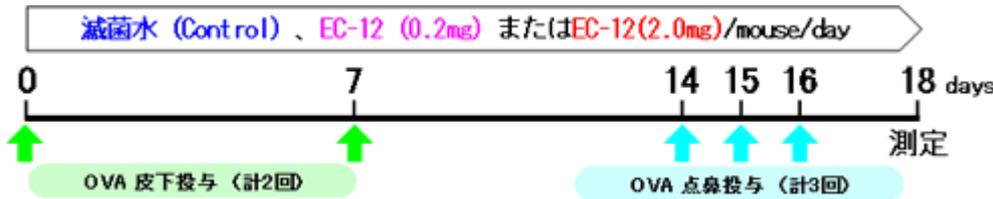
特異的IgEの抑制



〈方法〉

7週齢のBALB/c雌性マウスにアジュバントと共にOVA(抗原)を皮下注射して感作させたのちOVAを点鼻投与して喘息誘発モデルを作成し、肺胞洗浄液中の白血球数および好酸球数、血清中のOVA特異的IgE等を測定した。なお、EC-12は試験期間中を通して連日投与した。(n = 5)

※OVA: 卵白アルブミン(卵アレルギーの原因物質)



〈結果〉

コントロール群ではアレルギー症状の指標となる肺胞好酸球の集積と血清中抗原特異的IgE抗体価の上昇が観察されたが、EC-12の投与により好酸球数と抗原特異的IgE抗体価が用量依存的に減少し、高濃度投与群では正常レベルまで抑制された。

〈結論〉

殺菌乳酸菌EC-12の摂取により、アレルギー反応の引き金となる抗原特異的IgE抗体価の上昇と炎症反応を増長する好酸球の集積が著しく抑制されたことから、EC-12はI型アレルギー反応(花粉症、アトピー性皮膚炎、喘息など)を軽減させることが強く示唆された。

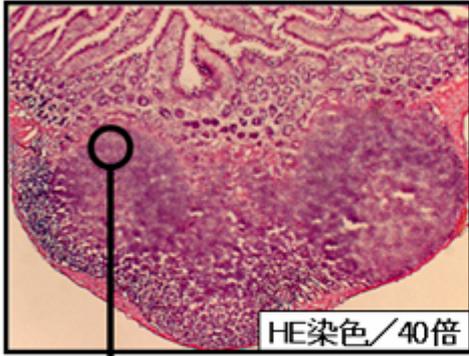
未発表データより

[▲このページのTOPへ](#)

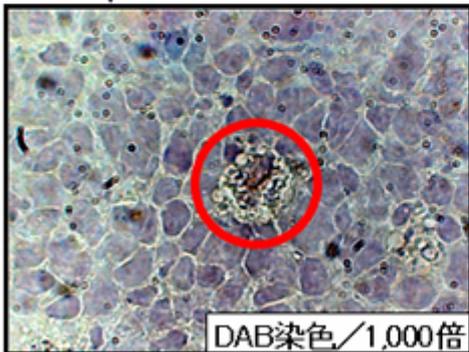
その他先進的研究

吸収経路に関する検証

パイエル板

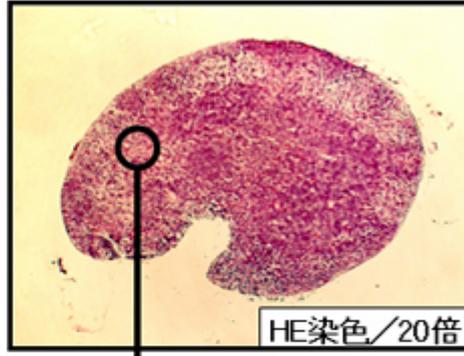


拡大

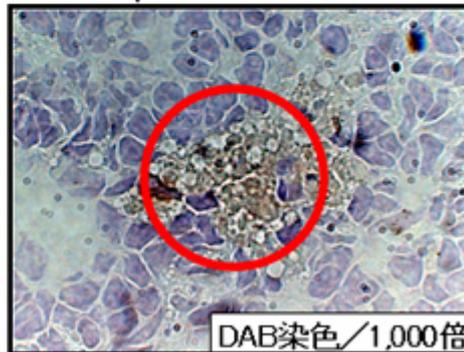


免疫細胞により消化を受けるEC-12

腸間膜リンパ節



拡大



輪郭の崩壊が確認される

<方法>

SD系成雄ラットに100mg/kg のEC-12を5日間経口投与し、最終日の投与150分後に解剖し、小腸パイエル板、腸間膜リンパ節および脾臓を採取した。各組織から厚さ4μmの組織切片を作成し、DAB染色(赤褐色)を組み合わせた EC-12ポリクローナル抗体を用いて、EC-12菌体の各組織での存在状況について視覚的に検証した。また、細胞の形態を確認するためにHE染色を別途実施した。

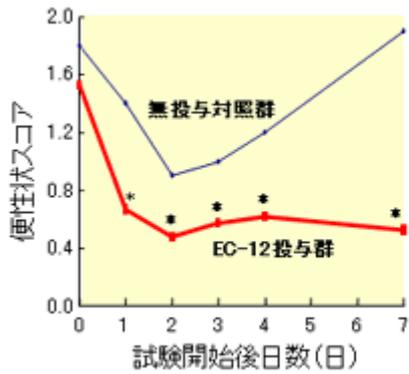
<結果>

パイエル板および腸間膜リンパ節にそれぞれEC-12の陽性シグナルが確認できたが、EC-12非投与群の各臓器やEC-12投与群の脾臓ではEC-12の陽性シグナルは確認できなかった。消化管上皮近傍のパイエル板でEC-12が確認されると共に、下流域の腸間膜リンパ節でもEC-12およびその崩壊が観察されたため、全身免疫の活性化に関与している可能性が強く示唆された。

Hindgut Club Japan 演題番号:P19(2005)

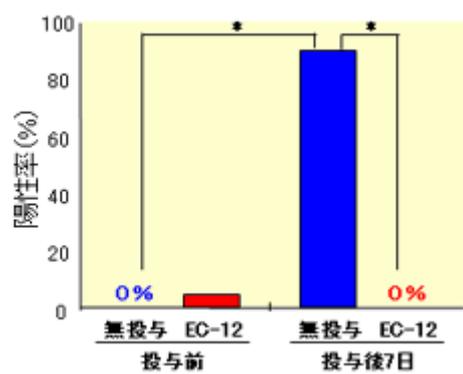
その他先進的研究

EC-12投与による便性状スコアの変化

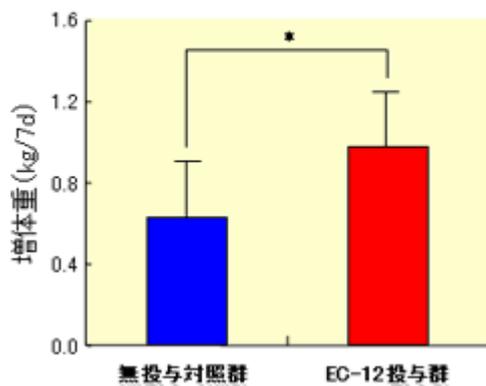


便性状スコア 0, 正常便; 1, 軟便; 2, 下痢

EC-12投与による溶血性大腸菌陽性率の変化



EC-12投与による増体重の変化



<方法>

試験は、下痢が頻発している養豚農場の離乳直後の子豚に対して行った。試験開始前に病勢鑑定を行い微生物由来の病原因子を確定させた。被験物質としてEC-12を0.05%添加した飼料を1豚房(20頭)に対して投与した。また他方の豚房(10頭)には無添加標準食を投与した。試験は7日間行い、便性状スコアと病原因子の特定はスワブで採便を行い評価した。また7日間の増体重も評価した。

<結果>

EC-12投与により便性状スコアは試験開始3日目から改善した。また溶血性大腸菌の陽性率も減少した(この他にウェルシュ菌、ロタウイルスに関してもほぼ同様の結果を得ている)。また7日間の増体重も下痢の抑制に伴って改善した。以上の結果から殺菌乳酸菌EC-12の投与は病原因子を排斥し、下痢を抑制する可能性が示唆された。

4th Joint INRA-RRI Symposium(2004)より

[▲このページのTOPへ](#)