

No.	22-1081	
研究課題名	次世代型プレバイオティクス・マンノシル- $\beta$ 1,4-グルコースによるクロストリディオイデス・ディフィシル腸炎に対する革新的治療法の開発	
研究代表者	栗原 新（近畿大学・准教授）	
研究組織	受入教員	吉見 一人（東京大学医科学研究所・講師）
	分担者	中井博之（新潟大学農学部・准教授）
	分担者	吉見一人（先進動物ゲノム研究分野研究室・講師）
	分担者	工藤理央奈（近畿大学生物理工学部・学部4年生）
	分担者	山内祐子（先進動物ゲノム研究分野研究室・技術補佐員）

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業  
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

## 共同研究報告（年次終了）

## 背景

本研究グループでは「もう一つの臓器」と呼ばれる腸内常在菌叢における細菌の組成を精密かつ自由自在に制御するために、特定の腸内細菌（善玉菌）を選択的に（「狙い撃ち」で）増殖促進する「次世代型プレバイオティクス」を新奇オリゴ糖からスクリーニングしてきた。この中で、代表的な善玉菌である乳酸菌である*Lactobacillus paragasseri*を選択的に増殖させることが可能なマンノシル-β1,4-グルコース（ManGlc）のスクリーニングに成功し、ヒト糞便培養等を用いて*in vitro*でManGlcと*L. paragasseri*により偽膜性腸炎原因細菌である*Clostridioi des difficile*の生育を抑制できることを示した。

本研究では、ManGlcと*L. paragasseri*の同時経口投与による偽膜性腸炎の治療法の開発を最終目標として、偽膜性腸炎モデルマウスを用いて ManGlcと*L. paragasseri*による治療効果を解析することを目的とする。2022年度は、動物実験に向けたManGlcの量産体制の構築および*L. paragasseri*定着モデルマウスの作成に成功し、ManGlc投与による偽膜性腸炎の治療法開発への研究の準備が整った。以下にその詳細を示す。

## ManGlcの大量生産法の開発

偽膜性腸炎モデルマウスへの経口投与に十分なManGlc量を確保するため、酵素合成法および素材A分解法の2つの手法を確立した。

（1）酵素合成法；ManGlcの酵素Aによる糖質合成反応（酵素Aにより単糖Xを修飾し、得られた単糖Yを用いる手法）にてManGlcを大量生産する手法を確立した。

（2）素材A分解法；市販の素材Aに酵素Bを作用させ、生じた単糖類はZ処理することで除去し、ManGlcおよびオリゴ糖Bの混合物を大量調製する手法を確立した。

*Lactobacillus paragasseri*定着モデルマウスの作成

本研究の最終目標はManGlcと*L. paragasseri*の同時経口投与による偽膜性腸炎の治療法の開発であるために、*L. paragasseri*の生菌を凍結保存菌体で経口摂取できることが望ましい。そこで、*L. paragasseri*の凍結乾燥方法を検討した結果、 $6.54 \times 10^9$  cfu/mgの凍結乾燥菌体を得ることができた。

2022年10月12日（水）～2022年10月20日（木）に近畿大学生物理工学部の平野里佳（日本学術振興会特別研究員PD）および工藤理央奈（学部3年生）が東京大学医科学研究所を訪問し、先進動物ゲノム研究分野研究室の吉見一人講師および山内祐子技術補佐員の指導を受け、動物センター内の感染実験動物室にて動物実験を行った。この結果、抗生物質の事前経口投与により腸内細菌量を減少させたマウスに対し、 $10^6$  cfuの*L. paragasseri*凍結乾燥菌体を投与することで、糞便中に約 $10^9$  cfu/g糞便の生菌濃度で*L. paragasseri*が定着した*L. paragasseri*定着モデルマウスの作成に成功した。また、昨年度までの研究では*C. difficile*の芽胞を用いて偽膜性腸炎モデルマウスを作成していたが、下痢の発症や体重減少が起こるまでに7日を要するという問題があったため、今年度は*C. difficile*生菌を用いて実験を行った。この結果、下痢の発症や体重減少が起こるまでの日数は4日となり、芽胞を用いた場合と比較して約3日短縮された。