

# 好熱菌 *Bacillus hisashii* を経口給与した犬の糞中の代謝物の網羅的解析

枅岡久志<sup>1</sup>・○井藤俊行<sup>2,6</sup>・宮本浩邦<sup>2,3,4</sup>・中西裕美子<sup>3</sup>・須田瓦<sup>3,5</sup>・宇田川元章<sup>6</sup>・松浦真紀子<sup>4</sup>・服部正平<sup>3,5,7</sup>・大野博司<sup>3</sup>・児玉浩明<sup>2</sup>

<sup>1</sup>株式会社スマック、<sup>2</sup>千葉大学大学院 園芸学研究科、<sup>3</sup>理化学研究所 統合生命医科学研究所、<sup>4</sup>株式会社サーマス、<sup>5</sup>東京大学大学院 新領域創成科学研究科、<sup>6</sup>京葉プラントエンジニアリング株式会社、<sup>7</sup>早稲田大学理工学術院 先進理工学研究科

# 目次

## 1. 背景

- ・昨年度の発表概要

## 2. 目的

## 3. 実験方法

## 4. 結果

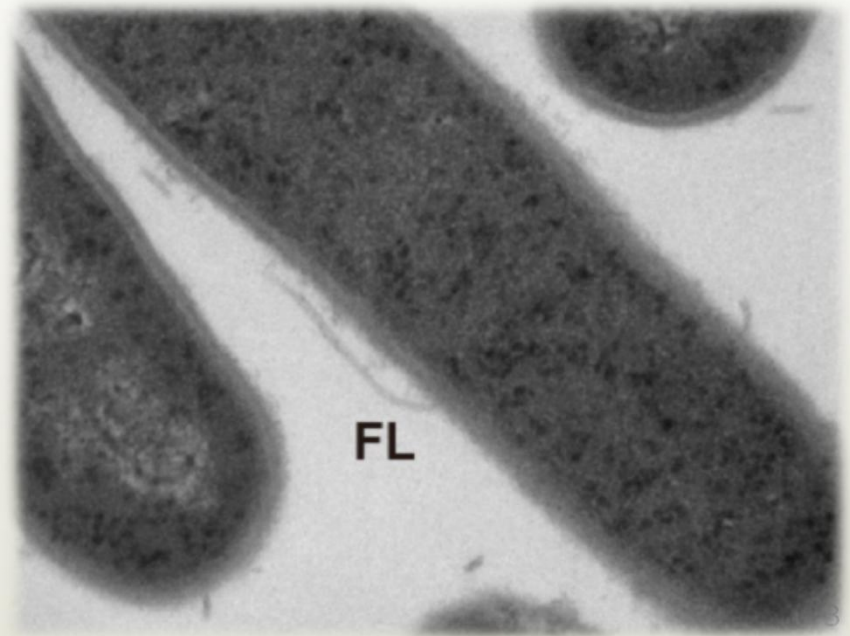
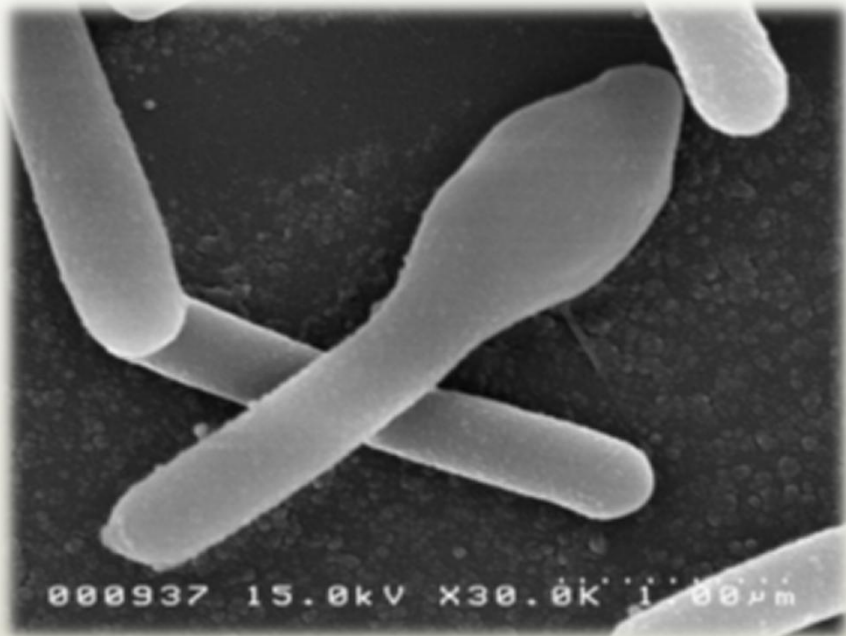
- ・体重
- ・内臓脂肪
- ・メタボローム解析

## 5. まとめ

# ○背景

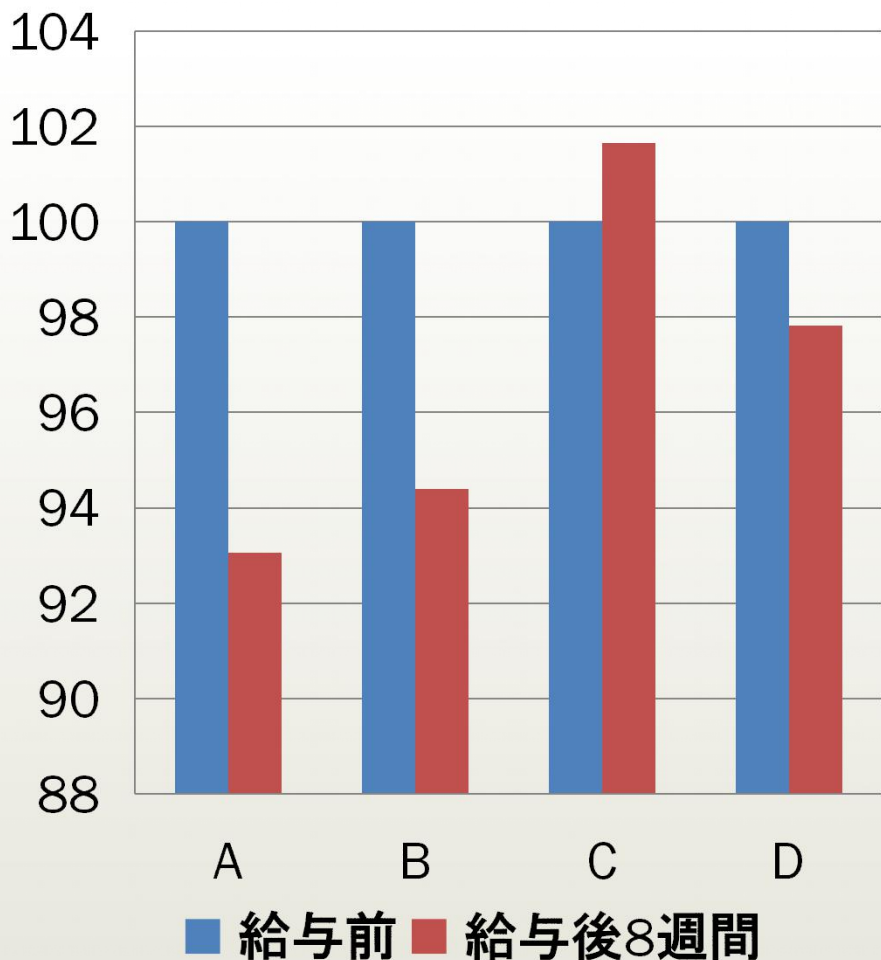
～好熱性細菌 *Bacillus hisashii* N-11株について～

- 海産物の高温発酵飼料から単離された。
- ヤシ酒乳酸菌 *Bacillus thermoamylovorans* 近縁種。  
(新種 *B. hisashii* N-11株)
- 豚・マウスにおいては、脂質代謝・腸管免疫・有機酸代謝などに影響をもたらすことが明らかになっている。
- NITEに国際寄託し、国際寄託番号「BP-863」が付与された。

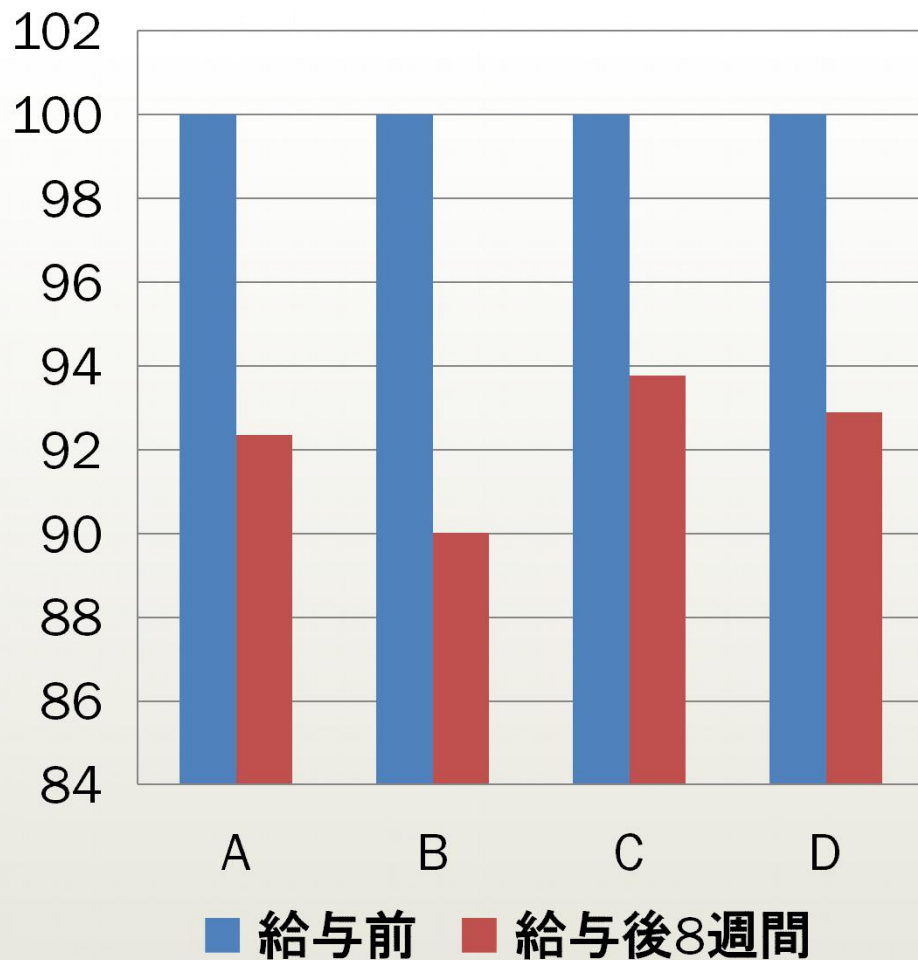


# ○背景 ～B.hisashii 給与時の変化～

## 給与後の体重の変化 (※給与前を100として)



## 給与後の体脂肪率の変化 (※給与前を100として)



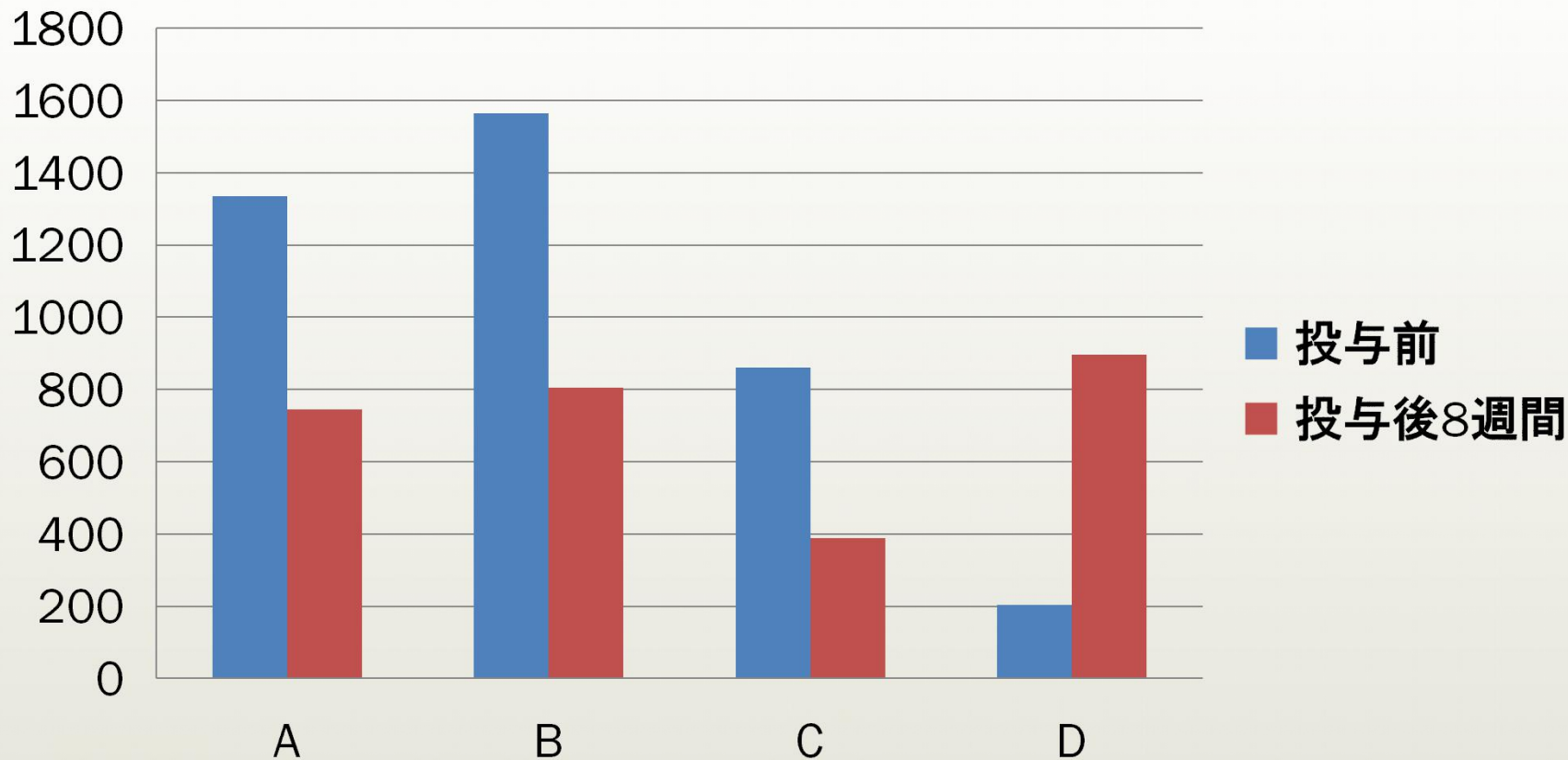
A:MD/♂/13歳 B:WC/♀/13歳 C:SB/♀/1歳 D:MD/♂/1歳

# ○背景 ～腸内細菌叢～

## 種レベル

A:MD/♂/13歳 B:WC/♀/13歳  
C:SB/♀/1歳 D:MD/♂/1歳

*Clostridium sp.TO-931/  
Clostridium hiranonis*

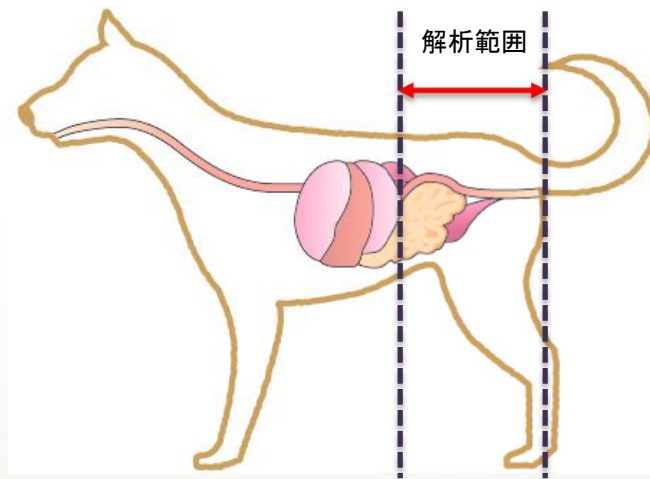
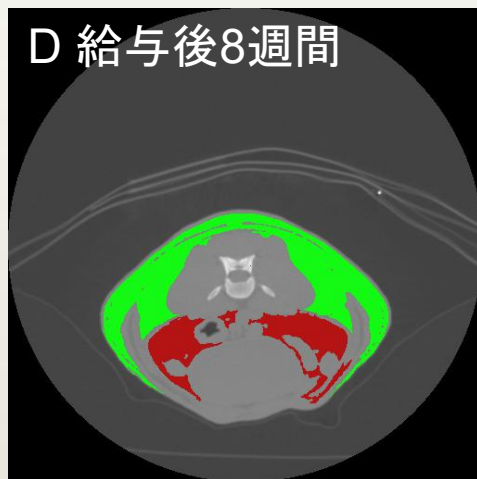
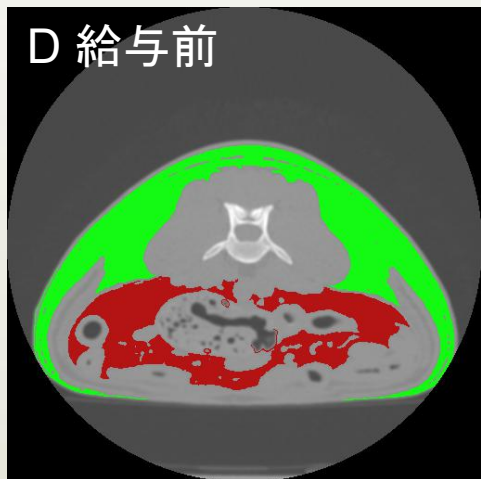
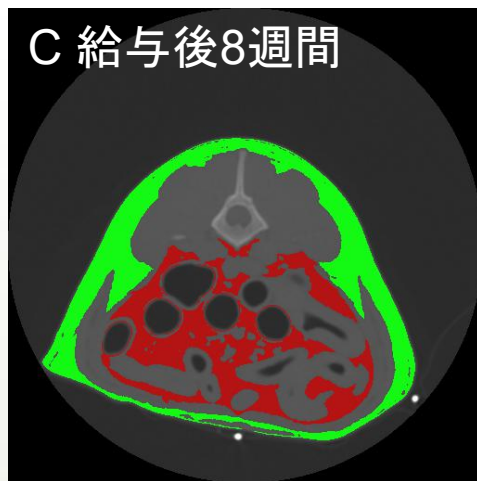
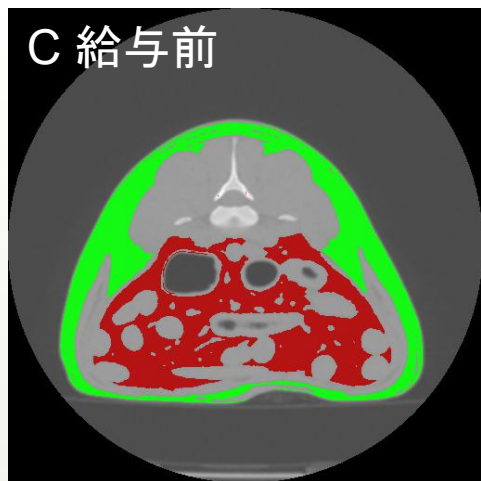


# ○背景 ～CTスキャンによる内臓脂肪量の解析～

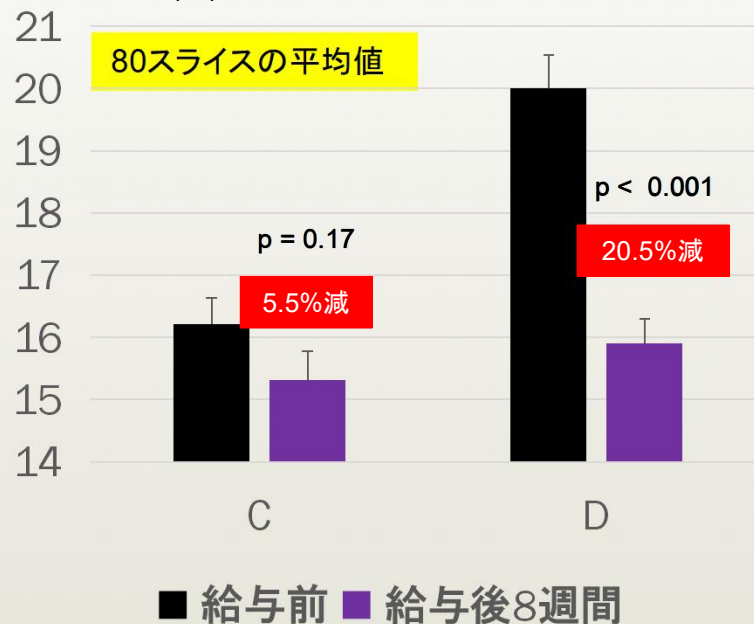
## アディポネクチン量と逆相関の関係

C: SB/♀/1歳 D: MD/♂/1歳

緑:皮下脂肪 赤:内臓脂肪



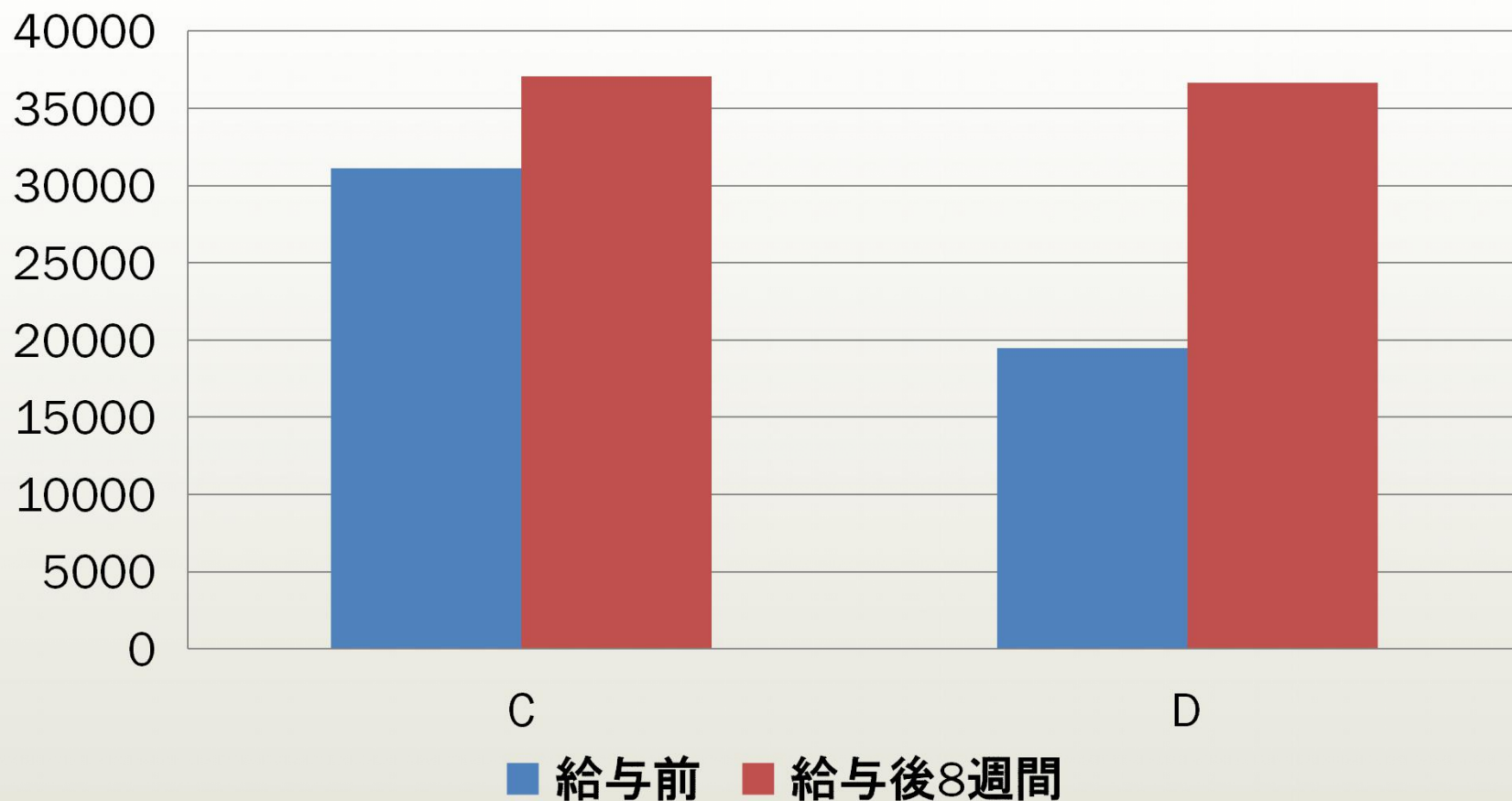
単位(%)



# アディポネクチン

C:SB/♀/1歳 D:MD/♂/1歳

アディポネクチン (ng/ml)



# ○目的

## *B. hisashii* の犬への給与

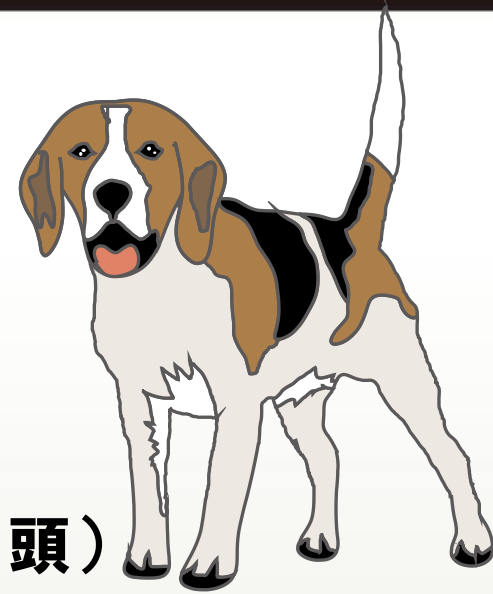
- 体重増加が抑制され、内臓脂肪は減少する
- 血液中のアディポネクチンが増加する
- *Clostridium*属Cluster XIが減少する



これらの挙動を示す要因について、代謝物の網羅的解析によって究明を図る



# 実験方法



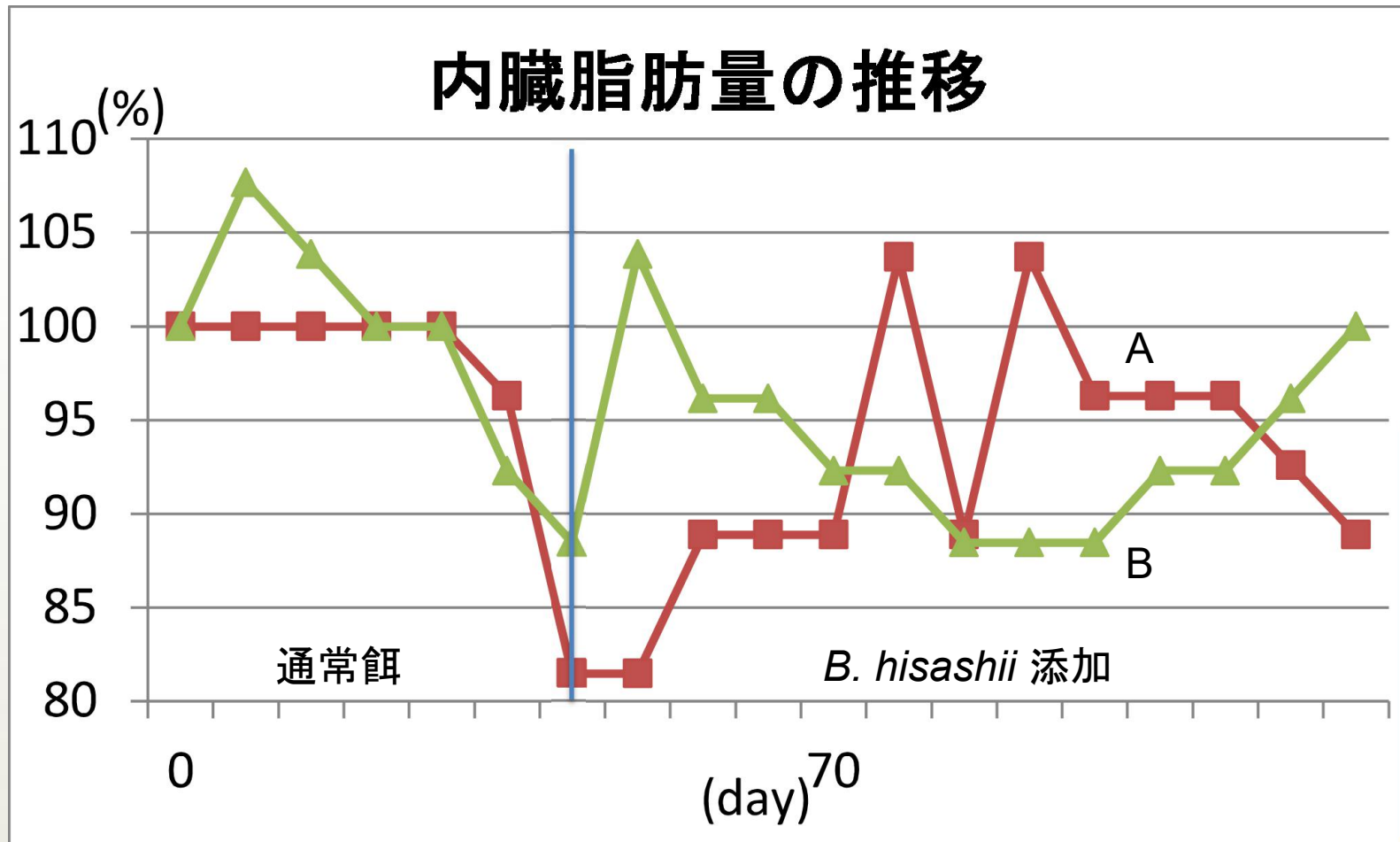
## ● 給与フード

- *B. hisashii*を添加した総合栄養食
- 給与エネルギー：RER×1.8
- 予備試験期間：6週間
- 給与期間：13週間
- 給与停止後経過観察期間：10週間
- 給与頭数：2頭（M. ダックスフンド1頭、柴犬1頭）

## ● 分析項目

- メタボローム解析：糞中の代謝産物を解析  
（検体の採取は6、13、17週目）  
トリプル四重極ガスクロマトグラフ質量  
分析計（GCMS-TQ8030）（島津製作所製）
- 脂肪領域：領域拡張法を活用して、脂肪を示すC T値を  
識別する犬用の解析ツールを開発し、当該ツール  
を用いて脂肪領域を定量評価。
- 体重、体脂肪率：1週間に1回計測。

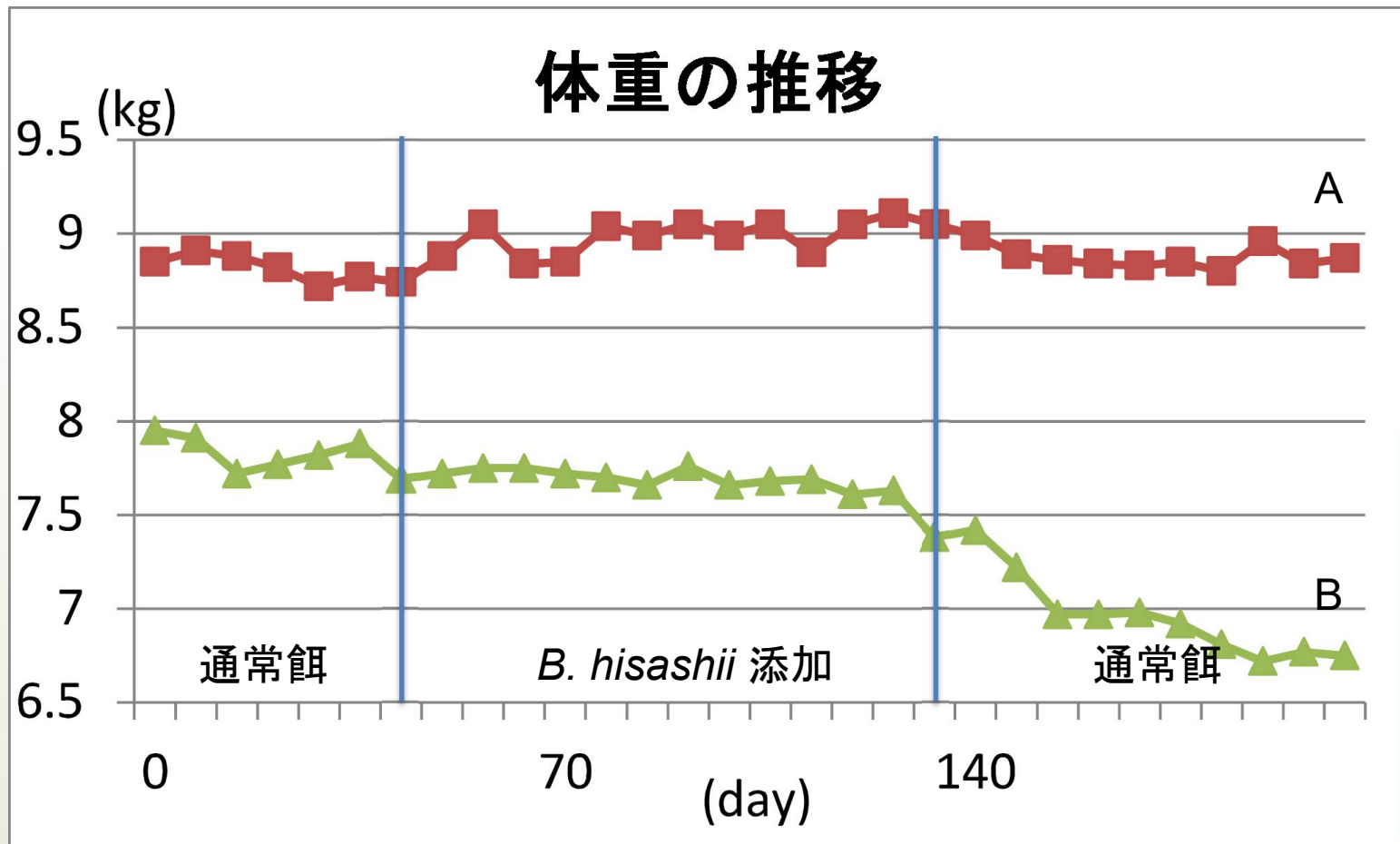
# ○結果 1 内臓脂肪の推移



A:SB/♀/1歳 B:MD/♂/1歳

*B. hisashii* の給与により、  
内臓脂肪量が減少する傾向があった。

## ○結果2 体重の推移



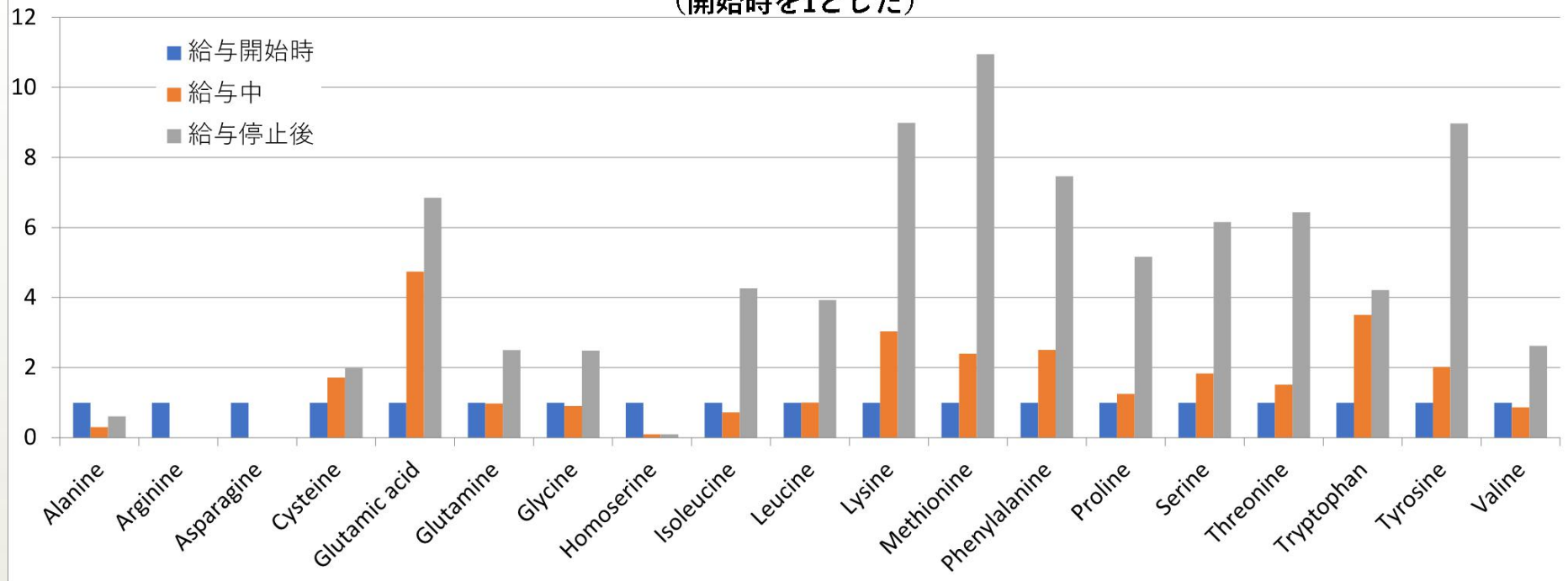
A:SB/♀/1歳 B:MD/♂/1歳

*B. hisashii* の給与により、  
体重の増加が抑制される傾向があった。

# ○結果3 メタボローム解析（アミノ酸）

## 糞中のアミノ酸の比較（A）

（開始時を1とした）

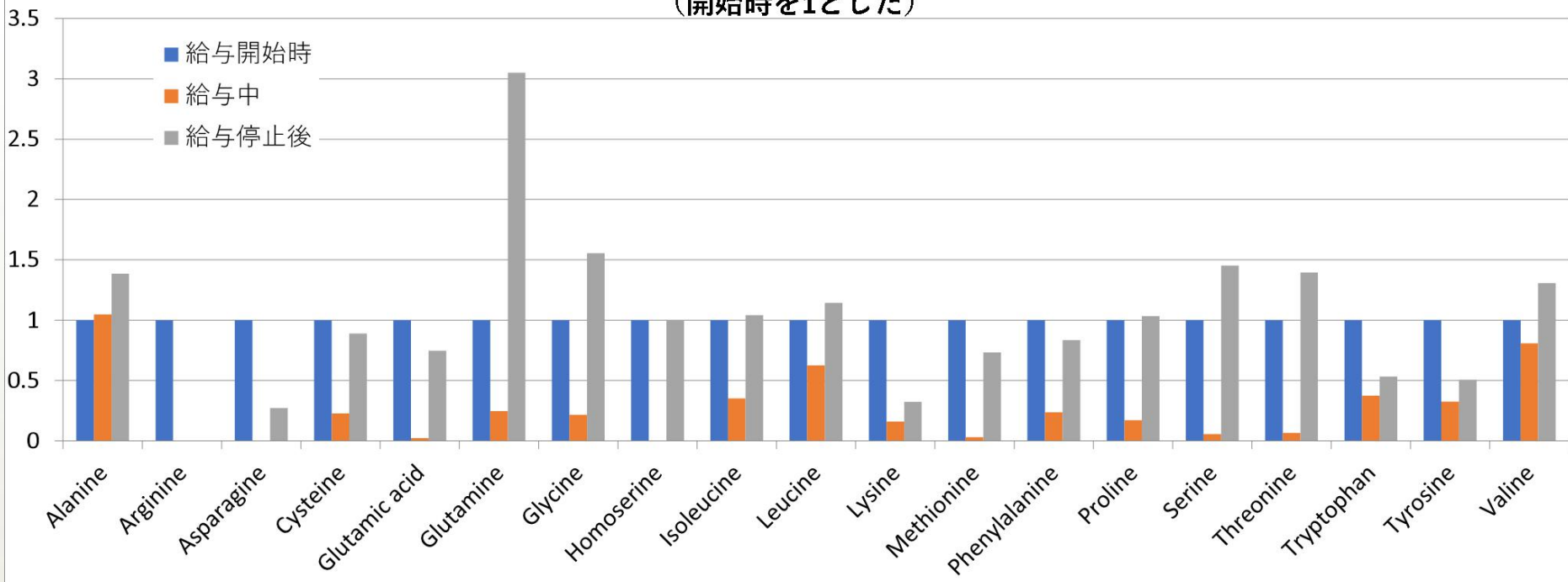


A:SB/♀/1歳

# ○結果3 メタボローム解析（アミノ酸）

## 糞中のアミノ酸の比較（B）

（開始時を1とした）



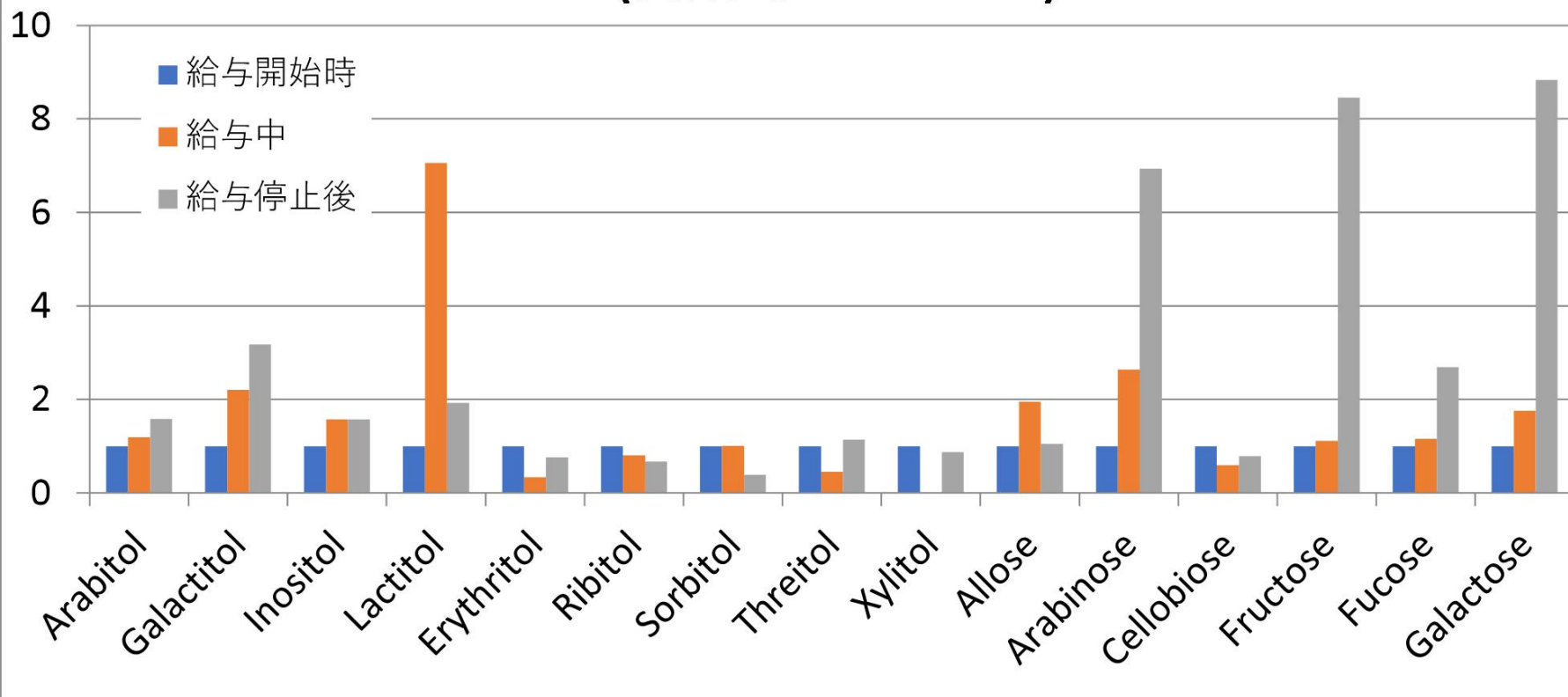
B : MD/♂/1歳

体重増加の抑制効果がより大きかった犬に関して、*B. hisashii* 給与時ではアミノ酸濃度が低下し、給与停止後に元の濃度まで戻る傾向がみられた。

# ○結果4 メタボローム解析（糖）

## 糞中の糖の比較① (A)

(開始時を1とした)

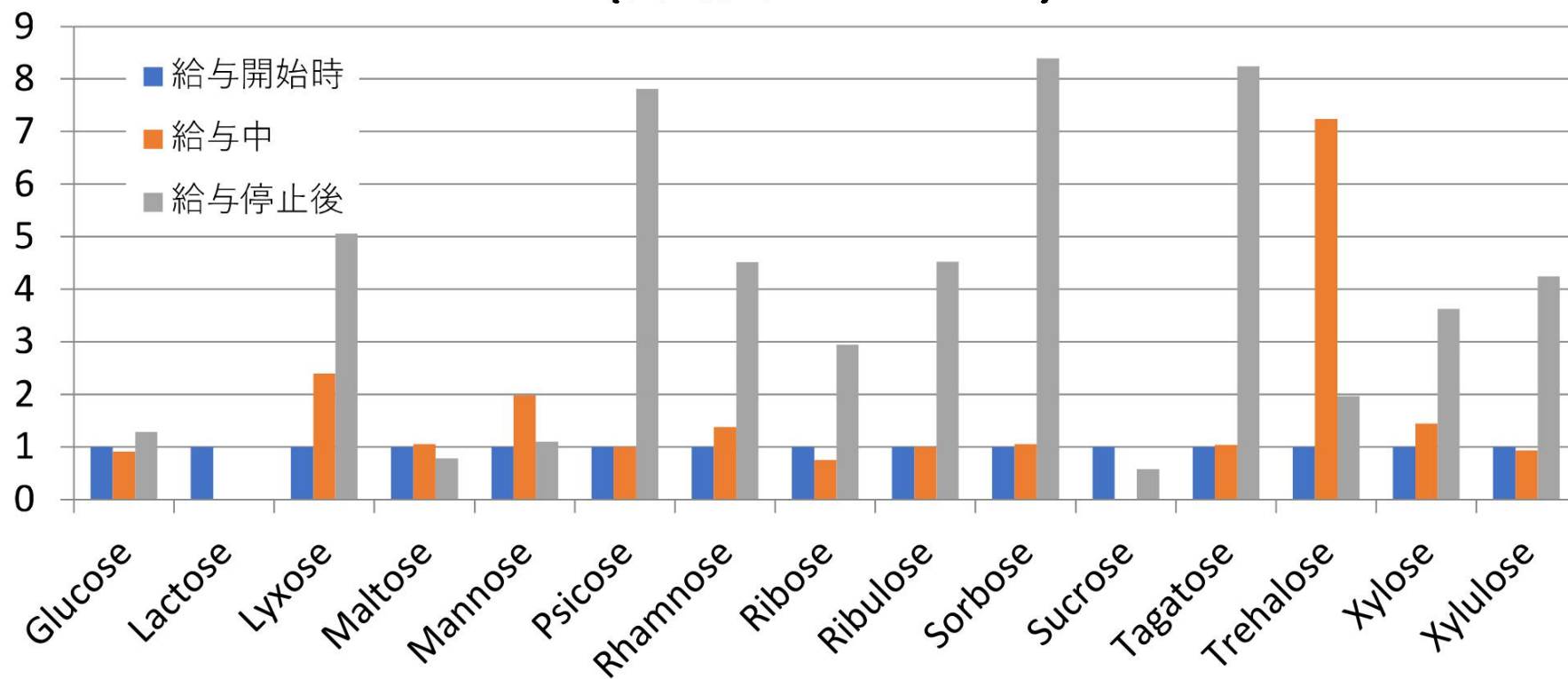


A:SB/♀/1歳

# ○結果4 メタボローム解析（糖）

## 糞中の糖の比較② (A)

(開始時を1とした)

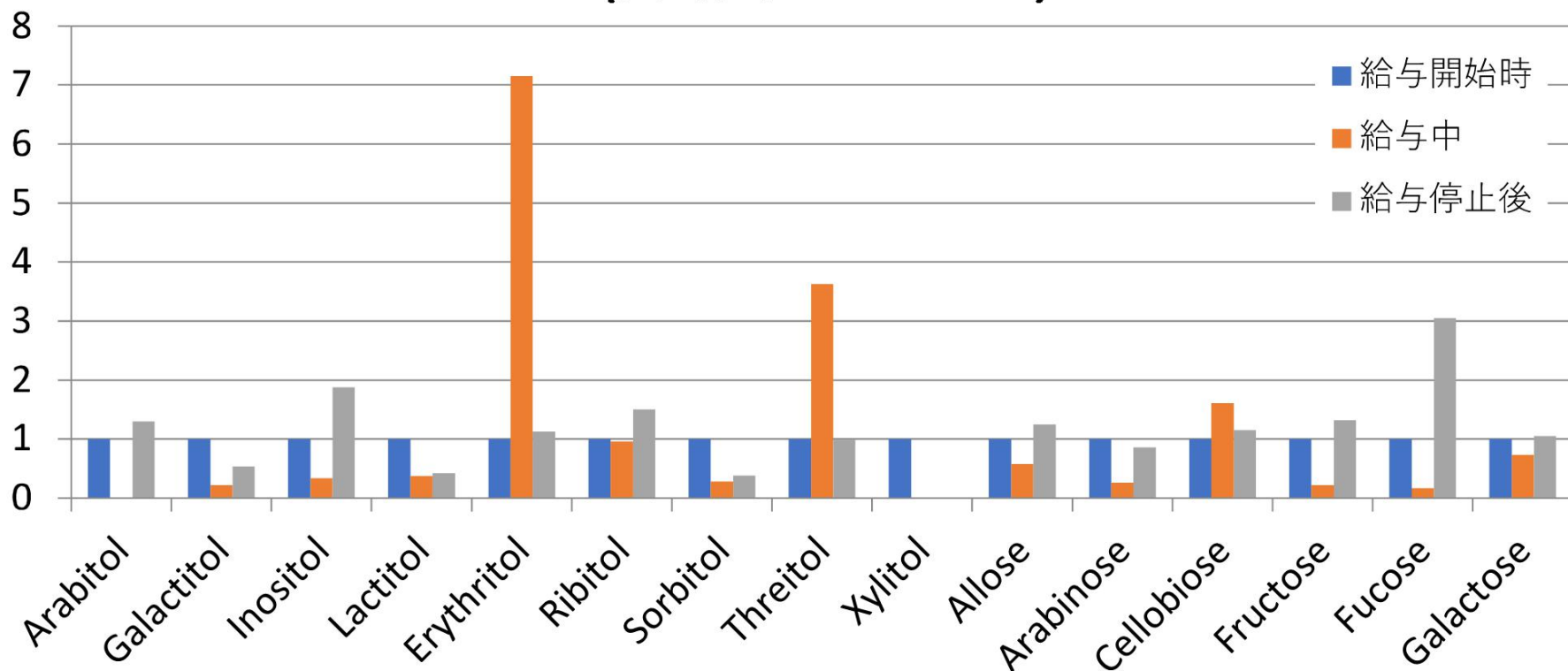


A:SB/♀/1歳

# ○結果4 メタボローム解析（糖）

## 糞中の糖の比較① (B)

(開始時を1とした)

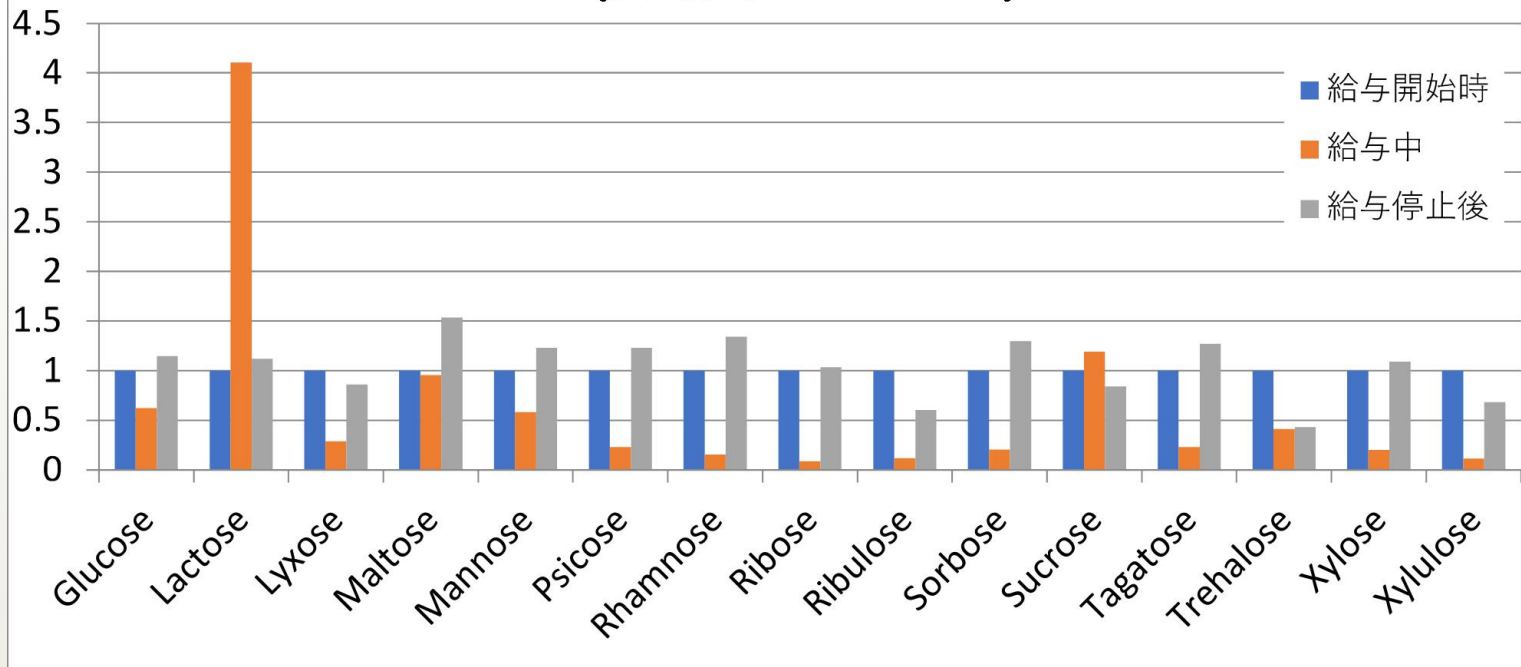


B : MD/♂/1歳



# ○結果4 メタボローム解析（糖）

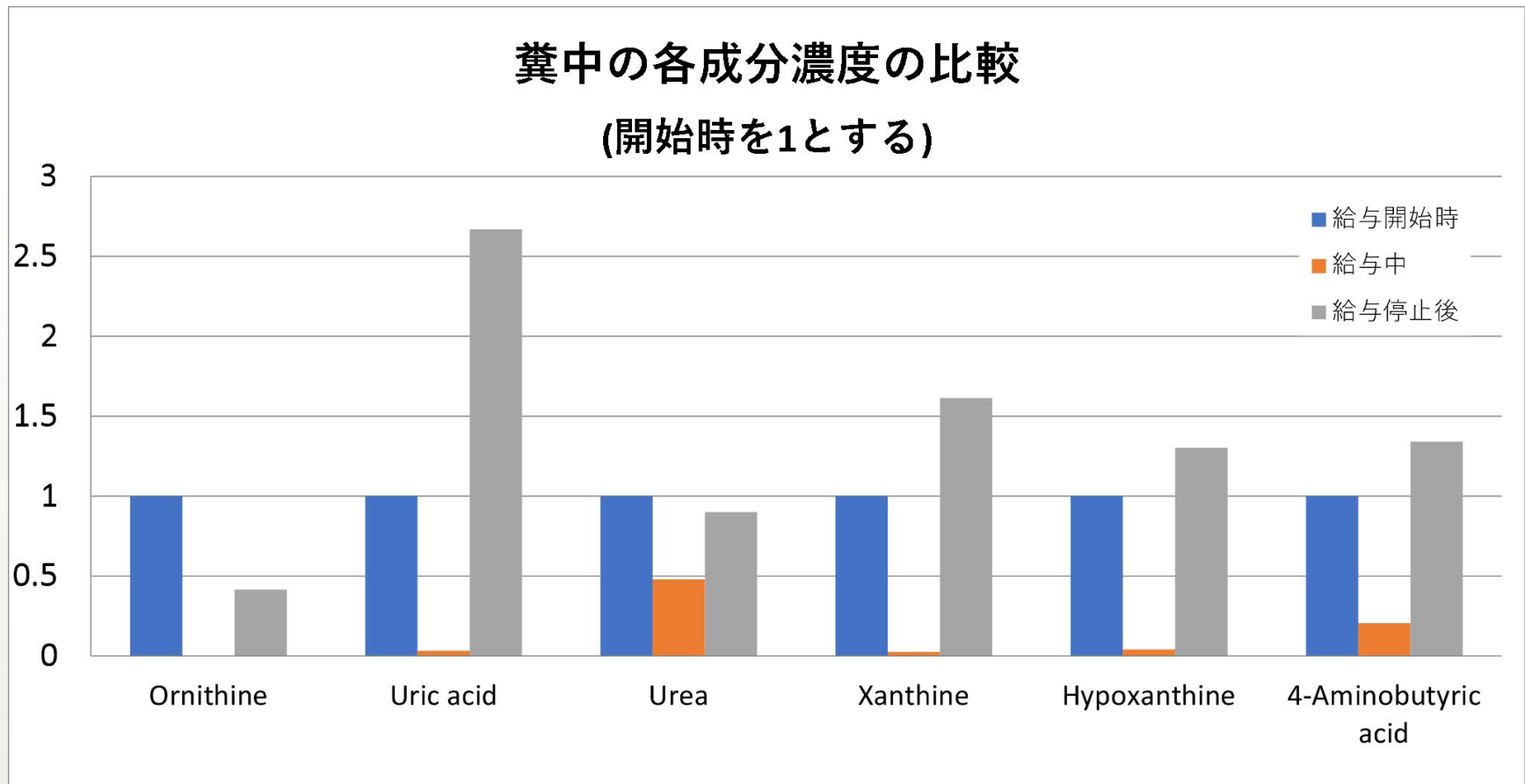
## 糞中の糖の比較② (B) (開始時を1とした)



B : MD/♂/1歳

体重増加の抑制効果がより大きかった犬に関して、*B. hisashii* 給与時では多くの糖類の濃度が低下し、給与停止後に元の濃度まで戻る傾向がみられた。

## ○結果5 メタボローム解析（その他）



B : MD/♂/1歳

体重増加の抑制効果がより大きかった犬に関して、*B. hisashii* 給与時では尿酸回路、プリン代謝に関連する物質や神経伝達物質の濃度が変化する傾向があった。

## ○まとめ

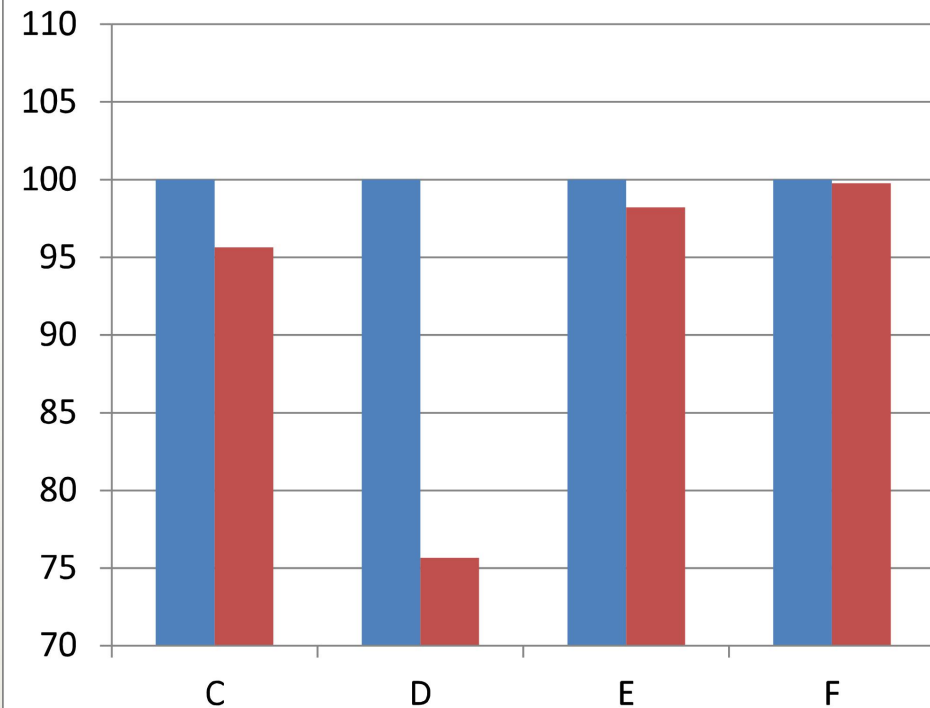
1. 体重の増加抑制および内臓脂肪の減少が起こる際、糞中のアミノ酸濃度および糖類の濃度は減少する傾向があった。
2. また、窒素代謝関連物質や神経伝達物質の濃度も変化することが観察された。
3. この変化は*B. hisashii*の給与を停止すると元に戻る傾向があった。



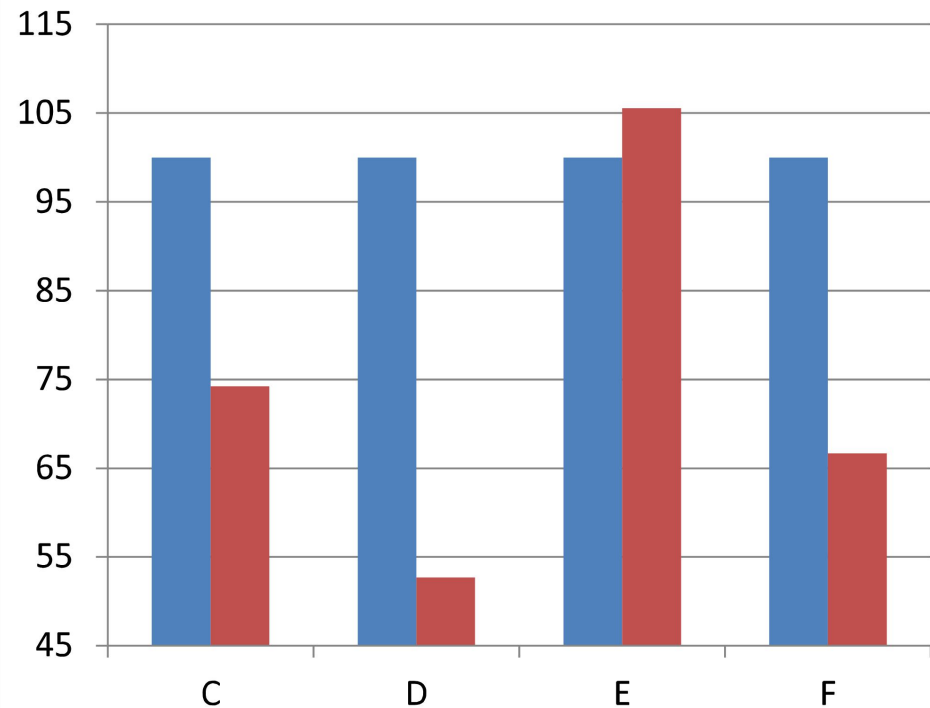
*B. hisashii* の給与により、腸内菌叢が変化することで、摂取した餌の栄養利用効率が上昇していることが示唆される

# ○結果 体重・内臓脂肪量の変化

体重の比較  
(給与開始時を100とした)



内臓脂肪量の比較  
(給与開始時を100とした)

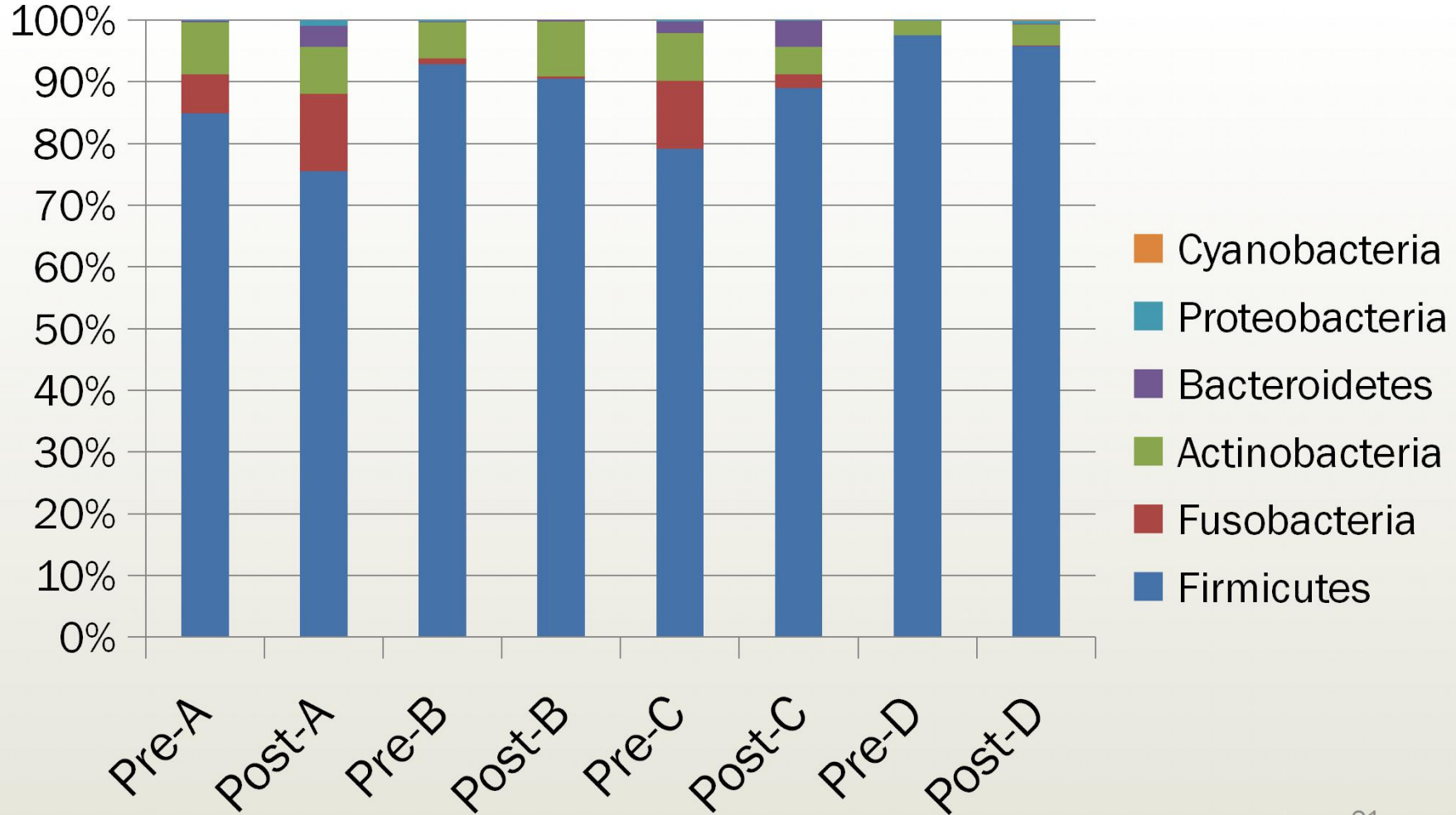


C:YT/♀/7歳 D:SB/♀/1歳 E:SB/♀/13歳 F:ST/♀/7歳

*B. hisashii* の給与により、体重の増加が抑制され、  
内臓脂肪量が減少する傾向があった。

# 結果 ～腸内細菌叢～

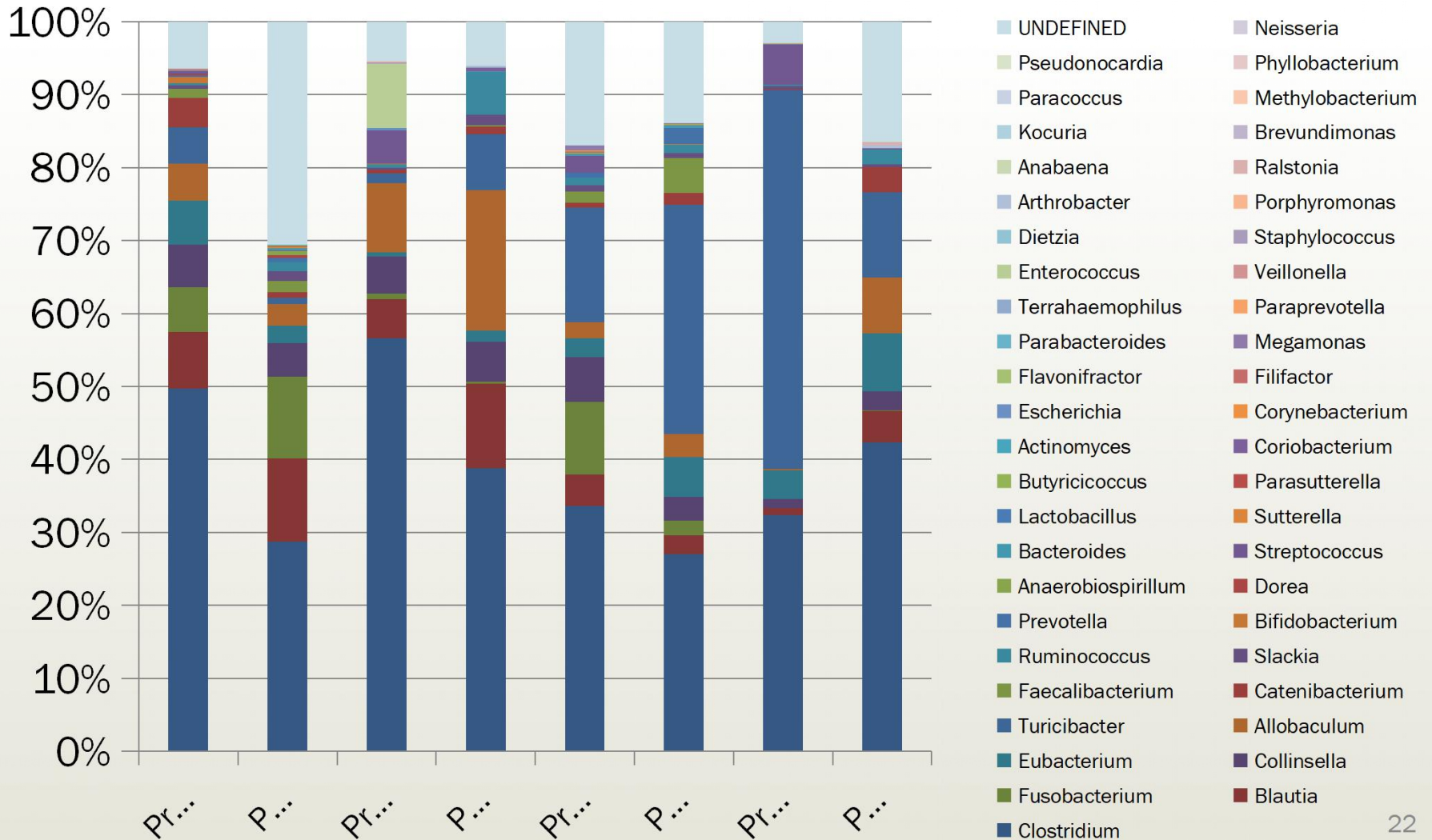
門レベル A:MD/♂/13歳 B:WC/♀/13歳 C:SB/♀/1歳 D:MD/♂/1歳



# 結果 ~腸内細菌叢~

## 属レベル

A:MD/♂/13歳    B:WC/♀/13歳  
 C:SB/♀/1歳    D:MD/♂/1歳

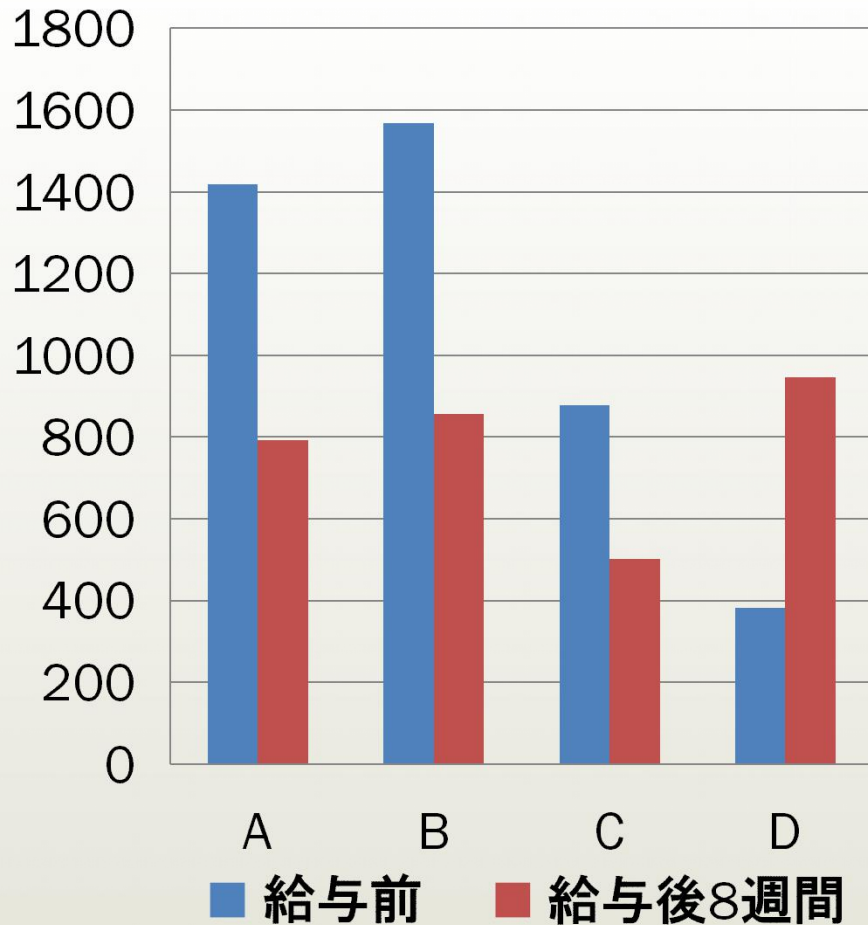


# 結果 ～腸内細菌叢～

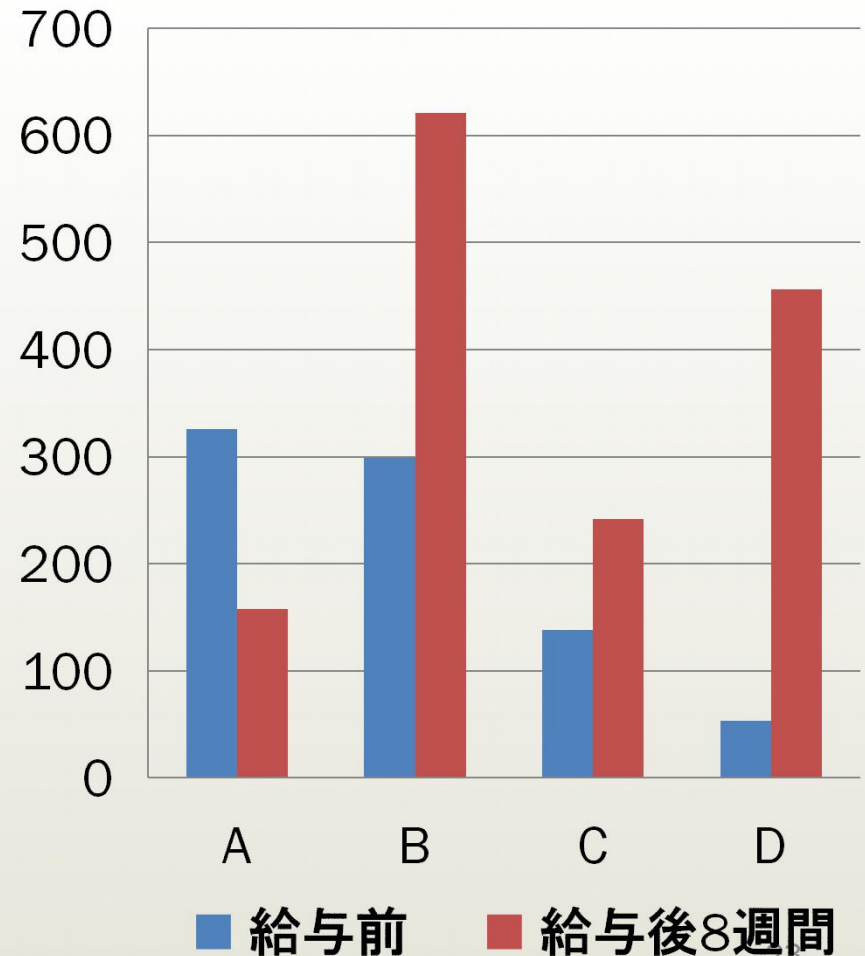
## 種レベル

A:MD/♂/13歳 B:WC/♀/13歳  
C:SB/♀/1歳 D:MD/♂/1歳

### Cluster XI



### Cluster XVI

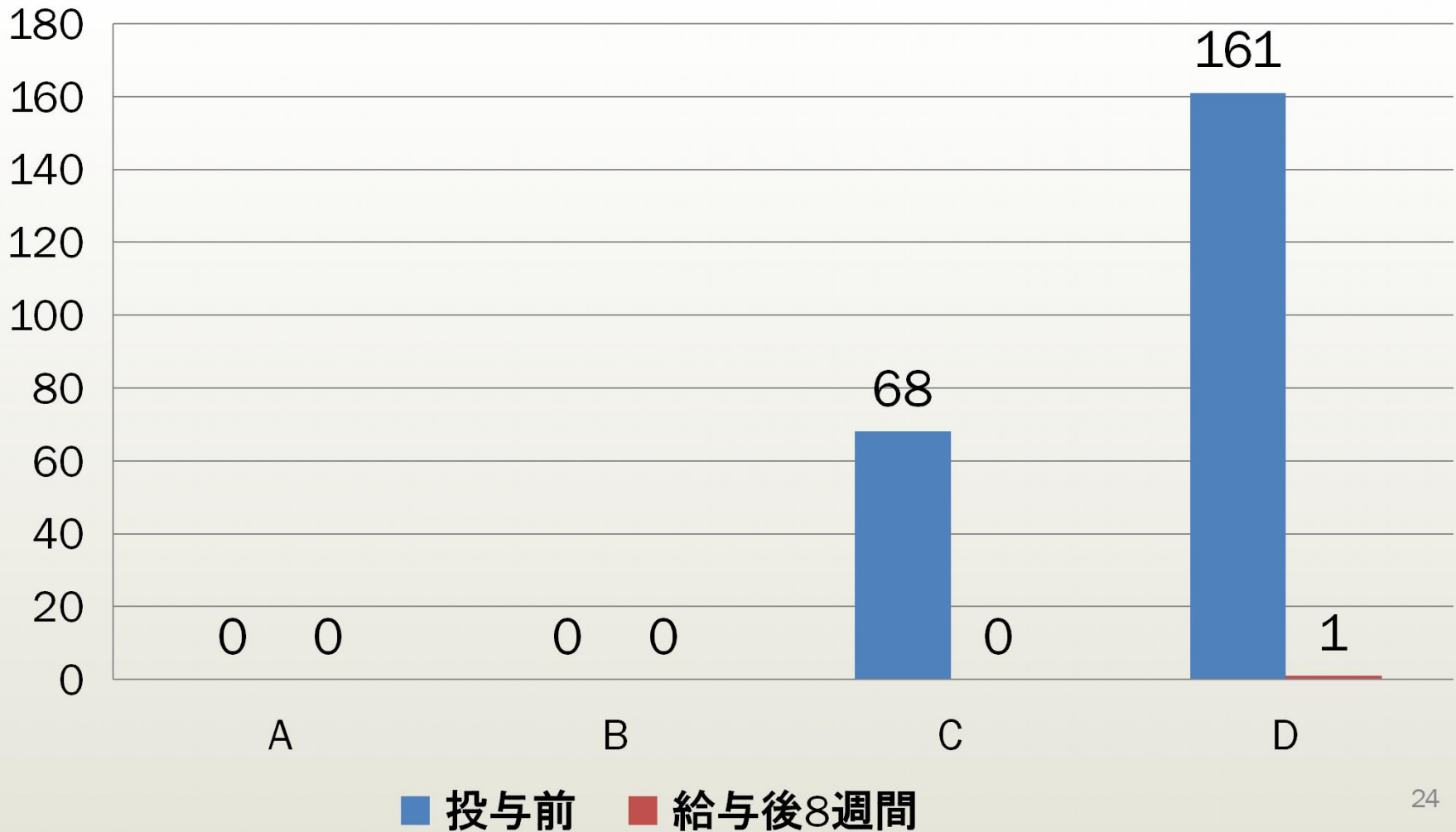


# 結果 ～腸内細菌叢～

## 種レベル

A: MD/♂/13歳 B: WC/♀/13歳  
C: SB/♀/1歳 D: MD/♂/1歳

### *Streptococcus lutetiensis*



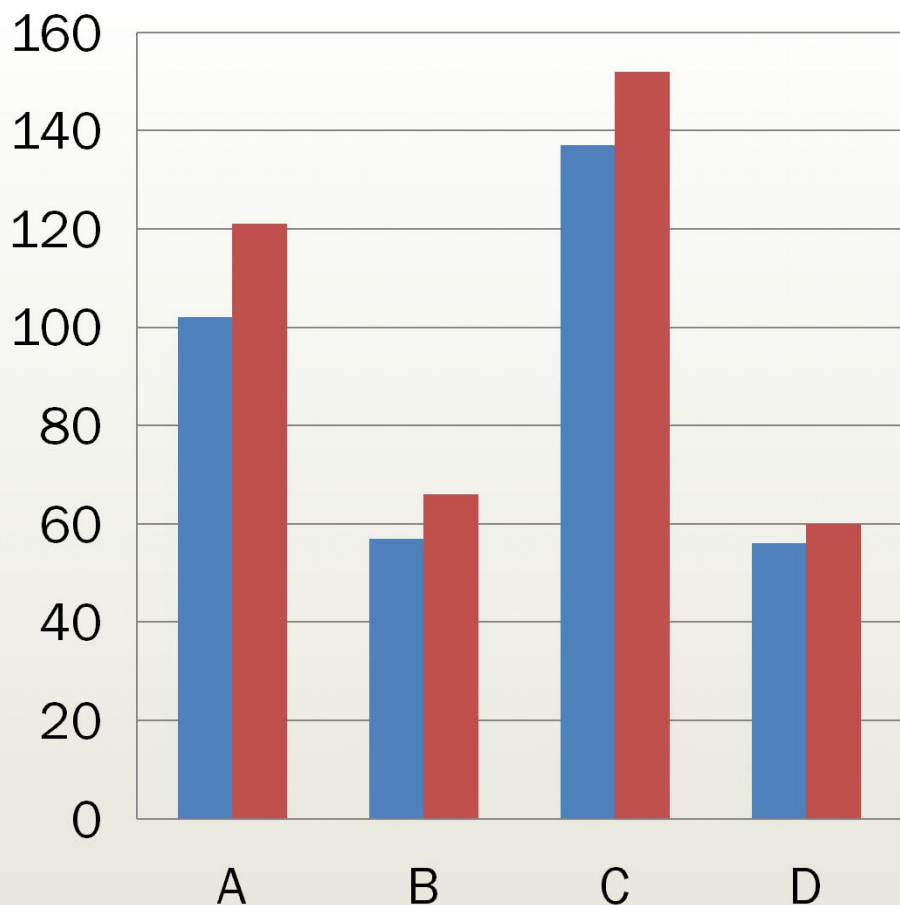


# 結果 ～腸内細菌叢～

## 多様性

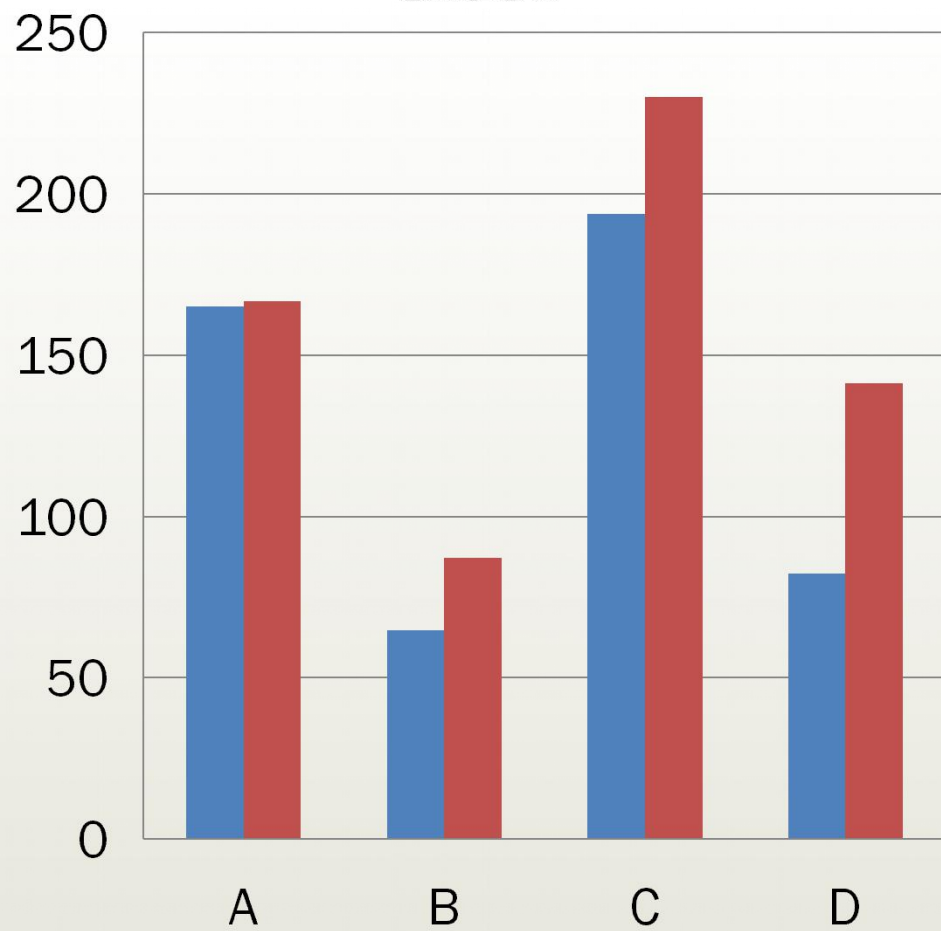
A: MD/♂/13歳 B: WC/♀/13歳  
C: SB/♀/1歳 D: MD/♂/1歳

### Number of OTUs



■ 给与前 ■ 给与後8週間

### Chao1

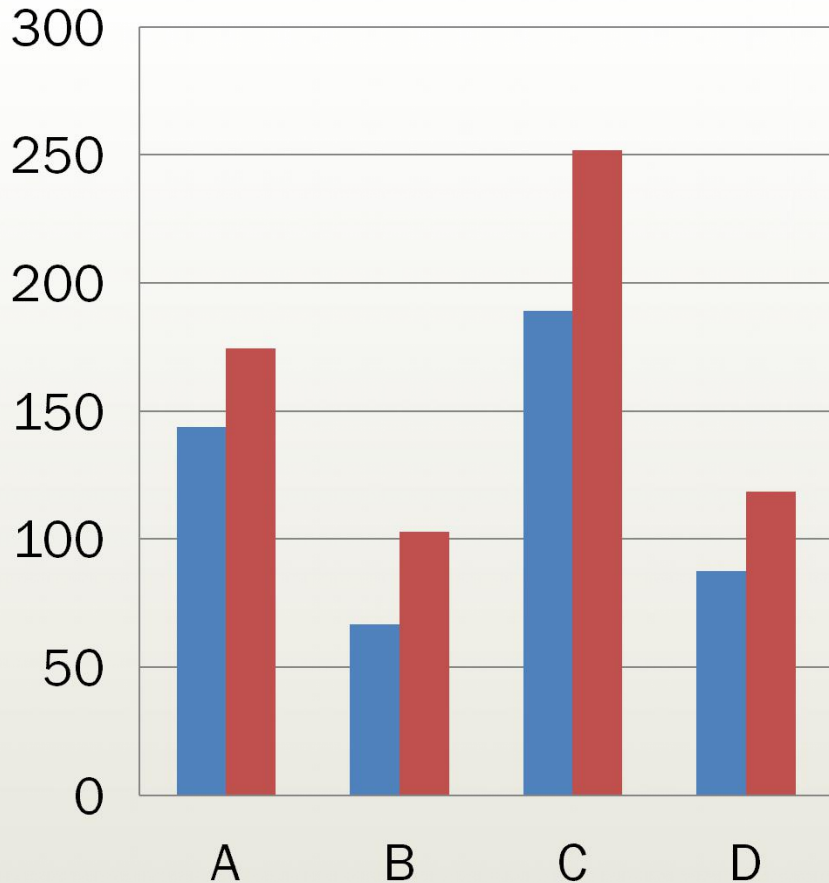


■ 给与前 ■ 给与後8週間

# 結果 ～腸内細菌叢～

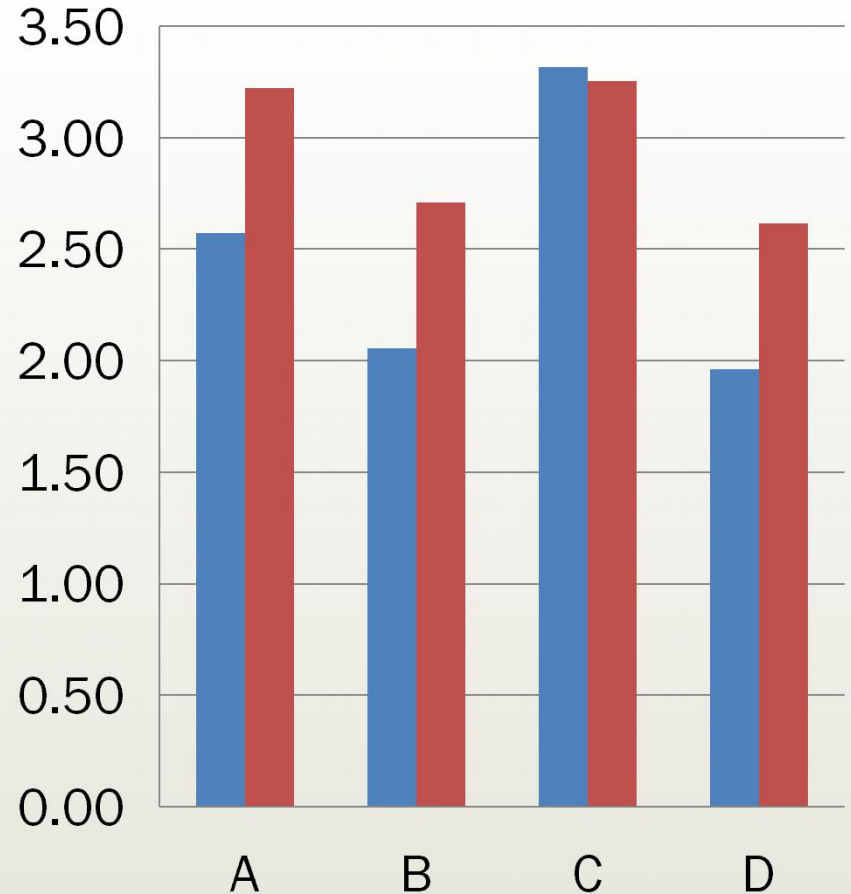
## 多様性

### ACE



■ 給与前 ■ 給与後8週間

A:MD/♂/13歳 B:WC/♀/13歳  
C:SB/♀/1歳 D:MD/♂/1歳  
Shanon's Index



■ 給与前 ■ 給与後8週間

# まとめ

1. 体重は減少傾向にあり、体脂肪率は顕著に減少傾向にあった。専用ツールを使用したCT値の解析でも、脂肪領域の減少が確認され、体脂肪の減少が明らかになった。
2. 16SrRNA配列解析による腸内細菌叢解析の結果、*Firmicutes*門の減少、*Bacteroides*門の増加、*Clostridium* Cluster XIの減少など、“痩せ型”の腸内細菌叢へと変化した。また、多様性は増していた。
3. アディポネクチンに関しては、増加傾向にあり内臓脂肪の減少が示唆された。

腸内細菌叢の改変により、脂質代謝に影響及ぼしていることが示唆された。