

ヒト腸内由来放線菌の生育とその代謝物について ～食品パウダーの効果～

徳島県立城南高等学校

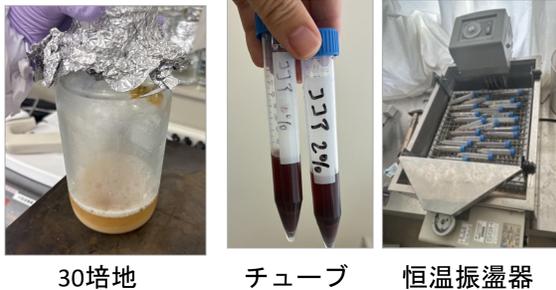
研究動機

近年、抗生物質耐性菌の増加により、新たな抗生物質源の探索が重要となっている。そこで、本研究では、今回ご協力いただいている坂口義彦先生が発見したヒト腸内由来放線菌（以下放線菌）に注目する。腸内で摂取物を栄養源として生育するこの菌に対し、さまざまな農産物パウダーを与えた際の生育状況を調べ、産生される代謝物とその機能を明らかにすることを目的とする。

研究方法

研究1：食品パウダー添加による生育比較

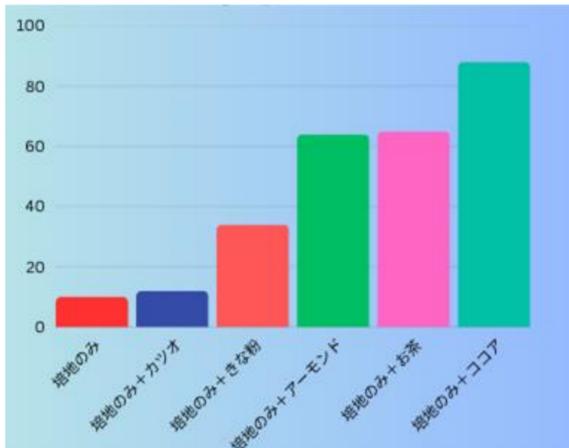
ココア、カツオ、きな粉、アーモンド、お茶の5種類のパウダーを、それぞれ30培地に2%と0.2%の割合で加えてオートクレーブ処理を行った。処理後、培地をチューブに移し替え、各チューブに放線菌を接種した。その後、これらのチューブを恒温振盪器で3週間培養した。



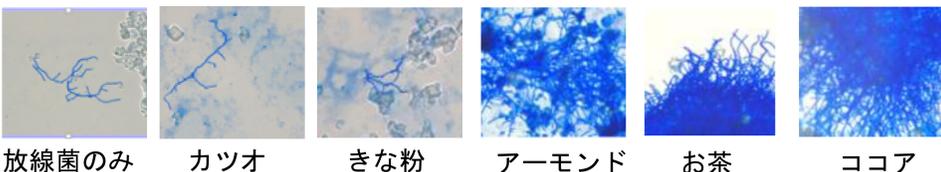
30培地 チューブ 恒温振盪器

結果1：ImageJを用いて行った面積測定の結果より

放線菌のみ→10
カツオ →12
きな粉 →34
アーモンド→64
お茶 →65
ココア →88
(mm)



食品パウダーを加えると培地のみと比較して、より増殖する

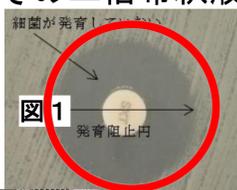


研究1の考察

- ・重篤で再発率の高い下痢・腸炎を発症するC. difficileの過剰増殖（CDI）治療後の患者腸内では多様な放線菌が増加することが報告されている。ココア摂取が腸内の放線菌増殖を促し、腸内環境を改善し得る可能性がある。
- ・ココアと緑茶は細菌を殺す作用を持つカテキンを含むため、放線菌はココアとお茶に含まれるカテキンを代謝し抗菌活性を低下させた可能性がある。

研究2：代謝産物の抗菌活性評価

培養菌とエタノール各1000 μlを混合して遠心し、上清を再度遠心して得た代謝物をPBSで希釈し、その二倍希釈液をディスクに染み込ませ乾燥させる。5種の菌を寒天培地に塗布し、ディスクを置いて37℃で1日培養後、阻止円を観察して抗菌活性を評価する。



研究2の結果と考察

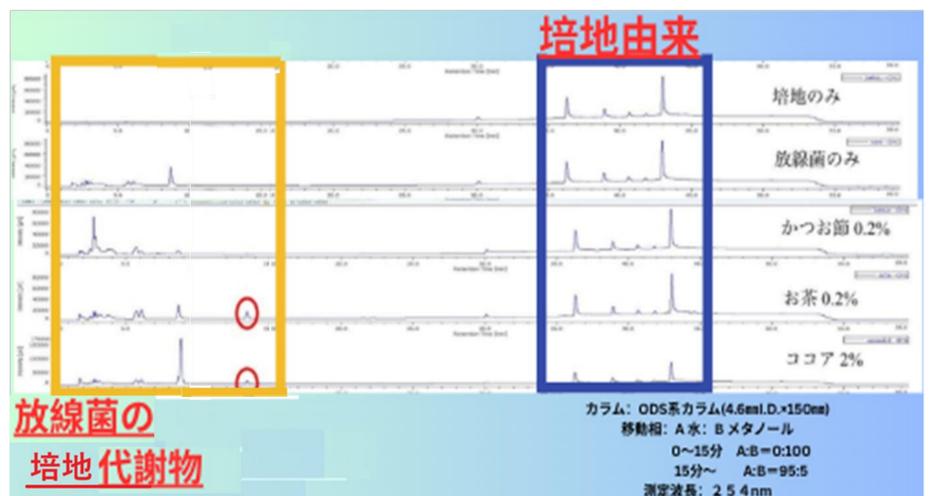
いずれの試料でも阻止円は形成されず、明確な抗菌活性は認められなかった。

ヒト由来放線菌は抗生物質をほとんど産生せず、産生したとしても微量であると考えられる。しかし、培地に他の農産物パウダーを加え培養すると、抗生物質を生産する可能性も考えられる。



大腸菌 クレブシエラ属細菌 セラチア属細菌 黄色ブドウ球菌 プロテウス属細菌

研究3：放線菌代謝産物の分析による結果



研究3の考察

お茶とココアに他の物質を加えた場合と異なるピークが検出された。これは、実験1からカテキンもしくは、放線菌がカテキンを代謝した代謝産物である可能性が考えられる。

実験条件の変更

5種のパウダーからに加え、新たな6種のパウダー（きくいも、しいたけ、すだち、ゆこう、なると金時、レンコン）で同じ実験をしている。3週間培養し、上澄みをHPLCにより分析した結果、現在、レンコン・なると金時・ゆこう・きくいも・しいたけにおいて、培地あるいは培地の代謝物以外のピークが見られており、食品パウダーを代謝し、代謝物を生成している可能性が示唆されている。

今後の展望

- ・現在使用している放線菌とは異なる種類の放線菌を使用し、様々な農産物パウダーを加え培養し、その放線菌が作り出す物質に抗菌作用があるかを調べる。さらに、抗菌活性が見られた場合、NMR解析、IR解析を用いて成分分析を行い、新規抗生物質の可能性を探る。
- ・現在、れんこんの食品パウダーを加え培養した上澄みについて、HPLC解析した結果、培地もしくは培地代謝物以外のピークが見られている。これらの培養培地に対し、NMR解析、IR解析を用いて成分分析を行い、代謝物の成分分析を行い、体に良い成分や抗菌効果の可能性のある成分ができていないか調べる。

参考文献 坂口 義彦, 「糞便微生物移植治療から見出した腸内放線菌の役割 - 高齢者における難治性疾患の治療および予防に向けて」 アサヒグループ財団研究紀要, 2022,

謝辞 徳島文理大学薬学部微生物学研究室
坂口義彦先生、松本可奈子先生