

高コレステロール食を与えたラットの脂質代謝に対する NS 乳酸菌株の効果

Xu Hu^{1†}, Tao Wang^{1†}, Wei Li^{1,2}, Feng Jin^{1*}, Li Wang^{3*}

要約

背景: 血清コレステロール値が高くなると、人間の健康を深刻に脅かす心血管疾患を発症する危険因子となると一般的に考えられている。乳酸菌のコレステロール低下効果が近年、多くの研究者の大きな関心および議論の的となっている。本研究では、2つの NS 乳酸菌株、プラントラム NS5 乳酸菌、デルブリュッキ・サブスピーシーズ・ブルガリクス NS12 乳酸菌が高コレステロール食を与えたラットの脂質代謝にいかに関与するかを検討した。

方法: 32匹のSDラットを4グループに分け、標準または高コレステロール食を与えた。NS 乳酸菌投与群には、プラントラム NS5 乳酸菌またはデルブリュッキ・サブスピーシーズ・ブルガリクス NS12 乳酸菌を飲料水中に補填した高コレステロール食を与えた。ラットは、6週間の給餌期間後に屠殺し、体重、内臓および脂肪の重量、血清および肝臓のコレステロール、また、脂質レベル、腸内細菌叢およびコレステロール代謝に関連する肝臓 mRNA 発現レベルを分析し、肝臓の脂質沈着と脂肪細胞サイズを組織学的に評価した。

結果: NS5 株あるいは NS12 株を与えたラットは、高コレステロール食を与えたラットと比較して、血清の総コレステロール、低密度リポタンパクコレステロール、アポリポタンパク B および遊離脂肪酸レベルが低下し、アポリポタンパク A-I レベルが上昇した。高密度リポタンパク・コレステロールレベルには有意の変化はなかった。肝臓のコレステロールおよびトリグリセリドレベルも、NS 乳酸菌株投与群で有意をもって減少した。また、NS 乳酸菌株は明らかに高コレステロール食飼育ラットの肝傷害を緩和し、肝脂質沈着および減少脂肪細胞サイズを減少させた。NS 乳酸菌株は、バクテロイデス属の増加やクロストリジウム属の減少のような腸内細菌叢の組成変化を回復させた。NS 乳酸菌株はまた、アシル-CoA のダウンレギュレーションなど、コレステロール代謝に関連する肝酵素の mRNA 発現レベルを調節し、コレステロールアシルトランスフェラーゼ (ACAT) およびコレステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ (CYP7A1) のアップレギュレーションを含む。

結論: 本研究は、2つの NS 乳酸菌株が脂質代謝に影響を及ぼし、高コレステロール食を与えたラットに対しコレステロール低下効果を持つ可能性があることを示唆した。

キーワード: NS 乳酸菌、コレステロール、アポリポタンパク質、腸内細菌叢、mRNA 発現

* 連絡先: jinfeng@psych.ac.cn; liwang@hznu.edu.cn

† 同等の貢献者

1 中国、北京、中国科学院、心理学研究所、精神衛生主要研究所

3 中国、浙江省、杭州師範大学医学部

記事の最後に全著者の情報リストを記載

はじめに

国民の生活水準の改善、ライフスタイルの変化に伴い、高コレステロール血症の発生率が急速に増加している。高コレステロール血症の特徴は、血液中のコレステロール濃度が非常に高いことである。血清コレステロール値が高くなると、高血圧、冠状動脈性心臓病、糖尿病など、心血管疾患（CVD）発現の最も重要な危険因子となると一般的に考えられている。WHO は、2030 年までに、およそ 2,360 万人が CVD で死亡し、また CVD が主要な死因となり続けるだろうと予測した[1]。血清コレステロール値の 1%だけでも減少すれば、冠状動脈性心臓病のリスクが 3%まで低くなるだろうと報告されている[2]。したがって、血清コレステロール値を下げるのが、CVD 防止の有効手段の 1 つとなる。一般的に用いられるコレステロール低下薬は数多くある。例えば、スタチンは血清コレステロール値を下げるため、臨床現場で広く使われている[3]。しかし、一般に用いられている薬は高価格、また副作用があるため、血清コレステロール値を低下させる、より有効でより安全な代替療法の開発がますます魅力的となっている。

研究によれば、腸内細菌叢の数と種が生物的有機体の正常な生理的状態維持に重要な役割を果たし、腸内細菌叢の乱れが、潜在的に疾病状態につながる可能性がある[4]。Stepankova らは、細菌叢(無菌状態)の欠如が、標準の低コレステロール食を与えた ApoE 欠陥のあるマウスのアテローム性動脈硬化症を加速することを発見した[5]。また、研究によって、腸の細菌叢がマウスの脂質代謝を調整したことが発見された[6]。これらの事実は、腸内細菌叢と高コレステロール血症に関係があることを示した。したがって、腸内細菌叢への効果的な介入により、血清コレステロールレベルを低下させるという目的を達成することができる。乳酸菌（LAB）は、広くヒトの腸内で分散し、腸内細菌叢のバランスを調節することによってヒトの健康に有益な効果をもたらすと考えられている[7]。LAB の補充が、血清コレステロール値を低下させる可能性がある。1974 年初期、Mann と Spoerry が初めて、マサイ族の人々が摂取する発酵乳のコレステロール低下効果を発見した[8]。それ以来、より多くの証拠が、動物モデル[9-14]およびヒト[15-19]の血清コレステロール値に対する LAB の効果を示唆している。しかし、異なる実験では矛盾する結果が得られている[20, 21]。したがって、プロバイオティクスの血清コレステロール値降下効果は未だ議論の途中であり、正確なメカニズムははっきりと解明されていない。LAB によるコレステロールの同化[22]、コレステロールを細菌の細胞表面に結び付ける[23]、細菌の細胞膜にコレステロールを組み入れる[24]、LAB によって生産されたコレステロール還元酵素によってコプロスタノールへ変換する[25-27]、といった多くの可能なメカニズムが、LAB のコレ

ステロール低下効果について説明するために提案されてきた。腸内の LAB の生物学的特徴に基づき、我々は、LAB が腸内細菌叢の構成を調整することによってコレステロール低下作用を示すという他の新たな可能性を提案した。

LABの健康的効果には株特異性があり、株ごとに異なる有益効果を示す[28]。これらをもとに、中国、内モンゴルの草原から集めた自然発酵乳製品から一連の乳酸菌株を我々の研究所にて分離し、NS 乳酸菌株と命名した。まず、生体外の実験により、株をスクリーニングし、高コレステロール低下能力を持つ2株、プラントラムNS5乳酸菌およびデルブリュック・サブスピーシーズ・ブルガリクスNS12乳酸菌を発見した。本研究では、高コレステロール食給餌雄SDラットの血清および肝脂質値に対する2つのNS乳酸菌株の影響を調べ、腸内細菌叢構成およびコレステロール代謝に関連する肝酵素のmRNA発現レベルという観点から可能なメカニズムを探った。

材料と方法

本研究で使用したNS乳酸菌株

本研究で使用したNS乳酸菌株、プラントラムNS5乳酸菌[ジェンバンク登録番号JQ013297]およびデルブリュック・サブスピーシーズ・ブルガリクスNS12乳酸菌[ジェンバンク登録番号JX839763]は、中国の内モンゴルの草原にて収集した天然の発酵乳製品を、我々の研究室で分離した2菌株である。それらは、生体外実験でコレステロール低下に優れた能力を示した。それらを個別にMRS培地に接種し、37℃で24時間培養した。次に、10分間3000rpmの遠心分離により乳酸菌を収集し、通常の生理食塩水(0.9%塩化ナトリウム)で2回洗浄した。株を滅菌水に再懸濁させ、108CFU/mlの濃度で飲料水として使用した(飲料水は毎日交換し、ラットの体重100グラム毎に、各日、水8~10mlを消費した)。

動物群および食事

32匹の雄のSprague-Dawley系ラット(従来の病菌のない動物等級かつ生後3週のもの)をバイタル・リバー実験動物株式会社(中国、北京)から購入し、1週間、通常の食事を与えた(Keao Xieliフィード株式会社、中国、北京)。餌と水は自由に供給した。ラットを個別にケージに収容し、一定温度(23±2℃)、湿度(55±5%)で12時間毎の明/暗サイクルに当て、維持した。動物は、実験動物の管理と使用に関する指針に準拠して取り扱った。全実験は、中国科学院心理学研究所の所内動物実験委員会によって承認された。

32%(重量/重量)プロテイン、5%脂肪、2%繊維、1.8%カルシウム、1.2%のリンを含み、残りは可溶性無窒素物の通常の食事を1週間の期間適応し、32ラットを無作為に各8匹ずつの4グループに割り当てた。4グループには次のような食事を割り当てた。(1)対照群、正常食、(2)HCグループ、高コレステロール食、(3)HC + NS5グループ、飲料水にプラントラムNS5乳酸菌を加えた高コレステロール食、(4)HC + NS12グループ、飲料水にデルブリュック・サブスピーシーズ・ブルガリクスNS12乳酸菌を加えた高コレステロール食。高コレ

ステロール食は2%（重量/重量）コレステロール、10%ラード、0.3%コール酸ナトリウムを含み、87.7%は通常の食事である。ラットを6週間飼育し、体重を記録した。給餌期間終了後、ラットを安楽死させ、内臓（心臓、肝臓、脾臓、肺および腎臓）、腸間膜、腎周囲および精巣上体白色脂肪組織（WAT）の重量を測定した。

血清指標の分析

実験期間の前（0週）および実験期間の2週目と4週目の終わりにラットを12時間絶食させ、次に100 μ lの血液サンプルを尾の静脈より毛細管で採取、血清コレステロール内容分析のために使用した。実験期間終了（6週）までに、12時間の絶食後、心臓穿刺を用いて各ラットから約5mlの血液サンプルをチューブ内に採取した。10分間3500rpmの遠心分離により血液から血清を分離した。総コレステロール（TC）、高密度リポタンパクコレステロール（HDL-C）、低密度リポタンパクコレステロール（LDL-C）を自動化学分析装置で測定した。血清遊離脂肪酸は、遊離脂肪酸用超高感度分析キットを用いて推定した（Applygen技術社、北京）。アポリポタンパクA-I（ApoA-I）およびアポリポタンパクB（ApoB）は、ラットApoA-IおよびApoB ELISAキットを用い、製造業者の推奨プロトコールに従って分析した（生体機能技術株式会社、北京）。

肝臓TCおよびTGの分析

ラットを殺し、肝臓を取り出し、生理食塩液で洗浄後、濾紙で拭いて乾かし、重量を量った。組織総コレステロールおよびトリグリセリド分析キット（Applygen技術社、北京）を用いて製造業者の指示に従い、肝臓総コレステロール（TC）およびトリグリセリド（TG）の含有量を調べた。

肝臓および脂肪細胞の組織病理

安楽死後、ラットの肝臓および脂肪細胞を取り出し、およそ-20 ~ -30°Cで急速凍結した。次に標本を最適切削温度化合物（OCT）（サクラファインテックUSA社、米国）に沈め、その後、ライカCM1900クリオスタットで凍結切断した。切片をスライドガラスに乗せ、染色した。肝臓標本を、ヘマトキシリン - エオシン（HE）またはオイルレッドOで染色した。脂肪細胞標本はまたHEでも染色し、各ラットにつき3つの異なる部位において脂肪細胞数を数えた。

腸内細菌叢の分析

ラットの糞便サンプルを採取し-20°Cで凍結した。TIANamp糞便DNAキット（Tiangen生物工學社、中国、北京）を用い、製造業者の指示に従い、細菌のDNAを抽出した。SYBR®Premix Ex Taq™（タカラ、日本）および真正細菌（全細菌、ハウスキーピング遺伝子として用られる）、ファーミキューテス、バクテロイデスおよびクロストリジウムを含む細菌種の16S rRNA遺

伝子用に設計されたプライマーセットを用い、qPCRによりDNAを増やし（表1）、異なるグループ間の腸内細菌叢を分析した。結果を全細菌（真正細菌）の合計に対するそれぞれの種のパーセンテージで示した。

mRNA発現レベル

コレステロール代謝に関連する、肝酵素のmRNA発現レベルを分析した。全RNAを、TRIZOL試薬(Tiagen生物工学社、中国、北京)により、製造業者のプロトコールに従ってラットの肝臓から分離した。UV分光光度計測定を用い、260 nmおよび280 nmでRNA濃度を推定し、cDNAに転写した（Tiagen生物工学社、中国、北京）。遺伝子のmRNA発現をSYBR®プレミックスEx Taq™（タカラ、日本）を用い、RT-PCRにより測定し、 $2^{-\Delta\Delta CT}$ で値を表した。正常化のためにグリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH; EC1.2.1.12)に対してハウスキーピング遺伝子を使用した。RT-PCRに使用された遺伝子およびプライマー配列を表1に記載する。

統計分析

すべての実験データを、平均±標準偏差（SD）として示す。データをSPSS 17.0統計ソフトウェア（SPSS社、USA、IL、シカゴ）を用いて一元配置分散分析によって分析した。P < 0.05の値は統計的に有意であると見なす。

結果

ラットの成長や内臓器官の重量

実験期間の前後において、4グループの全ラットの体重を記録した。本研究で使用した全ラットは、全期間を総じて健康に見えた。ラットの初期体重に、グループ間の有意差はなかった。6週間の実験期間後、高コレステロール食を与えたHC群のラットは、通常の食餌を与えた対照群と比較して体重増加傾向を示したが、まだ統計的有意性には達していない（441.9 ± 16.3 対 415.7 ± 30.1 g, p = 0.070）。 10^8 CFU/mlのプラントラムNS5乳酸菌（HC + NS5グループ）またはデルブリッキー・サブスピーシーズ・ブルガリクスNS12乳酸菌を（HC + NS12グループ）飲料水に追加した。HC群と比較して、最終的にわずかな体重減少を示したが、有意差はなかった（表2）。

ラットを殺した後、内臓の器官（心臓、肝臓、脾臓、肺および腎臓）、腸間膜、腎周囲および精巣上体の白色脂肪組織を（WAT）分離し、秤量した（表3）。ラットの肝臓は対照群で最も軽く、HC群で最も重くなった。HC群と比較して、プラントラムNS5乳酸菌が大幅に肝臓の重量を下げた（p < 0.05）。ラクトバチルス・サブスピーシーズ・ブルガリクスNS12乳酸菌もまた、肝臓の重量を下げたが、統計的な有意性はなかった（p = 0.064）。心臓、脾臓、肺および腎臓の重量は、4グループ間で有意差はなかった。同様に、対照群で最低のWAT重量およびHCグループで最高のWAT重量を示したが、依然、統計的有意性には達していない。

表1 本研究で使用したプライマー配列

目標	前方(5'-3')	逆 (5'-3')
腸内微生物叢		
真正細菌	ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT	ATTACCGCGGCTGCTGGC
ファーミキューテス	GGAGYATGTGGTTTAATTCGAAGCA	AGCTGACGACAACCATGCAC
バクテロイデス	GAGAGGAAGGTCCCCCAC	CGCTACTTGGCTGGTTCAG
クロストリジウム	ACTCCTACGGGAGGCAGC	GCTTCTTAGTCAGGTACCGTCAT
mRNA		
グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素	GCAAGTTCAACGGCACAG	CGCCAGTAGACTCCACGAC
hmg-coa還元酵素	TGTGGGAACGGTGACACTTA	CTTCAAATTTTGGGCACTCA
LDLR	AGCCGATGCATTCTGACTC	AGTTCATCCGAGCCATTTTCAC
CYP7A1	ACGTGGTTGGAAGAAGCG	GAATGTGGGCAGCGAGAA
アシル CoA・コレステロールアシルトランスフェラーゼ		
	GCTGAAGTGAACACTACCCTT	GAGCCATGCCTCTAGTACCT
レシチンコレステロールアシル転移酵素	CCCAAGGCTGAACCTCAGTAACCA	GGTAGCACAGCCAGTTTACCA

血清脂質に対するNS5とNS12株の効果

4グループの血清総コレステロール (TC)レベルを図1Aに示す。実験前、血清 TC はグループ間の有意差が認められなかった。高コレステロール食は、対照群と比較して血清TCレベルを有意を持って増加させた。プランタラムNS5乳酸菌およびサブスピーシーズ・ブルガリクスNS12乳酸菌は、生体外でコレステロール低下能力に程度の差を示した。HC群と比較して、NS5株は有意を持って血清TCレベルを下げた。2週および4週の終わりに、HC + NS5グループの血清TCレベルは依然として統計的有意を持って対照群と異なっていたが、6週の終わりには、対照群と比較して有意差さえ認められなかった。NS12株もまた、HC群と比較してある程度血清TCレベルを低減したが、統計的な有意はなかった。しかしまた、HC + NS5グループおよびHC + NS12グループの間にも有意差は認められなかった。

表 2 6 週間後のグループ間のラットの体重変化

グループ	ラット(個数)	初期体重 (g)	最終体重 (g)
対照群	8	89.4 ± 10.3	415.7 ± 30.1
HC	8	90.3 ± 7.9	441.9 ± 16.3
HC + NS5	8	89.4 ± 7.5	426.8 ± 24.6

対照群；通常食、HC；高コレステロール食、HC + NS5；高コレステロール食 + プランタラムNS5乳酸菌、HC + NS12；高コレステロール食+デルブルック・サブスピーシス・ブルガリクスNS12乳酸菌
データは平均±標準偏差として示す。

対照群が、最高HDL-C値を示し、高コレステロール食が、血清HDL-C濃度を減少させた。しかし、NS5株およびNS12株はHC群と比較してHDL-C値に明らかな影響を示さなかった。ただし、高コレステロール食を供給することにより誘導された血清LDL-C値がNS5株およびNS12株投与グループで減少した。HC + NS5グループでは、統計的有意差が認められ、その差はHC + NS12グループでは有意を持たなかった(図1B)。粥腫形成指数(TC/HDL-CおよびLDL-C/HDL-C比)を算出した(図1C)。粥腫形成指数は全4グループの中でHCグループが最も高く、対照群が最も低かった(TC/HDL-C: 3.57 ± 0.82 対 1.84 ± 0.08 、 $p < 0.05$ 、また LDL-C/HDL-C: 2.10 ± 0.76 対 0.30 ± 0.05 、 $p < 0.05$)。NS5株およびNS12株はHCグループと比較し、TC/HDL-CおよびLDL-C/HDL-C比を有意を持って低下させた。NS5株はNS12株よりも効果的に見えたが、両グループ間で粥腫形成指数低下に有意差は認められなかった。

また、血清中のアポリポタンパクA-I (ApoA-I) およびアポリポタンパクB (ApoB) も分析した。高コレステロール食は、有意を持って血清ApoA-I値を下げ、ApoB値は上昇させた(図2A)。NS12株は、HCグループ ($p < 0.05$) と比較して有意を持って血清ApoA-Iレベルを上昇させ、対照群 ($p > 0.05$) とは差がなかった。HC+NS5グループにおけるApoA-Iの上昇はHCグループと比べて統計的な有意はなかった($p > 0.05$)。しかしながら、また、対照群やHC+NS12グループとも有意差はなかった。NS5株およびNS12株はHCグループと比較してApoBレベルを低下させる傾向を示したが、統計的な有意性はなかった。それにもかかわらず、対照群との有意差もなかった。ApoB1/ApoA-I比を計算すると、HCグループのラットは、全4グループで最高のApoB/ApoA-I比を有していた。NS5株およびNS12株はHC群と比較して比率を減少させることができた(図2B)。血清遊離脂肪酸 (FFA) がまた、高コレステロール食を供給した後に大幅に増加した。飲料水にNS5株およびNS12株を加えると、対照群と有意差がない程度に血清FFAレベルを低下させることができる(図3)。

表3 ラットの臓器とWAT重量に及ぼすNS5とNS12の効果

重量 (g)	対照群 (n = 8)	HC (n = 8)	HC + NS5 (n = 8)	HC + NS12 (n = 8)
心臓	1.5 ± 0.2	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.2	1.4 ± 0.2
肝臓	14.4 ± 1.4^a	22.2 ± 3.1^b	18.7 ± 2.1^c	19.3 ± 3.7^{bc}

脾臓	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.3	0.8 ± 0.2
肺	2.3 ± 0.3	2.3 ± 0.3	2.3 ± 0.2	2.2 ± 0.4
腎臓	3.4 ± 0.7	3.2 ± 0.4	3.0 ± 0.3	3.3 ± 0.7
精巢上体脂肪	4.7 ± 1.3	6.2 ± 1.2	5.2 ± 1.2	4.9 ± 1.5
腎周囲脂肪	6.6 ± 1.6	8.2 ± 2.1	7.2 ± 2.4	6.5 ± 1.7
腸間膜脂肪	5.5 ± 1.1	6.5 ± 1.0	5.8 ± 0.9	5.5 ± 1.8

対照群；通常食、HC；高コレステロール食、HC + NS5；高コレステロール食 + プランタラムNS5乳酸菌、HC + NS12；高コレステロール食+デルブルック・サブスピーシス・ブルガリクスNS12乳酸菌

データは平均±標準偏差として示す。

a,b,c有意を持って($p < 0.05$)異なる上付き文字の列内での平均値

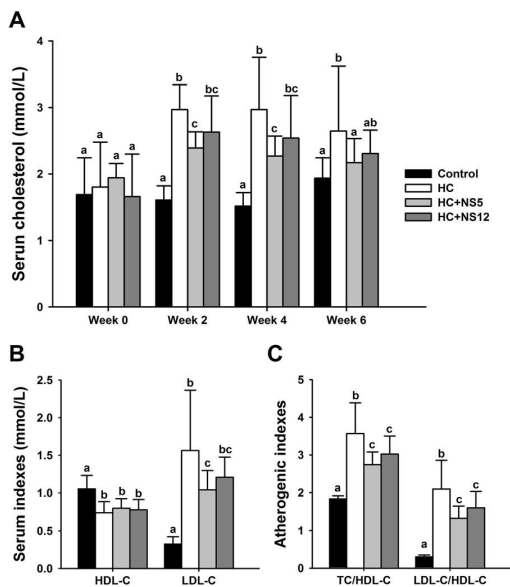


図1 高コレステロール食を与えたラットの血清コレステロールに対する2つのNS乳酸菌株の影響。

(A) 血清総コレステロール含有量 (B) 血清HDL-CおよびLDL-C (C) ラットの粥腫形成指数、TC/HDL-CおよびLDL-C/HDL-C比。データは平均±標準偏差として示す。対照群；通常食、HC；高コレステロール食、HC + NS5；高コレステロール食 + プランタラムNS5乳酸菌、HC + NS12；高コレステロール食+デルブルック・サブスピーシス・ブルガリクスNS12乳酸菌

a,b,c有意ある($p < 0.05$)異なる上付き文字のパネルでの平均値

NS5株およびNS12株は、高コレステロール食を与えたラットの肝臓TCレベルおよびTGレベルを低下させる

肝臓のTCレベルは4グループ間で有意差があった(図4A)。高コレステロール食飼育ラットの肝臓のTCレベルは対照群と比較して大幅に増加した。NS5株およびNS12株はHCグループと比較して有意を持って肝臓TCレベルを減らすことができた。；またNS12株はNS5株より効果的だった。

対照群が、最低の肝臓TGレベルを示し、HCグループが最高肝臓TGレベルを示した。HC+NS5およびHC+NS12グループの両方がHCグループより低レベルの肝臓TGを有し($p < 0.05$)、2つのNS乳酸菌グループ間に明らかな差は認められなかった(図4B)。

肝臓および脂肪細胞の組織病理

図5は、乳酸菌プラントラムNS5乳酸菌およびデルブリュッキ・スピーシーズ・ブルガリクスS12乳酸菌の肝脂肪に対する効果を示す。ヘマトキシリン・エオシン (HE) およびオイルレッドO染色は、4グループの肝組織構造の違いおよび脂質の蓄積を示した。対照群のラットの肝臓はよく組織された構造をしていた。肝洞様毛細血管がはっきりと見え、肝細胞索がきちんと配列され、中心静脈の周りに放射状に分布していた。肝臓の構造はHCグループにおける損傷の程度が大きいことを示し、肝細胞は壊死の徴候を示した。HC群と比較して明らかに肝脂肪は飲料水にNS5株およびNS12株を加えることで軽減された(図5A)。オイルレッドO染色により、大量に固まった脂質滴がHCグループの肝組織に蓄えられ、脂質滴がHC + NS5およびHC + NS12グループにおいて明らかに減少したことを示唆した(図 5B)。

HCグループのラットは、対照群と比較して脂肪細胞が大きくなったことを示した (図6A)。

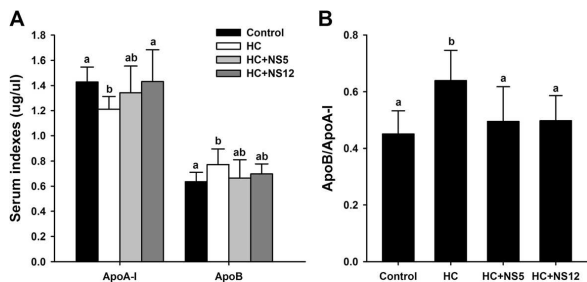


図2 高コレステロール食を与えたラットの血清アポリポタンパクに対する2つのNS乳酸菌株の影響。(A) 血清ApoA-I およびApoB; (B)血清ApoB/ApoA-I比。データは平均±標準偏差として示す。対照群; 通常食、HC; 高コレステロール食、HC + NS5; 高コレステロール食 +プラントラムNS5乳酸菌、 HC + NS12; 高コレステロール食+デルブルック・サブスピーシーズ・ブルガリクスNS12乳酸菌

^{a,b} 有意ある($p < 0.05$)異なる上付き文字のパネルでの平均値

部位当たりの脂肪細胞数の変化から判断してこのことが証明された。脂肪細胞数が多いほど、脂肪細胞の大きさは小さかった。脂肪細胞の大きさは、NS5株およびNS12株によって、一部回復した。

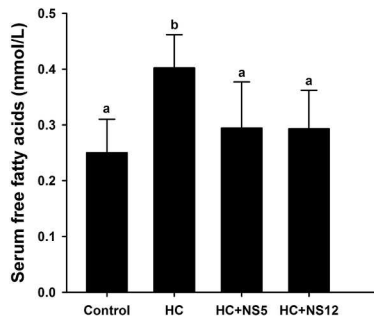


図3 高コレステロール食を与えたラットの血清遊離脂肪酸に対する2つのNS乳酸菌株の影響。

データは平均±標準偏差として示す。対照群；通常食、HC；高コレステロール食、HC + NS5；高コレステロール食 + プランタラムNS5乳酸菌、HC + NS12；高コレステロール食+デルブルック・サブスピーシス・ブルガリクスNS12乳酸菌

a,b. 有意ある($p < 0.05$)異なる上付き文字のパネルでの平均値

NS5株およびNS12株は高コレステロール食によって引き起こされた腸の細菌叢の変化を回復する

全4グループにおける、ラットの糞のファーミキューテスに、有意差は認められなかった(図7A)。高コレステロール食ラットの糞のバクテロイデスの割合は最低であったが、対照群と比較して統計的有意差はなかった。NS5株およびNS12株を食べた後、バクテロイデスの割合は、HCグループと比較すると、明らかに増加した(図7B)。高コレステロール食はクロストリジウムの増加となったが、NS乳酸菌株を採ると改善された(図7C)。HC + NS5およびHC + NS12グループにおけるクロストリジウムの割合は、対照群と差がなかった。

コレステロール代謝に関連する肝酵素のmRNA発現レベル

コレステロール代謝に関連する肝酵素のmRNA発現レベルを、図8に示す。HMG-CoA還元酵素 (HMG-CoA R) はメバロン酸に対するHMG-CoAの変換を触媒する肝臓コレステロールデノボ合成の律速酵素である。そのmRNA発現レベルは、対照群と比べ、HC、HC+NS5およびHC+NS12グループにおいてそれぞれ、50%、64%および55%低下した。HC + NS5グループにおけるHMG-CoAのR mRNAレベルが最も低かった。LDLRは、LDL-コレステロールのエンドサイトーシスを触媒する肝細胞表面の受容体である。そのmRNA発現レベルは、3つの高コレステロール食給餌グループ全てにおいて減少し、HC + NS12グループのレベルが3グループの中で最高であった。コレステロール7 α -ヒドロキシラーゼ (CYP7A1) は、コレステロールからの胆汁酸の合成酵素である。そのmRNA発現レベルはHC、HC + NS5およびHC + NS12グループにおいて、それぞれ対照群よりも2.44倍、3.72倍および4.65倍であった。また、HC + NS12グループで最高レベルであった。Acyl-CoA : コレステロールアシルトランスフェラーゼ (ACAT) はコレステロールのエステル化に関与する酵素であり、HC群におけるそのmRNA発現レベルは、対照群よりも有意を持って高かった。HCグルー

ブと比較して、NS5株およびNS12株はレベルを減少させたが、統計的有意性はなかった。しかしまた、対照群と比較して、差は認められなかった。全4グループにおけるレシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) mRNA発現に、有意差は認められなかつ

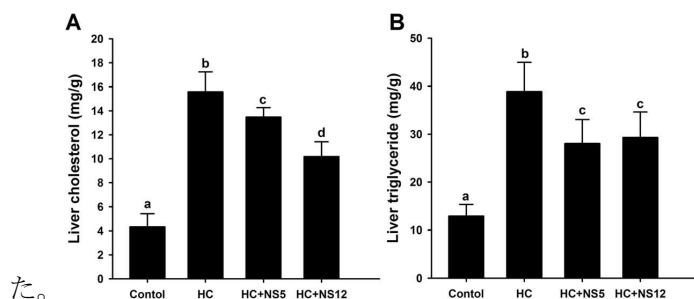


図4 高コレステロール食を与えたラットの肝臓コレステロールおよびトリグリセリドに対する2つのNS乳酸菌株の影響。

(A) 肝臓の総コレステロール、(B) 肝臓のトリグリセリド。データは平均±標準偏差として示す。対照群；通常食、HC；高コレステロール食、HC + NS5；高コレステロール食 + プランタラムNS5乳酸菌、HC + NS12；高コレステロール食 + デルブルック・サブスピーシス・ブルガリクスNS12乳酸菌

a,b,c,d 有意ある ($p < 0.05$) 異なる上付き文字のパネルでの平均値

考察

心血管疾患 (CVD) は、中国を含め世界の死亡率の最も大きな原因である。高コレステロール血症には、冠状動脈性心臓病が非常に多く伴う [29]。LDL-C は、血管中のコレステロールの蓄積を引き起こすが、HDL-C は、血流からコレステロールを除去することによって、動脈硬化などの CVD を防止することができる。TC / HDL-C および LDL-C / HDL-C 比は個々に用いられるパラメータとしてよりも、より重要な予測値のある CVD リスクに関する 2 つの重要な指標として認識されている [30]。比率が高くなれば、CVD リスクもより大きくなる。したがって、血清総コレステロール (TC) および LDL-C の減少、HDL-C の増加は CVD に対する重大な治療選択肢となる可能性がある。プロバイオティクスは、「腸内微生物のバランスを改善することによって宿主動物に有益な影響を及ぼす生きた微生物補助食品」と定義されている [31]。本研究では、中国の内モンゴルの草原から収集した自然発酵乳製品から分離された 2 つの NS 乳酸菌株、プランタラム NS5 乳酸菌およびラクトバチルス・スピーシーズ・ブルガリクス NS12 乳酸菌を用いた。6 週の終わりまでには、高コレステロール食を与えたラットと比較して、NS5 株が血清 TC と LDL-C レベル (各 18.11% および 33.33%) を有意を持って減少させることがわかった。同様の結果が、以前、他の乳酸菌プランタラム株で報告された [12,13]。NS12 株はまた TC および LDL-C レベルを減少させた (各 12.83% および 22.44% 減少) が、HC グループと比較して統計的有意差はなかった。しかし、NS5 株との有意差も認められなかった。どれも明らかに HDL-C 値には影響を与えなかった。一方、NS5 株および NS12 株の両株が TC / HDL-C (23.25% 対 15.41%) を有意を持って減少させ、

LDL-C/HDL-C比は(23.81%対37.14%)であり、NS5株はNS12株よりも効果的であるようだった。また、肝臓コレステロールレベルも調べた。全NS5株およびNS12株はHCグループと比較して、明らかに肝臓でのコレステロール値を減少させたが、血清TCの結果に反して、NS12株の肝臓コレステロール低下作用はNS5よりも有効であった(34.58% 対13.47%)。この結果により、おそらくNS5株はコレステロール吸収を低減し、血清コレステロールの除去により効果があり、NS12株は肝臓コレステロールの合成および蓄積を減少させるのにより効果的であることが示唆できよう。

ApoA-Iは、HDL内の主要なアポリポタンパク質であり、ApoBはLDL内のタンパク質含有量の大部分を占めている。apoB/apoA-I比もまた、CVDを予測する強力な危険因子である[32]。血清プロアテローム遺伝子および反アテローム遺伝子リポタンパク質のバランスを推定して、CVDのリスク予測するにはApoB/ApoAI比がTC/HDL-CおよびLDL-C/HDL-C比より優れていることさえ本研究は示唆した[33]。NS5株およびNS12株はApoB/ApoAI比の減少に有意ある効果を示した。

CVDにおける血清遊離脂肪酸(FFA)の、潜在的な役割への認識が高まっている[34]。本研究では、高コレステロール食を与えたラットで高い血清FFAレベルを発見し、NS5株およびNS12株は有意を持ってFFAレベルを減少させた。研究により、血清FFAの増加が内皮活性化、血管炎症、および血栓症のマーカーを引き起こし、血清FFAの増加が、早期の血管異常を開始し、次にCVDを促進することが分かった[35]。この結果で、NS5株およびNS12株がCVDの発症リスクを減らすことが示唆された。

一般的に、高コレステロール食は、体重を増加させると考えられる。本研究で、高コレステロール食は体重増加を誘導したが、統計的に有意ではなかった($p = 0.070$)。NS5株およびNS12株はHCグループと比較してわずかに体重を減少させたが、有意差はなかった。同じ結果が、WAT重量でも見られた。これは、使用した菌株の用量、方法、および処理時間の長さに関係しているのかもしれない。しかし、それでもなお我々はNS5株およびNS12株が体重を減らすための可能性を持っていると信じている。

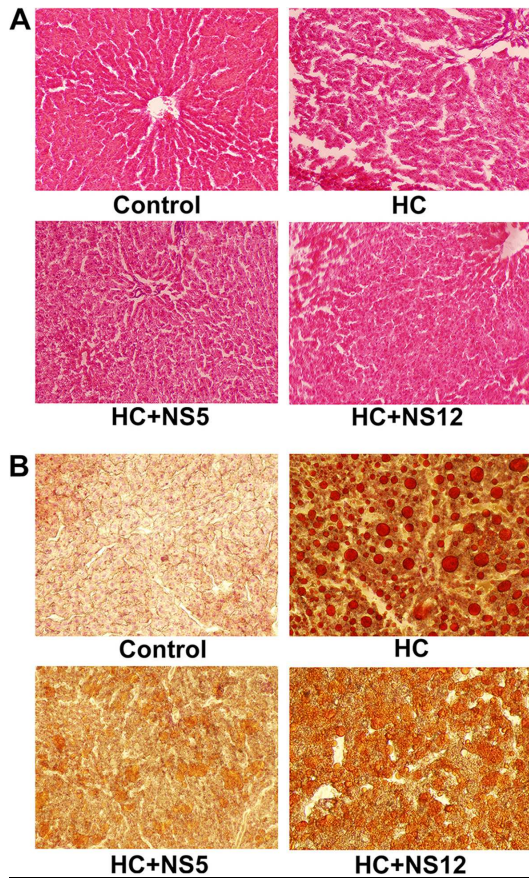


図 5 高コレステロール食を与えたラットの肝臓の組織構造に対する2つのNS乳酸菌株の影響。

(A) ヘマトキシリンおよびエオシン染色の顕微鏡写真(100×)、(B) オイルレッドO染色の顕微鏡写真(200×). 対照群; 通常食、HC; 高コレステロール食、HC + NS5; 高コレステロール食 + プランタラムNS5乳酸菌、HC + NS12; 高コレステロール食+デルブルック・サブスピーシス・ブルガリクスNS12乳酸菌

一方、高コレステロール食で明らかに肝臓重量が増加し、それがNS5株でより有意を持って減少したことがわかった。肝臓TGレベルも分析したが、NS5株およびNS12株がラット肝臓のTG蓄積を有意を持って削減した。これはまた、肝臓組織のオイルレッドO染色の観察により証明された。肝臓の組織病理は、高コレステロール食餌飼育ラットに肝臓組織の重傷があること、NS5株およびNS12株がその損傷を一部改善したことを示唆した。

腸内細菌叢は、ホストのエネルギーおよび脂質の代謝を調節する[6]。研究はまた高脂肪食摂取が腸の透過性増大に関係する腸内細菌叢の変化を誘導し、その結果、炎症および代謝性疾患を誘発すると示唆した[36]。レイらの報告によると、肥満マウスのバクテロイデスの相対存在量はより低く、ファーミキューテスは高かった[37]。

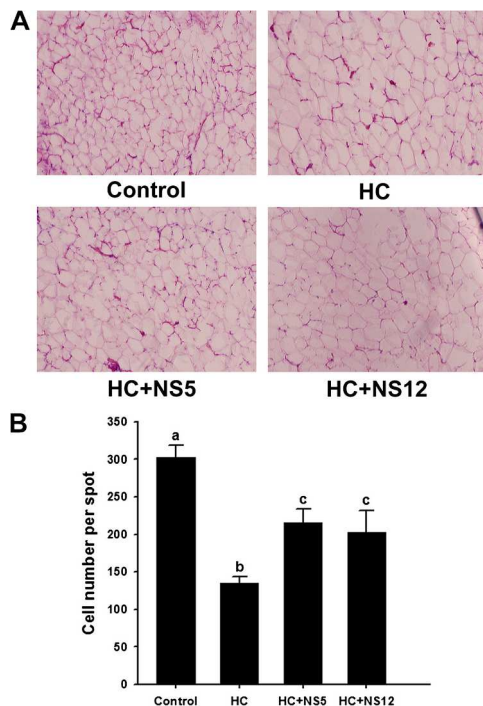


図 6 高コレステロール食を与えたラットの脂肪細胞の大きさに対する2つのNS乳酸菌株の影響。

(A)ヘマトキシリン・エオシン染色による脂肪細胞の顕微鏡写真(200x); (B) 各ラット3部位の脂肪細胞の数

データは平均±標準偏差として示す。^{a,b,c} 有意ある($p < 0.05$)異なる上付き文字のパネルでの平均値、対照群; 通常食、HC; 高コレステロール食、HC + NS5; 高コレステロール食 + プランタラムNS5乳酸菌、HC + NS12; 高コレステロール食+デルブルック・サブスピーシス・ブルガリクスNS12乳酸菌

また肥満に関連する腸内細菌叢は、食事からエネルギーを摂取する能力が大きい[38]。高コレステロール食でファーミキューテスの割合は変わらなかったが、バクテロイデスの割合は高コレステロール食投与ラットで最も低かった。NS5株およびNS12株は、バクテロイデスの割合を増加させた。HCグループで体重が増加したのは、おそらく食事からのエネルギー摂取が大きいバクテロイデスの割合が減少したためである。NS5株およびNS12株は、バクテロイデスの割合を上昇させ、ある程度体重の減少をもたらした。またクロストリジウムが高コレステロール食餌飼育ラットで有意を持って増加し、NS5株およびNS12株が変化を回復したのを知見した。この結果により高コレステロール食は腸内細菌叢の組成変化を誘導し、結果として代謝障害をもたらし、最終的に血清コレステロールの増加につながったことが示唆された。また、これによりNS5株およびNS12株の血清コレステロール低下効果は、2つのNS乳酸菌株による腸内細菌叢組成物の回復に起因するという可能性も示唆した。腸内細菌叢はまた、脂肪蓄積を調節する環境要因として作用する[39]。本研究で、WAT重量は高コレステロール食投与ラットで最高であり、NS5株およびNS12株がWAT重量を減少させた。これは高コレステロール食が腸内細菌叢の組成変化を誘発したことによるのかもしれない。

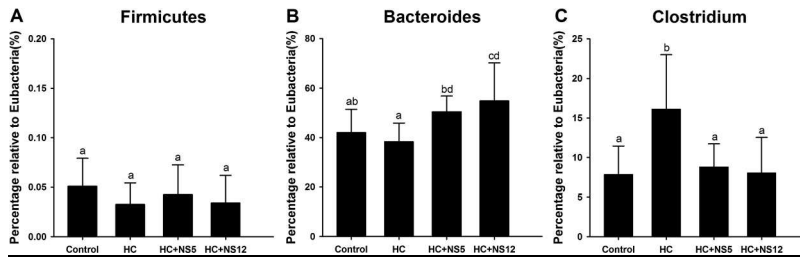


図 7 高コレステロール食を与えたラットの腸内細菌叢の組成に対する2つのNS乳酸菌株の影響。

(A) 真正細菌に対する相対的なファーミキューテス割合; (B) 真正細菌に対する相対的なバクテロイデスの割合; (C) 真正細菌に対する相対的なクロストリジウム割合。データは平均±標準偏差として示す。

対照群; 通常食, HC; 高コレステロール食, HC + NS5; 高コレステロール食 + プランタラムNS5乳酸菌, HC + NS12; 高コレステロール食 + デルブルック・サブスピーシス・ブルガリクスNS12乳酸菌

a,b,c,d 有意ある ($p < 0.05$) 異なる上付き文字のパネルでの平均値

一方で、NS5株およびNS12株は、高コレステロール食投与ラットの脂肪細胞の大きさを減少させた。したがって、NS5株およびNS12株は、ある程度脂肪細胞の大きさを減少させることでWAT重量増加を誘導し、高コレステロール食に有益な効果を及ぼす可能性がある。血清コレステロール値は、吸収、合成および排泄という3つの異なる経路によって調節される。LDLRは、LDL-Cのエンドサイトーシスを触媒する肝細胞表面上の受容体であり、LDLRのmRNA発現レベルは細胞コレステロール含有量と負の相関関係がある[40]。高コレステロール食はLDLRのmRNA発現レベルを有意を持って減少させ、その結果、血清LDL-Cレベルの増加に至った。NS5株はLDLR発現レベルを変化させず、NS12株はLDLRのmRNA発現レベルをわずかに増加させた。しかし、NS5株はNS12株よりもLDL-C値を減らすことに、より効果的に見える。おそらく他のメカニズムがこのプロセスに関与したのであろう。

HMG-CoA還元酵素は肝臓コレステロールデノボ合成の律速酵素であり、HMG-CoAのメバロン酸への変換を触媒する[41]。肝臓HMG-CoA還元酵素の発現はコレステロール合成の速度と相関しており、食事内コレステロール源の存在量がHMG-CoA還元酵素活性を阻害するようだ[42]。HMG-CoA還元酵素のmRNA発現レベルは通常食のラットと比較して高コレステロール食ラットで減少し、NS5株およびNS12株の阻害効果は、特にNS5株に、より明白であった。したがって、HMG-CoA還元酵素の発現レベルを阻害することで、NS乳酸菌株による血清コレステロールレベルの減少は、ある程度生じている可能性がある。

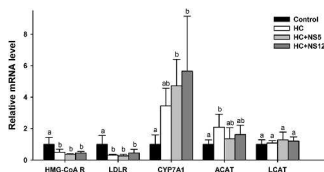


図 8 高コレステロール食を与えたラットのコレステロール代謝に関連する肝酵素のmRNA発現レベルに対する2つのNS乳酸菌株の影響。

グラフは、GAPDHの相対的mRNAレベルを示す。データは平均±標準偏差として示す。

対照群；通常食、HC；高コレステロール食、HC + NS5；高コレステロール食 + プランタラムNS5乳酸菌、HC + NS12；高コレステロール食+デルブルック・サブスピーシス・ブルガリクスNS12乳酸菌

^{a,b} 有意ある($p < 0.05$)異なる上付き文字のパネルでの平均値

Spadyらの報告によれば、CYP7A1遺伝子の発現を通して高脂肪食を与えたハムスターにおける血清TCとLDLC値が効率的に減少した[43]。本研究で、肝臓のCYP7A1 mRNAレベルは、高コレステロール食を単独で与えたラットより、飲料水にNS5株およびNS12株を補充することで、より高くアップレギュレートされた。これは、NS5株およびNS12株により血清TCおよびLDL-Cを減らせるというメカニズムかもしれない。ACATは、細胞質脂肪滴に格納できるコレステロールエステルを形成するため、コレステロール脂肪アシルの3-OH基を触媒する酵素である[44]。NS5株およびNS12株はACAT mRNA発現を有意を持って抑制し、コレステロールエステルという形で体内に格納されたコレステロールを減少させた。

まとめ

2つのNS乳酸菌株、プランタラムNS5乳酸菌およびデルブリュッキ・サブスピーシーズ・ブルガリクスNS12乳酸菌は、高コレステロール食を与えた雄のSDラットの血清コレステロール減少に有意ある効果を及ぼした。我々は、腸内細菌叢の組成物およびコレステロール代謝に関連する肝酵素のmRNA発現レベルという観点から可能なメカニズムを検討したが、更なる研究が正確なメカニズムを解明するために必要である。NS乳酸菌株は、血清コレステロールを下げるための、より効果的であり安全な代替療法となる可能性がある。

略語

CVD: 心血管疾患; LAB: 乳酸菌; WAT: 白色脂肪組織; HC: 高コレステロール; TC: 総コレステロール; TG: トリグリセリド; HDL-C: 高密度リポタンパクコレステロール; LDL-C: 低密度リポタンパクコレステロール; ApoA-I: アポリポタンパク質A-I; ApoB: アポリポタンパク質B; FFA: 遊離脂肪酸; GAPDH: グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ; HMG-CoA R: 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリルCoA還元酵素; LDLR: 低密度リポ蛋白質受容器; CYP7A1: コレステロール-7 α -モノオキシゲナーゼ; ACAT: 脂肪酸アシルコエンザイムエー: コレステロールアシルトランスフェラーゼ; LCAT: レシチンコレステロールアシル転移酵素

利益相反

著者は利害関係を持たないことを宣言します。

研究者の分担・責任

HX, WTおよびLW；実験、データ収集、統計分析、原稿を担当。JFおよびWL設計、調査、原稿を担当。

HXおよびWTは同様の貢献度で最初からの共著者と見なされる。JFおよびWLは共同著者と見なされる。全著者が最終稿を読み、承認した。

謝辞

本研究はNS バイオジャパン NS 健康バイオ テクノロジー北京からの助成金を受けております。

著者の詳細

1中国北京、中国科学院、心理学研究所、精神衛生主要研究所

2中国北京、中国科学院大学

3中国浙江省杭州師範大学医学部

受領: 2013年4月2日

承認: 2013年5月7日

公開: 2013年5月9日

参照

1. WHO: 心血管疾患(CVD)。スイス、ジュネーブ: ファクトシートN° 317; 2011。
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>にて利用可能。(2012年9月22日アクセス)。
2. Manson JE, Tosteson H, Ridker PM, Satterfield S, Hebert P, O'Connor GT, Buring JE, Hennekens CH: 心筋梗塞の一次予防。 N Engl J Med 1992, 326(21):1406–1416.
3. Taylor F, Ward K, Moore TH, Burke M, Davey Smith G, Casas JP, Ebrahim S: 心血管系疾患一次予防用スタチン製剤。 Cochrane Database Syst Rev 2011, 1:CD004816.
4. Young VB: 健康時と病気時における腸内細菌叢。 Curr Opin Gastroenterol 2012, 28(1):63–69.
5. Stepankova R, Tonar Z, Bartova J, Nedorost L, Rossman P, Poledne R, Schwarzer M, Tlaskalova-Hogenova H: 細菌叢（無菌状態）の欠如が標準的な低コレステロール食を与えたApoE不足マウスの動脈硬化を加速する。 J Atheroscler Thromb 2010, 17(8):796–804.
6. Velagapudi VR, Hezaveh R, Reigstad CS, Gopalacharyulu P, Yetukuri L, Islam S, Felin J, Perkins R, Borén J, Oresic M, Bäckhed F: 腸内細菌叢がマウスの宿主・エネルギーおよび脂質代謝を調整する。 J Lipid Res 2010, 51(5):1101–1112.
7. Mann GV, Spoerry A: マサイ族の界面活性剤とコレステロール血症の研究。 Am J Clin Nutr 1974, 27(5):464–469.
8. Gilliland SE, Nelson CR, Maxwell C: 乳酸菌によるコレステロールの同化。 Appl Environ Microbiol 1985, 49(2):377–381.
9. Fukushima M, Nakano M: 脂肪およびコレステロール増加食を与えたラットのコレステロール代謝への生物、乳酸菌または連鎖球菌フェカリス混合物の影響。 Br J Nutr 1996, 76(6):857–867.
10. Akalin AS, Gönç S, Düzal S: ヨーグルトおよび乳酸菌ヨーグルトがマウスの血清コレステロールレベルに与える影響。 J Dairy Sci 1997, 80(11):2721–2725.
11. Nguyen TD, Kang JH, Lee MS: 潜在的にコレステロール低下作用を持つプラントラムPH04乳酸菌、プ

- ロバイオティクス細菌の特性。 *Int J Food Microbiol* 2007, 113(3):358–361.
12. Jeun J, Kim S, Cho SY, Jun HJ, Park HJ, Seo JG, Chung MJ, Lee SJ: C57BL/6マウスの増加した胆汁酸排泄によるプラントラムKCTC3928乳酸菌のコレステロール低下効果。 *Nutrition* 2010, 26(3):321–330.
13. Gauffin Cano P, Santacruz A, Moya Á, Sanz Y: バクテロイデス - ユニフォルミスCECT 7771は、高脂肪食により誘発された肥満マウスにおける代謝と免疫不全を改善する。 *PLoS One* 2012, 7(7):e41079.
14. Agerbaek M, Gerdes LU, Richelsen B: 新たな発酵乳製品の中年男性へのコレステロール低下効果。 *Eur J Clin Nutr* 1995, 49(5):346–352.
15. Richelsen B, Kristensen K, Pedersen SB: 新たな発酵乳製品が血漿リポタンパクのレベルに及ぼす長期 (6 ヶ月) 的效果—偽薬制御二重盲検研究。 *Eur J Clin Nutr* 1996, 50(12):811–815.
16. Anderson JW, Gilliland SE: 高コレステロール血症のヒトの血清コレステロールに対するアシドフィルスL1乳酸菌を含む発酵乳 (ヨーグルト) の効果。 *J Am Coll Nutr* 1999, 18(1):43–50.
17. Schaafsma G, Meuling WJ, Van Dokkum W, Bouley C: 男性ボランティアの血中脂質に対するフラクトオリゴ糖添加アシドフィルス乳酸菌によって発酵した乳製品の効果。 *Eur J Clin Nutr* 1998, 52(6):436–440.
18. Xiao JZ, Kondo S, Takahashi N, Miyaji K, Oshida K, Hiramatsu A, Iwatsuki K, Kokubo S, Hosono A: ラットおよび健康な成人男性ボランティアの血中脂質に対するビフィズス菌で発酵した乳製品の効果。 *J Dairy Sci* 2003, 86(7):2452–2461.
19. Simons LA, Amansec SG, Conway P: 血清コレステロール患者の血清脂質に及ぼす乳酸菌酵母の効果。 *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006, 16(6):531–535.
20. Hatakka K, Mutanen M, Holma R, Saxelin M, Korpela R: プロピオニバクテリウム - フロイデンライヒSSPシャーマニイJSと一緒にカプセル投与したラムノサスLC705乳酸菌は、血清脂質を低下させるのには効果がない。 *J Am Coll Nutr* 2008, 27(4):441–447.
21. Pereira DI, Gibson GR: 人間の腸内から分離された乳酸菌およびビフィズス菌によるコレステロールの同化。 *Appl Environ Microbiol* 2002, 68(9):4689–4693.
22. Liong MT, Shah NP: 乳酸菌株の酸および胆汁耐性とコレステロール除去能力。 *J Dairy Sci* 2005, 88(1):55–66.
23. Lye HS, Rahmat-Ali GR, Liong MT: 人間の消化管を模倣した条件下の乳酸菌によるコレステロール除去のメカニズム。 *Int Dairy J* 2010, 20(3):169–175.
24. Lye HS, Rusul G, Liong MT: コプロスタノールとの結合および転換を経由した乳酸菌によるコレステロール除去。 *J Dairy Sci* 2010, 93(4):1383–1392.
25. Begley M, Hill C, Gahan CG: プロバイオティクスの胆汁酸塩加水分解酵素活動。 *Appl Environ Microbiol* 2006, 72(3):1729–1738.
26. Ooi LG, Liong MT: プロバイオティクスとプレバイオティクスのコレステロール低下効果：生体内および生体外の調査結果のレビュー。 *Int J Mol Sci* 2010, 11(6):2499–2522.
27. Law MR, Wald NJ, Wu T, Hackshaw A, Bailey A: 観察研究で血清コレステロール濃度および虚血性心疾患の関連の体系的過小評価：BUPA研究からのデータ。 *BMJ* 1994, 308(6925):363–366.

28. Kneifel W, Salminen S: プロバイオティクスと健康促進効能表示。New York: John Wiley & Sons, Ltd; 2011.
29. Ross R: アテローム性動脈硬化症の病因: 1990年代への展望。Nature 1993, 362(6423):801–809.
30. Millán J, Pintó X, Muñoz A, Zúñiga M, Rubiés-Prat J, Pallardo LF, Masana L, Mangas A, Hernández-Mijares A, González-Santos P, Ascaso JF, Pedro-Botet J: リポタンパク質比率: 心血管予防における生理学的重要性および臨床有用性。Vasc Health Risk Manag 2009, 5:757–765.
31. FAO, WHO: 健康と生きた乳酸菌入り粉ミルクを含む食物のプロバイオティクスの栄養的特性。アルゼンチン、コルドバ: 健康と生きた乳酸菌入り粉ミルクを含む食物のプロバイオティクスの栄養的特性の評価に関するFAO/WHO共同専門家会議の報告。; 2001.
http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf.
32. Walldius G, Junger I: apoB/apoA-I比: 心血管疾患の強力で新たな危険因子および脂質低下療法の目標-証拠のレビュー。J Intern Med 2006, 259(5):493–519.
33. Walldius G, Junger I, Aastveit A, Holme I, Furberg CD, Sniderman AD: 血漿アテローム形成および抗動脈硬化リポタンパク質のバランスを推定し、冠動脈リスクを予測するためにはapoB/apoA-I比率がコレステロール比率より優れている。Clin Chem Lab Med 2004, 42(12):1355–1363.
34. Semenkovich CF: 脂肪酸代謝および血管疾患。Trends Cardiovas Med 2004, 14(2):72–76.
35. Mathew M, Tay E, Cusi K: 増加した血漿遊離脂肪酸は、健常者における内皮活性化、ミエロペルオキシダーゼおよびPAI-1の血漿バイオマーカーを誘導することにより心血管リスクを増加させる。Cardiovasc Diabetol 2010, 9:9.
36. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R: 高脂肪食誘発肥満および糖尿病マウスの腸管細菌叢コントロール代謝エンドトキシン血症誘発性炎症の変化。Diabetes 2008, 57(6):1470–1481.
37. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI: 肥満は腸内微生物の生態を変化させる。PNAS 2005, 102(31):11070–11075.
38. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI: エネルギー吸収能力が増加した肥満関連腸マイクロバイオーム。Nature 2006, 444(7122):1027–1031.
39. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI: 脂肪の蓄積を調節する、環境因子としての腸内細菌。PNAS 2004, 101(44):15718–15723.
40. Brown MS, Goldstein JL: コレステロールホメオスタシスのための受容体を介した経路。Science 1986, 232(4746):34–47.
41. Goldstein JL, Brown MS: メバロン酸経路の調節。Nature 1990, 343(6257):425–428.
42. Shefer S, Hauser S, Lapar V, Mosbach EH: ラットの腸粘膜と肝臓のHMG-CoA還元酵素。J Lipid Res 1972, 13(3):402–412.
43. Spady DK, Cuthbert JA, Willard MN, Meidell RS: ハムスターへの遺伝子符号化コレステロール7 α -ヒドロキシラーゼのアデノウイルス媒介性転写は、肝酵素活性を増大させ、総血漿数および低密度リポタンパク (LDL) コレステロール値を低下させる。J Clin Invest 1995, 96(2):700–709.

44. Llaverias G, Laguna JC, Alegret M: ACAT阻害アバシミブの薬理(CI-1011). Cardiovasc Drug Rev 2003, 21(1):33–50.

doi:10.1186/1476-511X-12-67

本記事は以下のように引用されたし: Hu et al.: 高コレステロール食を与えたラットの脂質代謝に対するNS乳酸菌株の効果。: Lipids in Health and Disease 2013 12:67.

BioMed Centralへの原稿提出は非常に便利になっています。

- 便利なオンライン提出
- 完全なピア・レビュー
- スペースの制約もカラー図料金もない
- 受理後、即時掲載
- PubMed、CAS、ScopusおよびGoogle Scholarに掲載
- 研究用再配布は自由に利用可能

以下のサイトに提出してください。

www.biomedcentral.com/submit

Hu et al. Lipids in Health and Disease 2013, 12:67 Page 12 of 12 <http://www.lipidworld.com/content/12/1/67>

BioMed Central