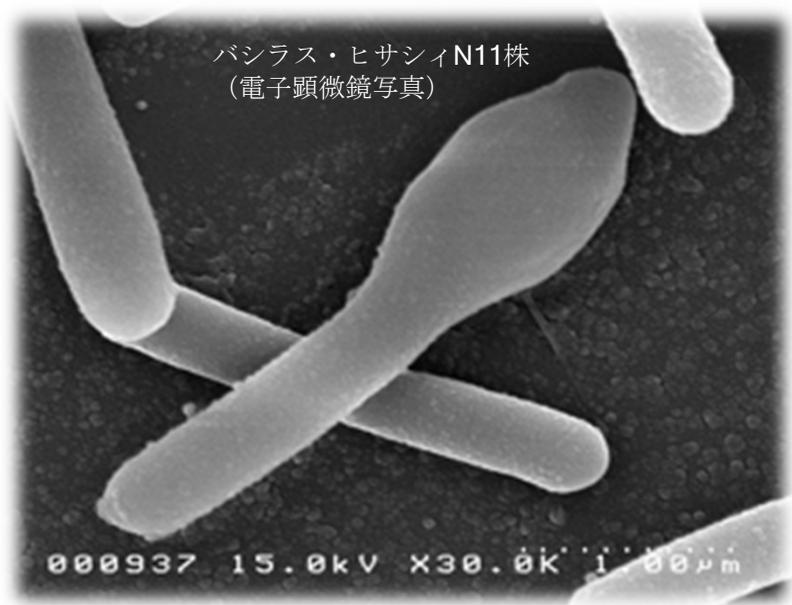


千葉大学発ベンチャーとの共同研究成果

次世代型プロバイオティクス 好熱性微生物群の ペットへの効果について



バシラス・ヒサシイN11株
(電子顕微鏡写真)



株式会社 **スマック**

研究開発協力



千葉大学発ベンチャー
株式会社 **サーマス**

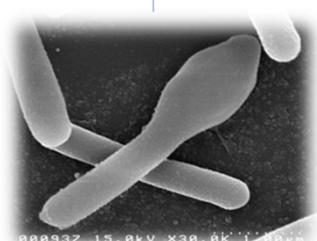
事業化協力



京葉ガスグループ
京葉プラントエンジニアリング株式会社

共同研究開発

 株式会社スマック



共同研究開発

研究開発協力

 千葉大学発ベンチャー
株式会社サーマス

事業化協力

 京葉ガスグループ
京葉プラントエンジニアリング株式会社

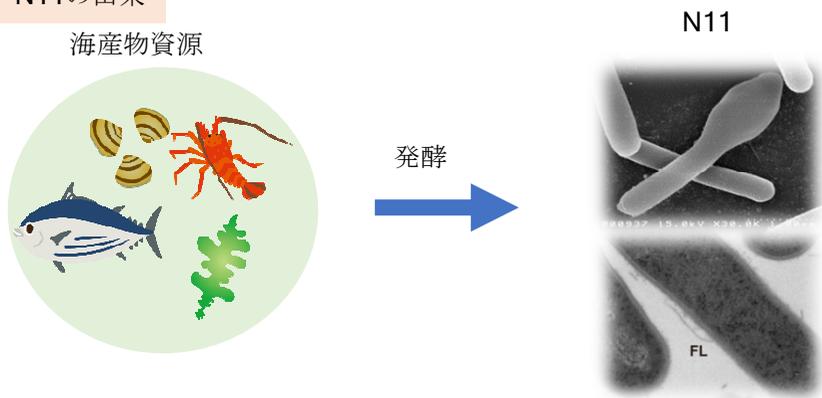
スマックは「ペットの笑顔のそばに」を標語に常にペットとオーナー様の視点に立ち、安心・安全で、健康に配慮したフードづくりに取り組んでいます。ペットの生活環境の変化による新たな課題解決と健康寿命の延伸に寄与するために、産学連携の推進に努めています。とりわけ、マイクロバイオーム（微生物叢）市場は近年対人分野でも注目されており、大切なペットにおいても欠くことのできない重要な分野であると考えています。

数あるプロバイオティクスの中から、過酷な環境下においても機能を発揮する好熱性微生物に着目し、その分野の先駆である千葉大学発ベンチャーの株式会社サーマスとの共同研究に至りました。同社は、好熱性微生物群を活用し、環境中の微生物動態を効果的にコントロールする新技術に基づいた、医療・食糧分野でのイノベーション実現を目指して、千葉大学を中心に京葉プラントエンジニアリング(株)などの産学連携のもと、2013年に設立されたベンチャー企業です。腸内フローラ制御による動物体内の代謝や生理特性を変化させる技術におけるフロンティアカンパニーであり、千葉大学のみならず、東京大学・慶応義塾大学・理化学研究所などと連携をしています。

好熱性微生物 バシラス・ヒサシィN11株について

バシラス・ヒサシィN11株 (*Bacillus hisashii* N11^T)は、未利用海産物資源の発酵物から単離された好熱性微生物であり、国際的な微生物寄託機関によって登録番号を付与されています。好熱性微生物は、温泉などに生息している安全な微生物ですが、N11はヤシ酒発酵微生物と近縁であることが知られています。これまでの研究において、脂質代謝・腸管免疫に影響を及ぼすことが明らかになっており、既知の乳酸菌・酵母や枯草菌（納豆菌）などとも相性が良く、相乗効果が見込まれることが示唆されています。

N11の由来



N11に関する研究成果及び国際特許

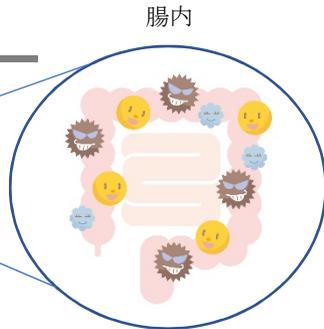
- T. Ito, et. al. (2016) J. Biosci. Bioeng., 121: 659-664.
 - R. Tanaka, et.al. (2016) J. Biosci. Bioeng., 121: 530-535.
 - A. Nishida, et.al. (2016) IJSEM, 65: 3944-3949.
 - H. Miyamoto, et.al. (2013) J. Biosci. Bioeng., 116: 203-208.
 - H. Miyamoto, et.al. (2013) J. Appl. Microbiol., 114: 1147-1157.
 - K. Ishikawa, et.al. (2013) Appl. Microbiol. Biotechnol., 97:1349-1359.
 - T. Satoh, et.al. (2012) J. Biosci. Bioeng., 114: 500-505.
 - H. Miyamoto, et.al. (2012) Res. Vet. Sci., 93:137-142.
 - R. Tanaka, et.al. (2010) J. Gen. Appl. Microbiol., 56: 61-65.
 - C. Niisawa, et.al. (2008) J. Gen. Appl. Microbiol., 54: 149-158.
- 経済産業省・戦略的基盤技術高度化支援事業概要報告書2011-12
宮本浩邦「22章 環境微生物と動物」、大野博司編「共生微生物」化学同人(Dojin Bioscience series No.27)、p.247-256 (2016)
宮本浩邦、森健一. 養豚の友 9月号 p.18-21 (2016)
宮本浩邦、児玉浩明.Medical Science Digest, 2015年4月号、p.49-51
宮本浩邦、児玉浩明.月刊細胞、2015年2月号、p.47-48
<国際特許登録No.>
特許第5578375号/No.2556835 (EU)/ZL2011 8 0009184.2(中国)
微生物国際寄託番号 NITE BP-863

腸内フローラの基礎知識

- 善玉菌・悪玉菌・日和見菌
- プロバイオティクスとプレバイオティクス
- 疾患・生理機能との関係

腸内フローラの基礎知識

～善玉菌・悪玉菌・日和見菌～



善玉菌：宿主の健康に良い影響を及ぼす菌
乳酸菌、ビフィズス菌など



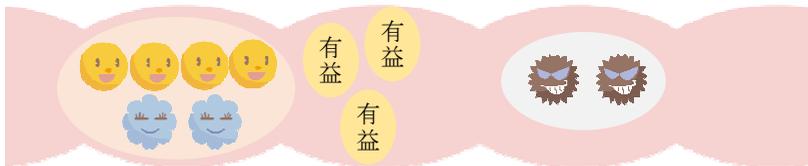
悪玉菌：宿主の健康に悪い影響を及ぼす菌
大腸菌など



日和見菌：善玉菌と悪玉菌の優勢な方につく菌
バクテロイデスなど

- 電子顕微鏡で腸内細菌をのぞいてみるとまるで、「お花畑（フローラ）」のように見えるため、「腸内フローラ」と呼ばれています。
- ヒトの体の中には、数十兆から数百兆もの腸内細菌が棲みついています。（ヒトの細胞は約60兆個）

善玉菌が優勢



- 善玉菌が悪玉菌よりも優勢な状況では、日和見菌は悪さをしません。善玉菌を増やすことで、日和見菌を仲間にできます。

悪玉菌が優勢



- 悪玉菌が善玉菌よりも優勢な状況では、日和見菌も有害な働きをします。これを「日和見菌感染」と言います。

腸内フローラの基礎知識

～プロバイオティクスとプレバイオティクス～

プロバイオティクス

定義：「適量を摂取した際に宿主に有用な作用を示す生菌体」¹⁾

悪玉菌が優勢



悪玉菌が優勢な状況下では、日和見菌も有害な働きをしてしまいます。



善玉菌を含むフードを摂取することで、悪玉菌・日和見菌の有害な働きを抑えます。

プロバイオティクスの代表例は、ヨーグルトなどの発酵食品です。発酵食品に含まれる、有益な微生物は腸内環境を整えて、便通の改善を含め、宿主にさまざまな有益な影響を及ぼします。

プレバイオティクス

定義：「大腸内の特定の細菌の増殖および活動を選択的に促進化させることにより、宿主の健康増進に寄与する非消化性の食品成分」¹⁾

悪玉菌が優勢



悪玉菌が優勢な状況下では、日和見菌も有害な働きをしてしまいます。



善玉菌が食物繊維やオリゴ糖をエサとして増殖することで、善玉菌が優勢になります。

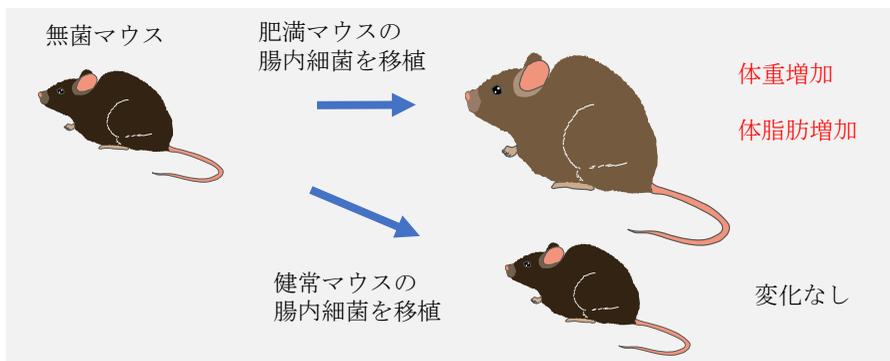
プレバイオティクスの代表例は、オリゴ糖や食物繊維です。摂取したオリゴ糖などは宿主に吸収されることなく、腸まで届きます。そして、善玉菌のエサとなり、善玉菌を増やすことで、宿主に有益な影響を及ぼします。

腸内フローラの基礎知識 ～疾患・生理機能との関係～

腸内フローラと肥満との関係

	<i>Bacteroides</i>		<i>Firmicutes</i>		<i>Clostridium</i> 属 Cluster XI	
肥満マウス	少ない	↓	多い	↑	多い	↑
健常マウス	多い	↑	少ない	↓	少ない	↓

肥満マウスと健常マウスの腸内細菌叢を16SrRNA解析により比較すると、肥満マウスは健常マウスに比べ、*Bacteroides* (バクテロイデス) 門に属する菌が少なく、*Firmicutes* (ファーミキューテス) 門に属する菌が多いことが分かりました。²⁾また、高脂肪食を給与したマウスの腸内細菌には、*Clostridium* (クロストリジウム) 属の Cluster (クラスター) XIに属する細菌が多いことが明らかになっています³⁾

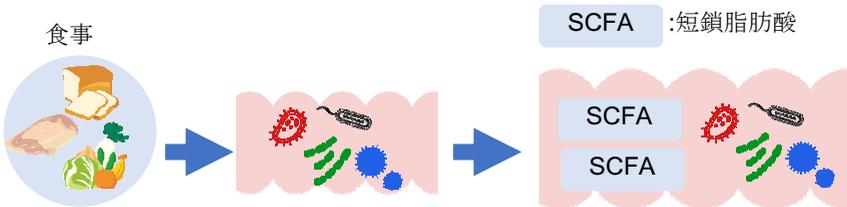


無菌マウスに肥満マウスと健常マウスそれぞれの腸内細菌を移植した結果、肥満マウスの腸内細菌を移植した無菌マウスは、体重・体脂肪ともに増加しました。²⁾

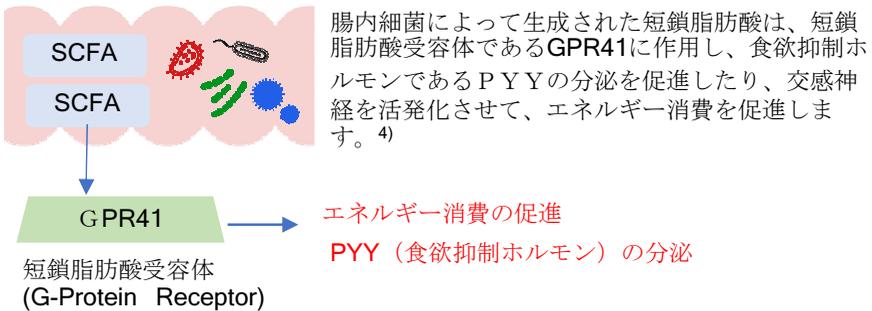
このことにより、腸内細菌が宿主のエネルギー代謝に影響を及ぼしていることが、科学的に証明されました。

腸内フローラの基礎知識 ～疾患・生理機能との関係～

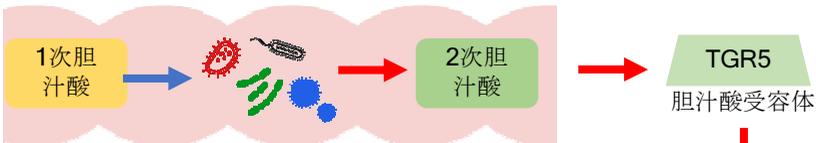
腸内フローラと代謝機能との関係



摂取した食事から、腸内細菌は短鎖脂肪酸 (Short Chain Fatty Acid)を生成します。特にオリゴ糖や食物繊維などの多糖類から生成されます。



その他にも、腸内細菌が生成する物質が、宿主の代謝機能に影響を及ぼしていることが分かっています。

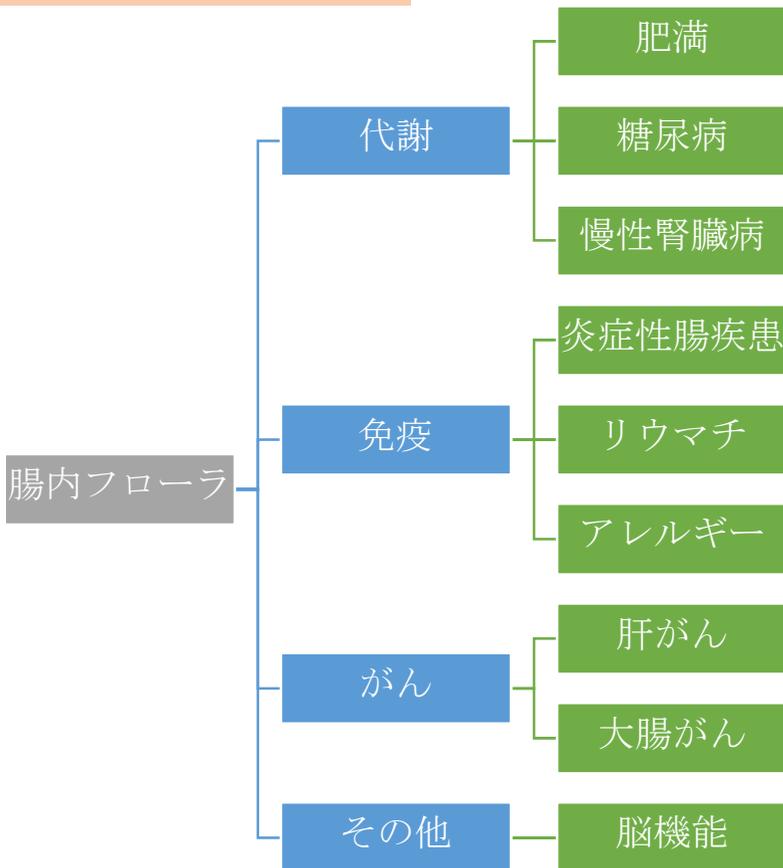


TGR5:(Transmembrane G protein-coupled Receptor5)
GLP-1 : Glucagon-like peptide-1
インスリン分泌促進

腸内細菌は、脂質の代謝に重要な役割を担っている1次胆汁酸を2次胆汁酸へと変換します。2次胆汁酸はTGR5を活性化させ、GLP-1の分泌が促進され、インスリン分泌が高まります。5)6)

腸内フローラの基礎知識 ～疾患・生理機能との関係～

腸内フローラと疾患との関係



※7)を参考に作成

腸は最大の免疫器官と言われている通り、免疫に関する疾患との関係性は以前より注目されており、多くの研究が行われています。前述した通り、腸内フローラが代謝にも大きく影響を及ぼしていることが科学的に証明され、生活習慣病との関係性についても研究が進んでいます。その他にも、脳と腸は神経や液性因子により、緊密な関係があることが分かってきたことで、うつ病などの改善に役立つ可能性が示唆されています。⁷⁾

学会発表実績

日本ペット栄養学会 第18回大会

「好熱性細菌BP-863の経口投与が犬の腸内細菌叢と脂肪蓄積に与える影響について」

○ 栢岡久志¹・宮本浩邦^{2,3,4}・須田瓦²・宇田川元章⁵・井藤俊行^{2,5}・岩田菖子²・大野博司⁶・服部正平^{7,8}・児玉浩明²

¹株式会社スマック、²千葉大学大学院 融合科学研究科、³慶応義塾大学 医学部、⁴株式会社サーマス、⁵京葉プラントエンジニアリング株式会社、⁶理化学研究所 統合生命医科学研究所、⁷東京大学大学院 新領域創成科学研究科、⁸早稲田大学理工学術院 先進理工学研究科

日本ペット栄養学会 第19回大会

「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」

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

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

学会発表実績

日本ペット栄養学会 第19回大会

「好熱性細菌 *Bacillus hisashii* の経口給与がウサギの腸内環境に与える影響評価」

○ 枘岡久志¹・中西裕美子²・加藤完²・井藤俊行^{3,4}・松浦真紀子^{3,5}・宇田川元章^{4,5}・児玉浩明³・大野博司²・

宮本浩邦^{2,3,5}

¹株式会社スマック、²理化学研究所 統合生命医科学研究
所、³千葉大学大学院 園芸学研究科、⁴京葉プラントエン
지니어リング株式会社、⁵株式会社サーマス

研究成果① 「好熱性細菌BP-863の経口投与が犬の腸内細菌叢と脂肪蓄積に与える影響について」

給与フード

- ・ N11を添加した総合栄養食
 - ・ 給与エネルギー：RER×1.4～1.8
 - ・ 給与期間：8週間
 - ・ 給与頭数：4頭（M.ダックスフンド2頭、柴犬1頭、ウェルシュコーギー1頭）
- ※M.ダックスフンド：MD
※柴犬：SB
※ウェルシュコーギー：WC

N11配合



分析項目

- ・ 腸内細菌叢：次世代シーケンサーを用いて16SrRNA配列解析（可変領域V1～V2領域を増幅し、3000リード/サンプル）
- ・ 脂肪領域：領域拡張法を活用して、脂肪を示すCT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。
- ・ 血清成分分析

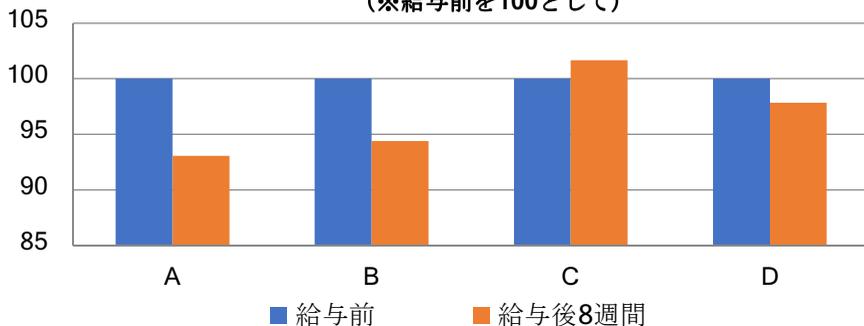


結果

体重

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

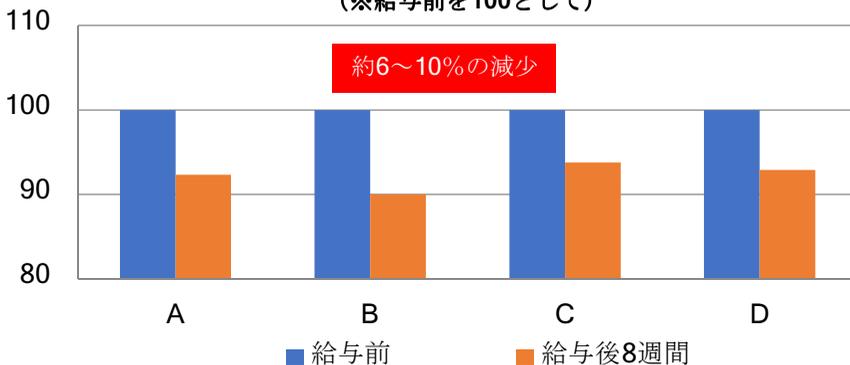
給与後の体重の変化
(※給与前を100として)



4頭中3頭に体重の減少が認められた。増加した1頭についても、体脂肪率が減少していたことから、筋肉の増加によるものと考えられる。

体脂肪率

給与後の体脂肪率の変化
(※給与前を100として)

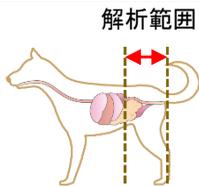
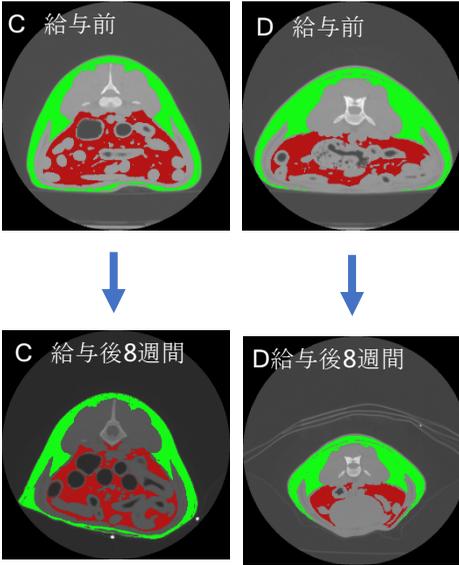


全頭で約6~10%の体脂肪率の減少が認められた。

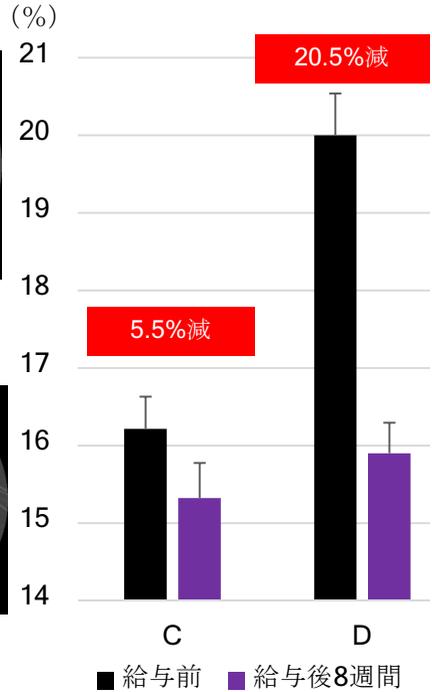
結果

脂肪領域 (CTスキャン画像解析)

緑:皮下脂肪 赤:内臓脂肪



C:SB/♀/1歳
D:MD/♂/1歳

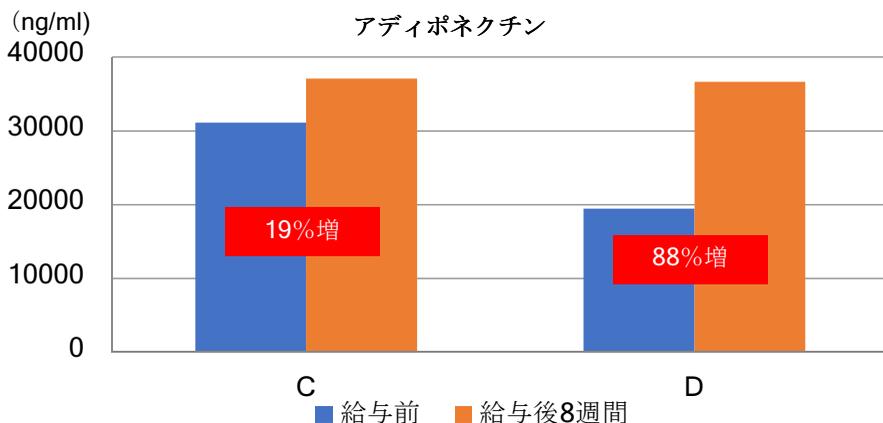


2頭中2頭において、内臓脂肪の減少が認められた。柴犬メス1歳の個体においては、約5.5%減。M.ダックスフンドオス1歳の個体では、約20.5%の減少であった。

結果

C:SB/♀/1歳 D:MD/♂/1歳

アディポネクチン



2頭中2頭において、内臓脂肪と負の相関関係にあるアディポネクチンの増加が認められた。

アディポネクチンの増加が認められたということは、内臓脂肪の減少を示唆しており、CTスキャンの画像解析による脂肪領域のデータの裏付けとなった。

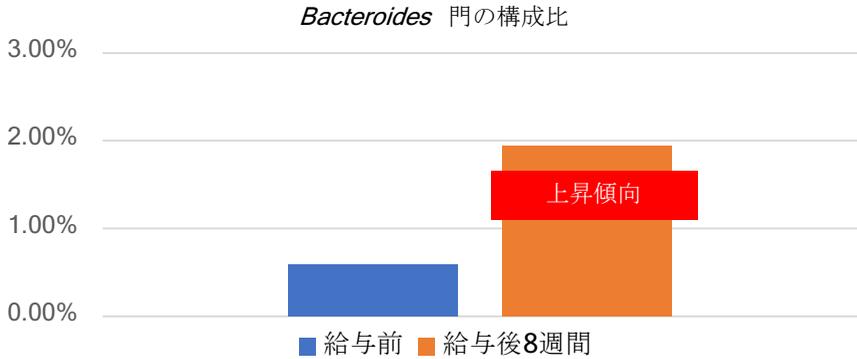
アディポネクチンの増加＝内臓脂肪の減少

アディポネクチンとは...?

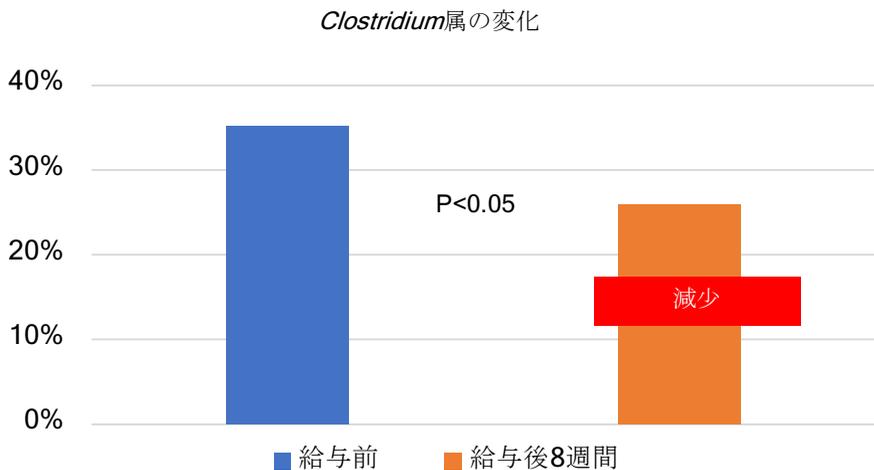
非肥満の小型脂肪細胞から、分泌されるアディポカイン。インスリン抵抗性の改善機能などが認められており、内臓脂肪と負の相関関係が認められている。その他にも、動脈硬化や心臓病などの抑制にも働いているといわれているホルモンの1種。

結果

腸内細菌叢



*Bacteroides*門が増加傾向であった。肥満であるマウスの腸内細菌叢は、健常なマウスと比較して*Bacteroides*門が少ないことが分かっている。健常型の腸内フローラへと変化した。

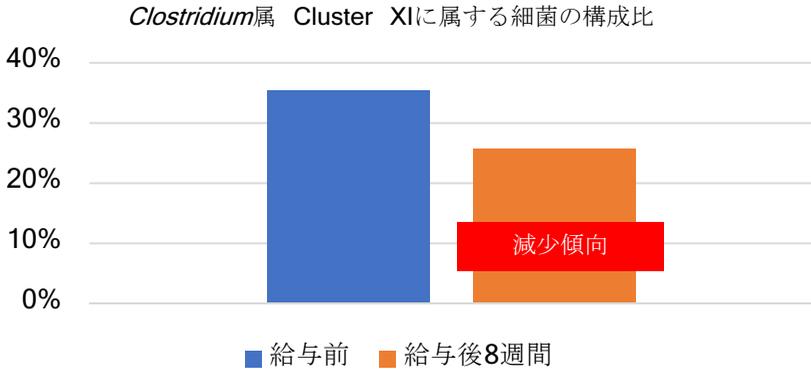


10頭での追加試験においては、*Clostridium*属が減少した。(p<0.05)

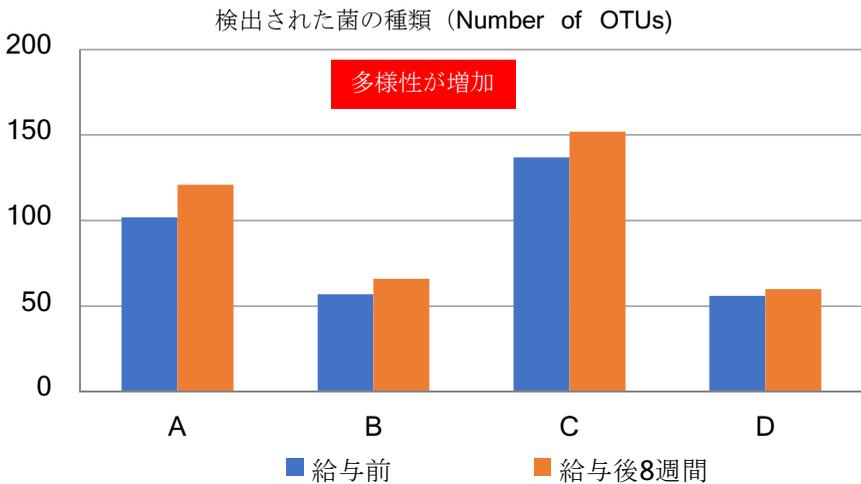
結果

腸内細菌叢～多様性～

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



肥満に関与していることが認められている、***Clostridium*属 Cluster XIに属する細菌が減少傾向**にあった。



生物多様性の指標は、いずれも増加しており、検出される菌種の数を示しているOTU数も増加している。

肥満やアレルギーなどの疾患を持つヒトにおいて、腸内フローラの多様性が低い＝腸内フローラに偏りがあるとの研究報告があり、**多様性の増加は健康維持において有益である。**

本研究のポイント（抜粋）

痩せ型腸内フローラへ改変

N11給与



- *Bacteroides*門が増加傾向
- *Clostridium*属Cluster XI減少傾向
- 多様性が増加傾向

<肥満型腸内フローラ>
肥満マウスでは、*Bacteroides*門が少なく、*Clostridium*属Cluster XIに属する菌が多く、多様性が低下傾向にある。



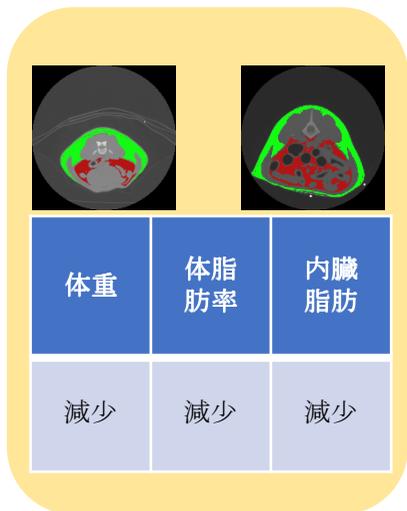
代謝機能へ影響

- アディポネクチンが増加

<アディポネクチン>
内臓脂肪と負の相関関係が認められており、脂質代謝に関わるホルモンの1種。



内臓脂肪の減少



研究成果②

「好熱性細菌 *Bacillus hisashii* の経口給与がウサギの腸内環境に与える影響評価」

給与フード

① 給与方法

- ・ N11 を飲水に添加。
- ・ 給与フードは、(株)スマック社製のプロレーベルメンテナンスを使用。

② 給与頭数・給与期間

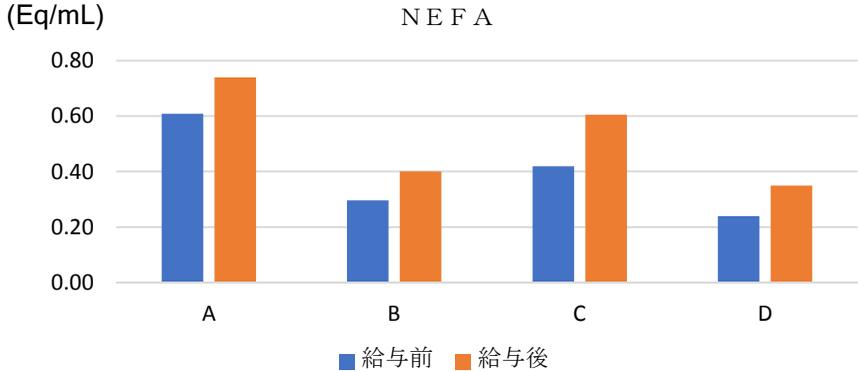
- ・ 4頭 (ネザーランド・ドワーフ2頭/ホーランド・ロップ2頭)
- ・ 給与期間：2ヶ月

分析項目

- ・ 体重
- ・ 腸内細菌叢：盲腸糞及び排泄糞（硬糞）を次世代シーケンサーを用いて16SrRNA配列解析（可変領域V1～V2領域を増幅し、3000リード/サンプル）
- ・ メタボローム解析：盲腸糞及び排泄糞（硬糞）をトリプル四重極ガスクロマトグラフ質量分析計を使用し、代謝物を網羅的に分析。
- ・ 血清成分分析（グルコース・コレステロール・中性脂肪・NEFA）

結果

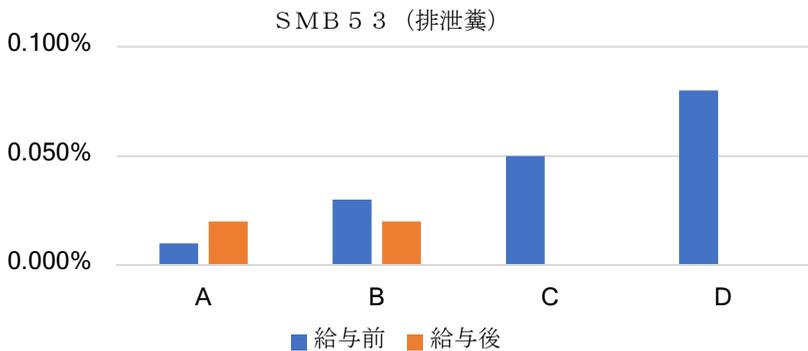
血清成分分析



NEFA（遊離脂肪酸）が全頭において増加傾向にあり、脂質がエネルギーとして使用されていることが示唆された。

腸内細菌叢

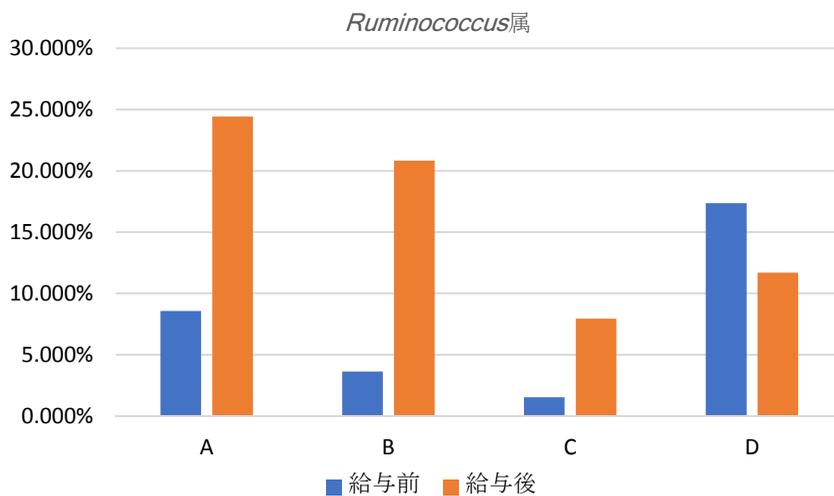
盲腸糞においては、顕著な変化は認められなかった。



肥満や肝がんに関与していることが知られている *Clostridium* 属 Cluster XI に属する *SMB53* が減少傾向にあった。

結果

腸内細菌叢

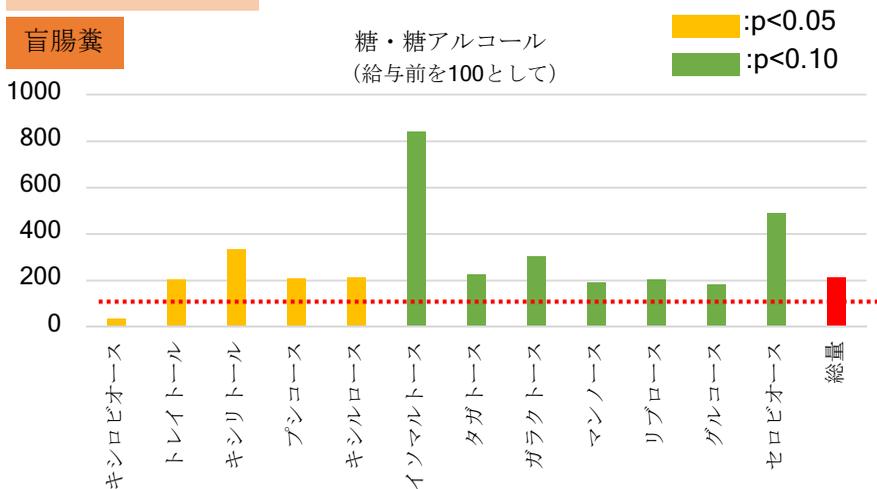


セルロース分解能をもつ、*Ruminococcus*属が増加傾向にあった。

結果

メタボローム解析

盲腸糞



排泄糞



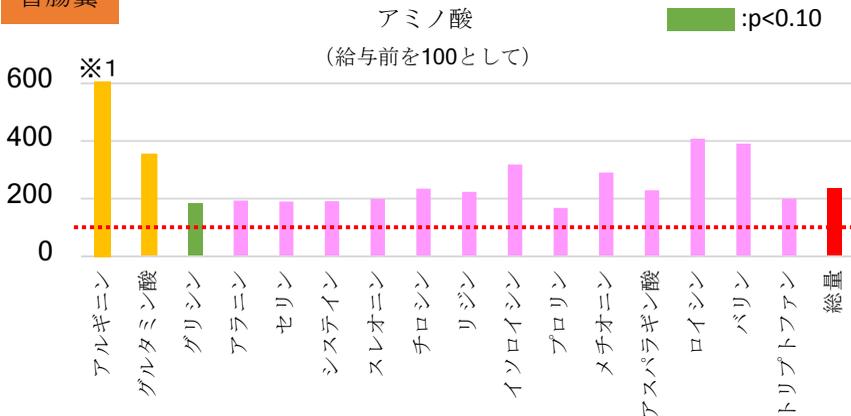
盲腸糞中で糖類は増加傾向にあり、排泄糞においては減少傾向にあり、糖類生成する機能とそれを吸収する能力が高まっていることが示唆された。キシランやセルロース由来と考えられる単糖や二糖類が増加傾向にあり、細胞壁分解する機能が高まっていることが示唆された。

結果

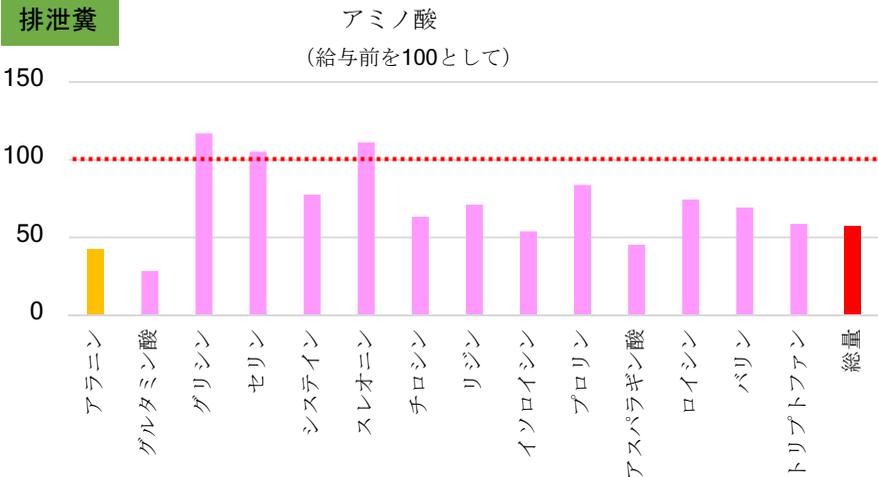
メタボローム解析

※1 アルギニンは給与前検出されなかった。

盲腸糞



排泄糞



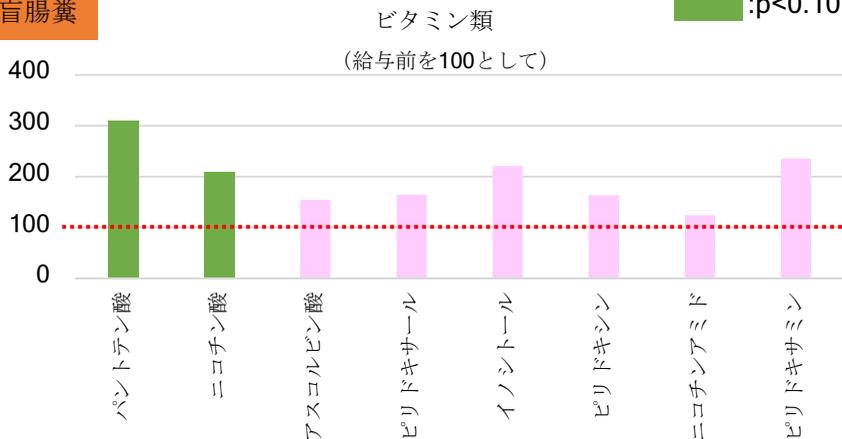
盲腸糞中で、アミノ酸濃度が増加傾向にあり、排泄糞中においては減少傾向にあった。

盲腸中での発酵の際のアミノ酸生成機能が高まり、またその吸収機能も高まっていたことが示唆された。

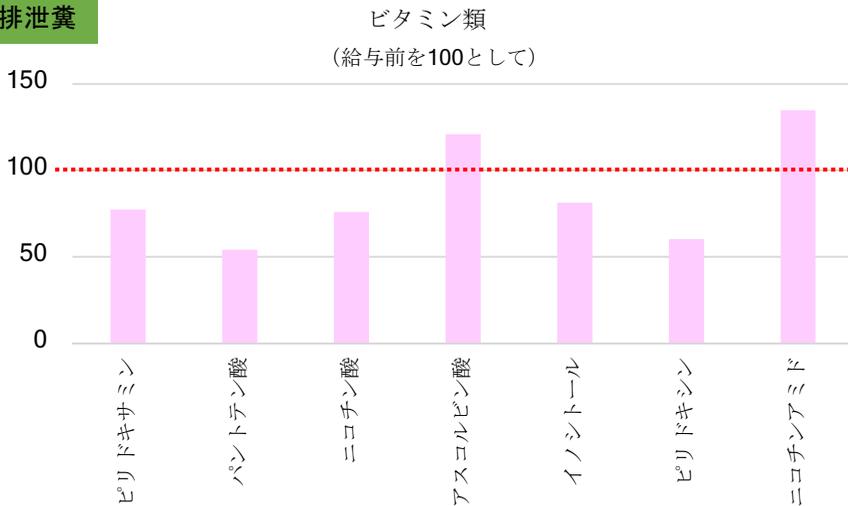
結果

メタボローム解析

盲腸糞



排泄糞

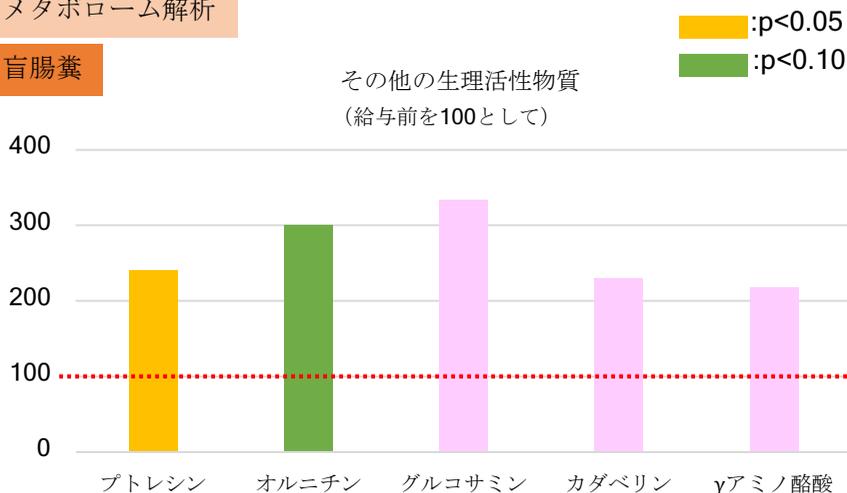


盲腸糞中のビタミン類は有意差はなかったが、増加傾向にあった。
排泄糞中においても、有意差はなかったが減少傾向にあった。

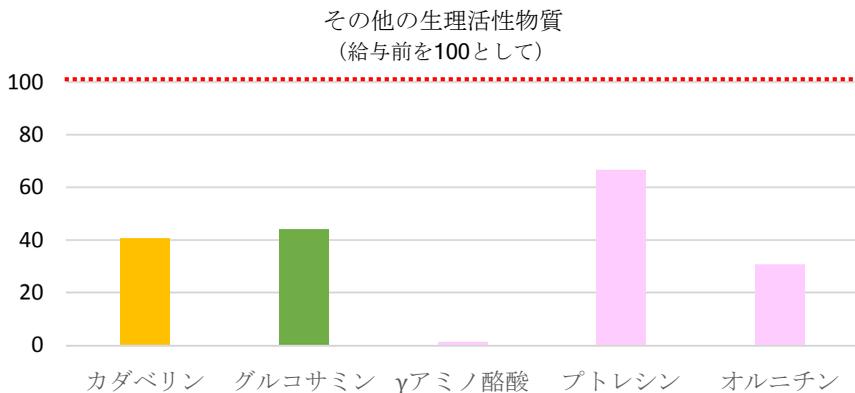
結果

メタボローム解析

盲腸糞



排泄糞



盲腸糞においては、ポリアミンの1種であるプトレシンを主とした生理活性物質の濃度が増加傾向にあった。

排泄糞においては、逆に減少傾向にあった。

ポリアミンは、細胞分裂に関与するとしていわれていると言われており、老化防止や新陳代謝を高める効果があるといわれている。

結果 ～まとめ～

メタボローム解析

	糖類	アミノ酸	ビタミン類	生理活性物質
盲腸糞	↑	↑	↑	↑
排泄糞	↓	↓	↓	↓

メタボローム解析の結果、糖類・アミノ酸・ビタミン類・ポリアミンを主とするその他の生理活性物質の濃度が盲腸糞中で増加傾向になったが、逆に排泄糞においては減少傾向にあった。

以上のことから、N11の給与がうさぎの栄養補給において効率的な環境を作り出していることが示唆された。

おわりに

医療の進歩や衛生環境の改善によって、私たちの寿命はどんどん伸び続けています。その一方で、健やかなシニアライフを満喫することのできる「健康寿命」は、平均寿命と比べて、男性で9年あまり、女性で12年あまり、それぞれ短いとの研究結果が厚生労働省より発表されています。⁸⁾ シニアライフを健康に過ごすためには、病気にかかってからの治療だけではなく、積極的に自らの健康を維持するための取り組み、具体的には、適切な運動と食事による継続的なアプローチがきわめて重要と考えられています。

人間と同様の課題は、そのまま、愛犬たちにも当てはまります。日本でペットとして飼育される愛犬の平均寿命は、**2014年**の東京農工大らの調査では**13.2**歳とされ、**1990年**の同調査における**8.6**歳から大きく伸びています。⁹⁾ シニア犬が健康で快活なシニアライフを過ごすことは、愛犬自身の幸せはもちろん、私たちの幸せにもつながります。大切なことは、愛犬たちは自らが「健康管理」を行うことはできない、ということです。彼らの、彼女たちの健康寿命を伸ばすことができるのは私たち人間なのだ、ということをしつかりと心に刻んだうえで私たちに出来ることを一つひとつ考えていきたい、と思います。

参考文献

- 1)財団法人日本ビフィズス菌センター「腸内共生系のバイオサイエンス」(2011),丸善出版株式会社
- 2)Turnbaugh, P. J. et al : Nature, 444 : 1027-1031,(2006)
- 3) Ridlon, J. et al. : J. Lipid Res, 47 : 241-259 (2006)
- 4) Samuel, B. S. et al. : Proc. Natl, Acad. Sci. USA, 105 : 16767-16772(2008)
- 5)Kumar, DP. et al. : J. Biol. Chem, 291 : 6626-6640 (2016)
- 6)Thomas, C. et al. : Cell Metab, 10 : 167-177 (2009)
- 7)服部正平ほか、「ヒトマイクロバイーム研究最前線」(2016), 株式会社エヌ・ティー・エス
- 8)厚生科学審議会地域保健健康増進栄養部会・次期国民健康づくり運動プラン策定専門委員会 「健康日本21(第二次)の推進に関する参考資料」 p.25
- 9) 日経新聞2016/9/14付「日本のイヌ・ネコ、平均寿命が過去最高に」

ペットの笑顔のそばに



株式会社スマック

〒476-0002

愛知県東海市名和町天王前20番地

電話番号：(052) 603-2732 (代)

FAX番号：(052) 603-5400

<http://www.smack.co.jp/>