

No.	25-1176	
Project Title	特定の善玉細菌のみを増殖促進する次世代型プレバイオティクスを用いた菌叢改善法および疾病治療法の開発	
Principal Investigator	Shin Kurihara (Kindai University・Associate professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Kazuto Yoshimi (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Associate professor)
	Project Member (s)	栗原新 (近畿大学生物理工学部・准教授)
	Project Member (s)	吉見一人 (先進動物ゲノム研究分野研究室・准教授)
	Project Member (s)	中井博之 (新潟大学農学部・准教授)
	Project Member (s)	山内祐子 (先進動物ゲノム研究分野研究室・技術補佐員)
	Project Member (s)	平野里佳 (先進動物ゲノム研究分野研究室・日本学術振興会特別研究員 (PD))
	Project Member (s)	藤田剛士 (近畿大学生物理工学部・修士2年生)
	Project Member (s)	中本早弥香 (近畿大学生物理工学部・学部4年生)

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）

人の腸管内には、健康増進効果を持つ「善玉菌」、疾患の原因となる「悪玉菌」、急性疾患の原因にはならず健康増進効果も特定されていない「日和見菌」が存在する。近年の腸内細菌学の進展は、ヒト腸内に優勢に存在する細菌種の大部分が日和見菌であることを証明すると同時に、これらの日和見菌の中に長期にわたってヒト健康に影響を及ぼすものの存在を示唆している。

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「次世代型プロバイオティクス」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細菌Yを選択的に増殖させることが可能なマンノシル- β 1,4-グルコース (ManGlc) の *in vitro* スクリーニングに成功した。このManGlcを含む培地で、細菌Yと偽膜性腸炎の主要な原因菌である *Clostridioides difficile* とを純粋共培養すると、*C. difficile* を単菌で培養した場合と比較して *C. difficile* の生菌数が約0.008%に抑制された。さらに、ManGlcを含む培地で、ヒト糞便由来細菌・*C. difficile*・細菌Yを共培養すると (*in vitro* 糞便培養)、ManGlcを含まない培地で糞便培養した場合と比較して、*C. difficile* のDNA量が約45% ($p < 0.01$, $n = 8$)、*C. difficile* 毒素量が約29% ($p < 0.01$, $n = 10$) にそれぞれ抑制された。

ご支援を受けて進行中の本研究では、ManGlcとプロバイオティクス細菌Y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とプロバイオティクス細菌Yによる治療効果を解析することを目的とする。2022年度は、これまでにプロバイオティクス細菌Yを特異的に検出するプライマーの構築に成功し、ManGlcとプロバイオティクス細菌Yの偽膜性腸炎モデルマウスへの同時投与に伴う、成長曲線、生存曲線、マウス糞便中のプロバイオティクス細菌YのDNA量、*C. difficile* のDNA量、*C. difficile* の生菌数について解析を行なった。2022年度の実験では、非投与群において *C. difficile* が検出されるという問題点があったが、2023年度は *C. difficile* 投与群と非投与群のアイソレーターを独立させることで、この問題を解決した。2024年度はManGlc投与量を2023年度の0.5 g/kg bw/dayから0.25 g/kg bw/dayに減少させ、*C. difficile*、細菌Y、ManGlcの同時投与群 (A群, $n = 14$)、*C. difficile*、細菌Yの同時投与群 (B群, $n = 14$)、*C. difficile* のみ投与群 (C群, $n = 13$) で実験を行った。この結果、投与10日目ではA群ではC群と比較して体重が統計学的に有意に増加した ($p < 0.05$)。

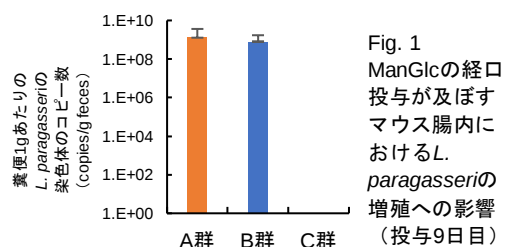


Fig. 1
ManGlcの経口投与が及ぼすマウス腸内における *L. paragasseri* の増殖への影響 (投与9日目)

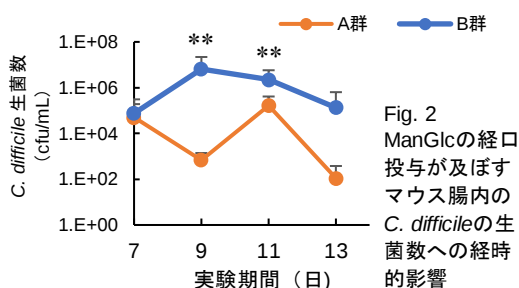


Fig. 2
ManGlcの経口投与が及ぼすマウス腸内の *C. difficile* の生菌数への経時的影響

2025年度の実験では、2024年度マウス実験におけるマウス糞便中の *L. paragasseri* の菌数をqPCRで解析した。この結果、投与9日目の糞便では *C. difficile*、細菌Y、ManGlcの同時投与群 (A群, $n = 14$)、*C. difficile*、細菌Yの同時投与群 (B群, $n = 14$) の間に *L. paragasseri* の菌数における有意差は存在しなかった (Fig. 1)。これとは対照的に、*C. difficile* の生菌数は、投与期間全体でA群<B群であり、特に投与9日目および11日目では統計学的に有意に減少し (Fig. 2; $p < 0.01$)、特に投与9日目では1000分の1以上に減少した。

これらの結果は、細菌Yがマウス腸内でManGlcを排他的に利用した際に、*C. difficile* の増殖を抑制する何らかの分子を発現している可能性を示唆していた。