

PRESS RELEASE

2024年1月26日
理化学研究所
北里大学
三菱ケミカル株式会社

温暖化対策プロバイオティクスとしての有孢子性乳酸菌

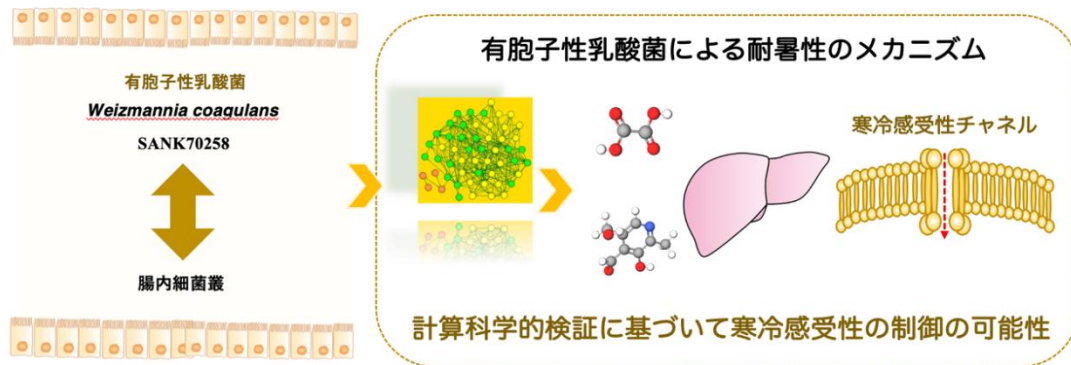
一腸内細菌叢の制御が寒冷感受性に関わる因果構造の一端を解明一

概要

理化学研究所（理研）生命医科学研究センター粘膜システム研究チームの宮本浩邦客員主管研究員、大野博司チームリーダー、環境資源科学研究センター環境代謝分析研究チームの菊地淳チームリーダー、生命医科学研究センターマイクロバイオーム研究チームの須田亙副チームリーダー、北里大学医療衛生学部血液学研究室の佐藤隆司講師、三菱ケミカル株式会社スペシャリティマテリアルズビジネスグループ R&D 本部ライフソリューションズテクノロジーセンター高橋洋介センター長、フード&ヘルスケアグループ食品ニュートリションセクション山田良一リーダーらの共同研究グループは、熱安定性の孢子を持つ有孢子性乳酸菌^[1]の経口摂取が、暑熱条件下での動物モデルの生育阻害を抑制すること、さらにその作用機序の一端を明らかにしました。

地球温暖化は生命への深刻な弊害をもたらすため、人命を守り畜産を管理するために暑熱ストレスを回避する方法論が必要とされます。本研究では、人工的に暑熱条件を管理できる鶏飼育施設において、有孢子性乳酸菌プロバイオティクス^[1]であるワイズマニア・コアグランス (*Weizmannia coagulans* SANK70258)^[2]（以下 W・コアグランス）の機能性を評価しました。その結果、暑熱ストレス下における成長阻害が本プロバイオティクスの投与で引き起こされにくいことが明らかとなりました。さらに、消化器系のマルチオミクス^[3]データを機械学習^[4]などによって分類し、暑熱ストレス下で成長に関与する構造方程式^[5]および因果構造モデルを推測することに成功しました。本研究は、地球温暖化の中での生体の恒常性の維持管理対策の一環として、腸内細菌叢（そう）の制御が重要な位置付けを持ち、有孢子性のプロバイオティクスが有効であることを期待させる成果です。

本研究は、科学雑誌『*Journal of Functional Foods*』オンライン版（1月13日付）に掲載されました。



ワイズマニア・コアグランスが、腸内細菌叢と肝臓に与える作用機序の概念図

背景

地球温暖化は、生態系全体を脅かし、人間の健康と経済活動に深刻な損害を与えています。畜産業では暑熱環境が問題となっており、熱波による畜産動物の死亡率の増加で大きな経済的損失が発生しています（図 1a）。

暑熱環境におけるストレスは、免疫機能を低下させることによって感染症の流行にもつながる可能性があり、抗生物質の使用を助長する要因にもなり得ます。家畜への抗生物質の過剰使用による抗生物質耐性菌の増加は世界的に問題となってきています。世界保健機関（WHO）は、家畜の成長促進のための抗生物質の使用廃止を含む、薬剤耐性（AMR）に対する行動計画を提示しました。また最近の研究では、抗生物質の使用が消化器系からの温室効果ガスであるメタンの発生による弊害に関与する可能性があることが推定されています^{注1)}。

地球温暖化対策と抗生物質使用量の削減は、一見異なる研究分野に見えますが、どちらも人間と動物の健康的なつながりにとって重要です。そのため、暑熱ストレスが動物に及ぼす影響とその対策に関する研究は不可欠であり、行動学および生理学的影響を評価する多くの研究が、家畜を使用して活発に進められています。ただ、そうした研究は現象論的な評価が中心であり、暑熱ストレスの対策としての具体的な飼育方法などの適切な処方箋については模索が続いています。

注1) 2023年4月28日プレスリリース「抗菌薬に依存しない仔牛の飼養管理」

https://www.riken.jp/press/2023/20230428_1/index.html

研究手法と成果

近年、孢子形成プロバイオティクスの医療への応用が期待されています。中でも、W・コアグランス（旧名：バシラス・コアグランス *Bacillus coagulans*）は、伝統的に食品や飼料に用いられてきた有胞子性の乳酸菌として知られています。

そこで本研究では、W・コアグランスが生体に与える効能とその因果構造を、消化器系（腸・肝臓）のオミクス解析データを活用して解明することを目的としました（図 1b）。人工的に制御された暑熱環境施設内（図 1c）で飼育されたブ

ロイラーモデルを用いて、当該有孢子性乳酸菌の投与が暑熱ストレス環境下に対する環境適応性に及ぼす影響を推定しました。その結果、暑熱環境条件下においても成長阻害が認められない飼育成績であることが判明しました（図 1d）。

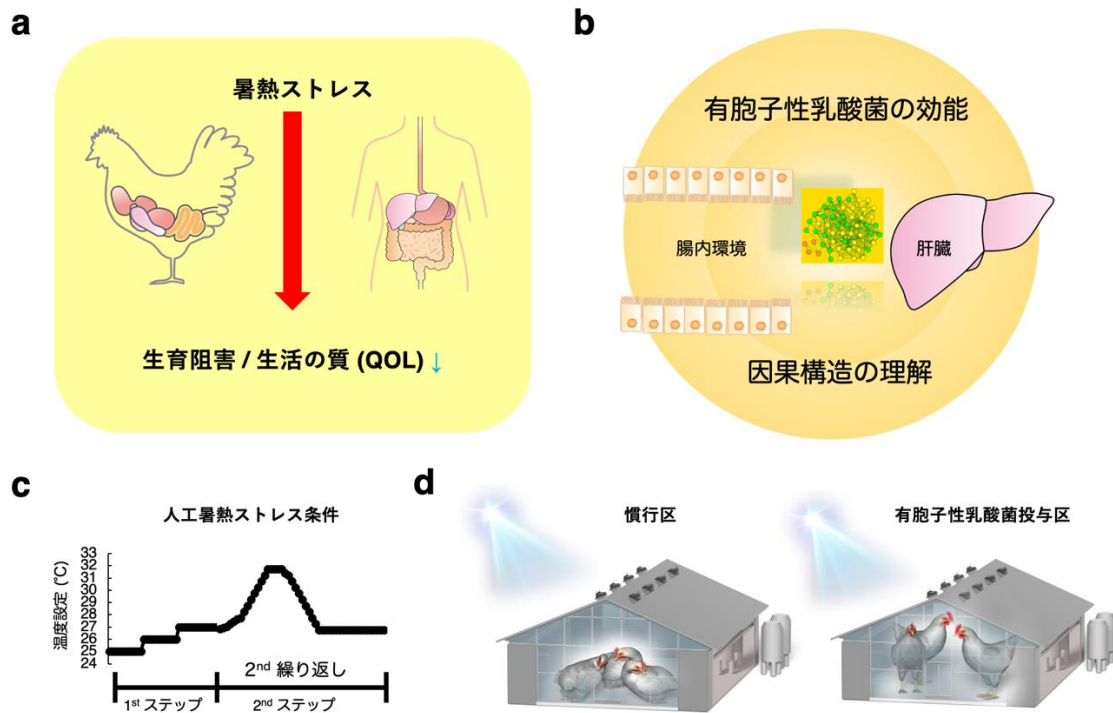


図 1 本研究の目的と実験条件

(a) 暑熱ストレスが家畜やヒトの健康と生活の質に与える影響。(b) W・コアグランスが、腸内細菌叢と肝臓に与える因果構造の理解。(c) 人工暑熱管理施設の温度条件。(d) 当該モデル施設における飼育影響評価。有孢子性乳酸菌を投与された肉鶏（プロイラー）には暑熱ストレス環境下においても成長阻害が認められなかった。

そこで、腸と肝臓のマルチオミクス解析（腸内細菌叢・腸内代謝物・肝臓代謝物の網羅的解析）を実施しました。相関解析^[6]、エンリッチメント解析^[6]に基づいて、暑熱ストレス環境下における 2 種類の機械学習アルゴリズム（ランダムフォレスト・勾配ブースティング法）を適用し、オミクスデータから暑熱耐性に関わる特徴的な重要因子候補群を抽出しました（図 2a）。次に、これらの重要因子候補群のグループとして、統計学的に最適値を示すネットワーク構造が、共分散構造解析^[5]と線形非ガウス非巡回モデル^[7]によって予測されました（図 2b）。

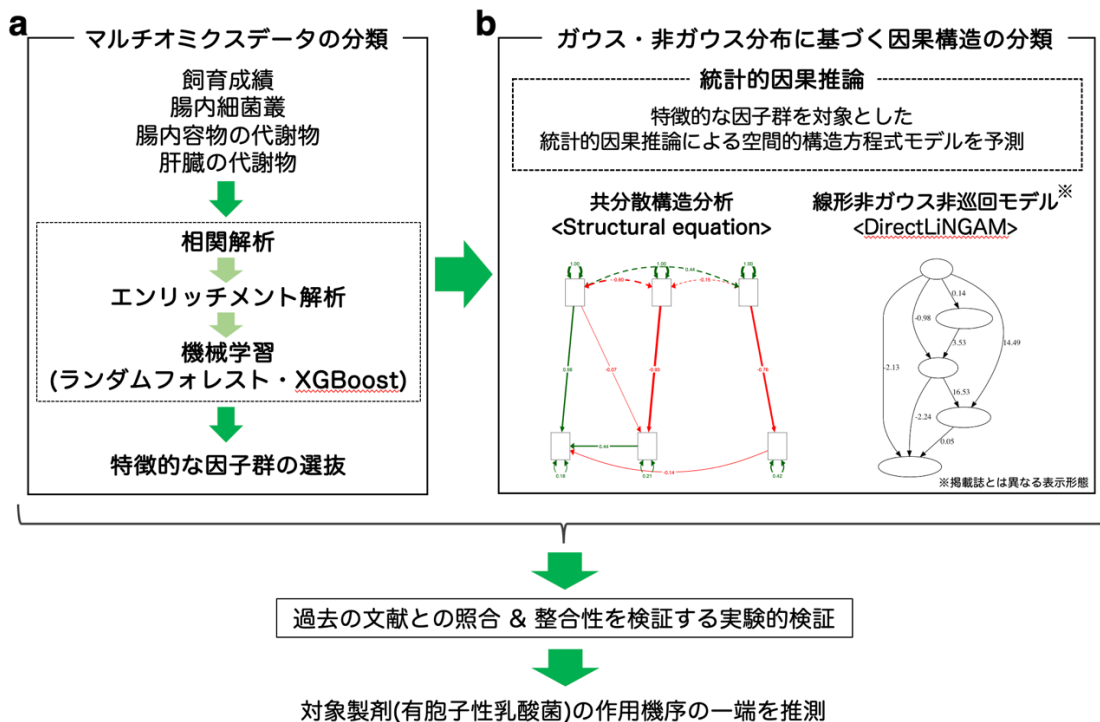


図2 本研究の方法と手順

(a) 通常温度ならびに暑熱ストレス環境下で管理した肉鶏の飼育成績を取得した上で、マルチオミクス解析として、腸内の細菌叢の解析、腸内容物と肝臓のメタボローム解析を実施し、網羅的なデータを取得した。さらに、相関解析ならびにエンリッチメント解析によって、代謝系全体の相対的な評価を実施している。(b) その上で、データ分類を目的として、複数の機械学習(ランダムフォレスト・勾配ブースティング法)によって特徴的な因子群を選抜し、次に、それらの特徴的な因子群の関係性を二つの方法(共分散構造分析・線形非ガウス非巡回モデル解析)によって空間的因果構造を計算している。因果構造モデルに基づく情報から、過去の文献との照合を進め、実験的検証を付与した上で、作用機序の一端に関わる因果構造を推測している。

その結果、当該有孢子性乳酸菌の投与効果で知られている糖質代謝の改善などの傾向とともに、新たに腸内ビタミン B6 (ピリドキサル) -肝臓シュウ酸の代謝ネットワークのバランスが、寒冷感受性の耐性に関与する因子群として予測されました(図 3a)。さらに、これらのネットワークのバランスには、腸内細菌叢として特にシュドモナス (*Pseudomonas*) の存在比率が関与しており、その存在比率が高まると暑熱ストレスの悪影響を助長することが予測されました(図 3b)。

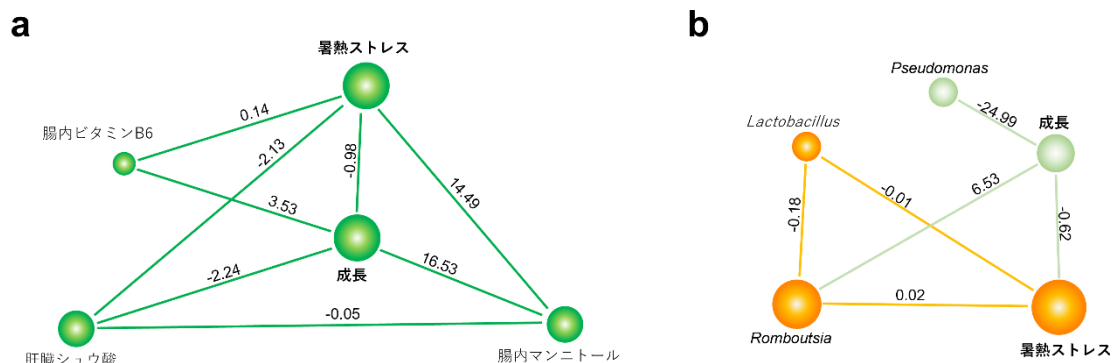


図3 因果構造の概要

(a) 腸・肝臓の代謝物レベルでの因果構造。暑熱ストレスによって成長阻害（影響度-0.98）が認められ、肝臓のシュウ酸による阻害（影響度-2.24）が併せて検証されている。特に腸内のビタミン B6（ピリドキサーール）は成長促進（影響度 3.53）の効果が予測されている。(b) 腸内細菌叢レベルでの因果構造。暑熱ストレスによって成長阻害に関わる因子としては、シュードモナス (*Pseudomonas*)（影響度-24.99）が最も強く、ロンボウシア (*Romboutsia*) は成長促進（影響度 6.53）の効果が予測されている。数字にある「-」は成長の阻害傾向、「-」がないのは促進傾向を示している。数値が大きいほどそれぞれの影響が大きい。色合いの違いは計算上のグループの違いを示す。

前述のように、暑熱ストレスは動物の発育阻害や生活の質 (QOL) に悪影響を及ぼします。しかし、本研究の結果から、W・コアグランスの経口投与は、暑熱耐性の分子メカニズムの一部を制御する可能性があることが予測されました。

京都大学の研究グループの報告^{注2)}では、寒冷センサーとなる TRPA1^[8]（細胞膜チャネルの一つ）に対して、シュウ酸の存在が寒冷感受性を高めることを示しています（図 4a）。

このような寒冷感受性の制御メカニズムを背景にして、本研究の成果を考察すると、腸内のビタミン B6 の増加が、肝臓のシュウ酸の濃度を抑制している可能性が予測されました。ビタミン B6 が関わる代謝カスケードでは、シュウ酸を増加させることなく、グリシンを生成させることがすでに知られています。シュードモナス由来のピリドキサーールキナーゼによってビタミン B6 の濃度は減少します。

従って、本研究で予測された因果構造は寒冷感受性の制御メカニズムに矛盾しないカスケードであることが分かりました（図 4b）。W・コアグランスが腸内細菌叢や炭水化物、ビタミン B6 の代謝に影響を与えます。特に、シュードモナスが少なくなることによってビタミン B6 が減少しないことにより、その後、肝臓のシュウ酸が減少します。それによって、プロリン水酸化酵素 (PHDs^[9]) を介し、低酸素誘導因子の一つである HIF1 α ^[10]や活性酸素種の ROS^[11]の関わるストレス条件を回避し、寒冷感受性が下がります。これらの結果として、W・コアグランスの経口投与によって暑熱耐性が上がることが予測されています。

つまり、この因果構造による仮説は、寒冷感受性が弱まるために暑熱ストレスを回避し、成長促進につながったというものです。実際、腸内ビタミン B6-肝臓シュウ酸の代謝ネットワークに関与し得る代謝物の挙動は、当該仮説に矛盾しない傾向であることが確認されました。TRPA1 ならびに HIF1 α のタンパク質レ

ベルでの挙動には有意な変化が認められませんでした。従って、腸・肝循環に関わる細菌叢と腸内ビタミン B6-肝臓シユウ酸の代謝ネットワークのバランスの違いが W・コアグランスによってもたらされていることが示唆されました。

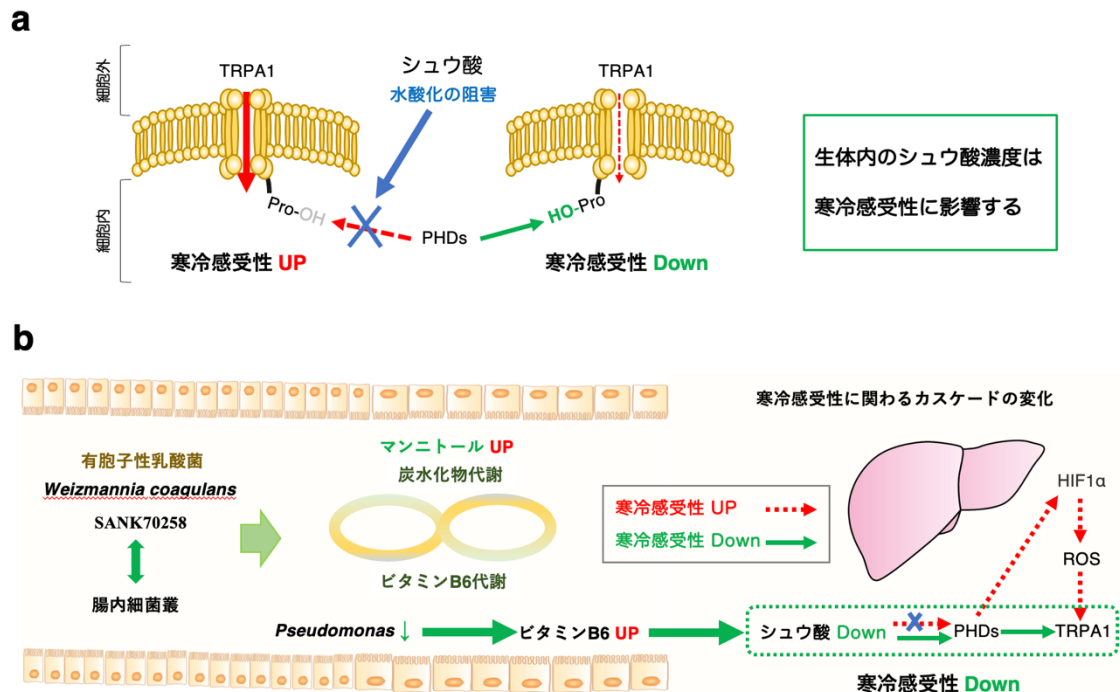


図 4 因果構造モデルと既知の文献から予測される作用機序モデル

(a) シユウ酸による寒冷感受性の制御メカニズムの概念図。(b) 本研究で予測された因果構造モデル。PHDs (prolyl hydroxylases)：プロリン水酸化酵素、HIF1α (Hypoxia-inducible factor-1alpha)：低酸素誘導因子の一つ、ROS (reactive oxygen species)：活性酸素種。

注 2) Takahito Miyake et.al. (2016). Cold sensitivity of TRPA1 is unveiled by the prolyl hydroxylation blockade-induced sensitization to ROS. *Nature Communications*, 7: 12840

今後の期待

本研究では、W・コアグランスを対象として、暑熱環境下におけるストレス回避のための潜在的な因果構造を予測するとともに、実験的な検証を加えました。本研究成果は、腸内細菌叢の制御による暑熱耐性の分子機構の一端を示すものです。それと同時に、有孢子性乳酸菌のプロバイオティクスとしての新たな側面を見いだしたことになります。

このようなプロバイオティクスにおける暑熱耐性機能の発見は、畜産分野においては、地球温暖化対策の一環として効率的な飼育方法の改善につながる成果です。また、暑熱ストレスによって免疫系への弊害が生じる、抗生物質に頼る飼育方法の回避にもつながります。中でも肉鶏は短期間で飼育できるため、飼料効率が極めて高く、タンパク源として国際的に有望視されています。従って、本研究の成果は国際的な食糧問題の解決と気象変動対策という双方の視点において重要であるといえます。

温度ストレスへの環境適応は、鳥類や哺乳類のような恒温動物のみならず、水産動物のような変温動物においても重要です。水産業界では、自然界の海水を循環させている陸上養殖場などで知られていますが、暴風雨接近などによる急激な海水温変化があると、摂餌反応が落ち、水温適応にまでにダメージが出てきます。従って、高温/低温変動に適応する方法論の一つとして研究が進展すれば、水産分野においても重要な技術となります。陸上養殖のような最先端技術においても、水温調節のためのエネルギー消費を少なくすることができ、温室効果ガス削減につながります。

さらに、医学の分野では温暖化に伴う熱中症対策にも有用であると考えられます。また、体内のシュウ酸は、さまざまな疾患に関与する分子であることが知られています。従って、ヒトを対象とした消化器病学の視点においても、腸内細菌叢の制御を起点としてプロバイオティクスの利用を統合的に理解する一助となることが期待されます。

将来的にはヒトを対象とした健康社会ならびに世界のタンパク源の確保の視点などから、国際連合が定めた17項目の「持続可能な開発目標 (SDGs) [12]」のうち「2. 飢餓をゼロに」、「13. 気象変動に具体的な対策を」への貢献が期待されます。

論文情報

<タイトル>

A thermoprotective probiotic function by thermostable lactic acid bacteria and its causal structure

<著者名>

Kayo Ito, Hirokuni Miyamoto, Makiko Matsuura, Chitose Ishii, Yumiko Nakanishi, Wataru Suda, Takashi Satoh, Fuyuko Honda, Atsushi Kurotani, Naoko Tsuji, Teruno Nakaguma, Chie Shindo, Toshiyuki Ito, Ryounosuke Michibata, Ryouichi Yamada, Yosuke Takahashi, Hiroaki Kodama, Jun Kikuchi, and Hiroshi Ohno

<雑誌>

Journal of Functional Foods

<DOI>

[10.1016/j.jff.2024.106001](https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106001)

補足説明

[1] 有孢子性乳酸菌、プロバイオティクス

有孢子性は、孢子が殻に覆われた熱安定性の孢子を持つ性質を意味しており、有孢子性乳酸菌は、通常の乳酸菌に比べて熱に強い特徴がある。プロバイオティクスとは健康に良い影響を及ぼす微生物（主に細菌）を指し、一般的には乳酸菌やビフィドバクテリウムなどの微生物がプロバイオティクスとして使用されている。

[2] ワイズマニア・コアグランス (*Weizmannia coagulans* SANK70258)

中山大樹博士（山梨大学名誉教授）とともに、世界的な発酵醸造研究の権威であり、「酒の博士」といわれた坂口謹一郎博士（元理研副理事長/東京大学名誉教授）が発見

した有胞子性乳酸菌である。その後の研究により、腸まで届く乳酸菌の特徴のみならず、腸内の代謝機能の制御や腸内感染症の抑制傾向などのさまざまな効能が確認されており、三菱ケミカル株式会社において製剤化されている。

[3] マルチオミクス

腸内細菌叢ならびに代謝物などを含む網羅的な解析。

[4] 機械学習

学習により自動で改善するコンピュータアルゴリズム。本研究では、ランダムフォレストと勾配ブースティング法を用いた。ランダムフォレストは、アンサンブル学習のバギングの一種で、並列に学習した複数のデータ集合の規則性（決定木）から、類似性の高い組み合わせを予測させる方法の一つ。勾配ブースティング法は、少しずつ学習データの精度を上げていく機械学習のうちのブースティングと呼ばれる手法。

[5] 構造方程式、共分散構造解析

構造方程式は、任意の因子間の因果関係を計算的に表現する方法。複数の構成因子間の関係性を統計的に評価する手法の一つ。共分散構造解析は、共分散という数値を利用して、複数の構成因子間の関係性やその程度を解析するもので、構造方程式モデリングとも呼ばれる。本研究では、最尤（さいゆう）法（実験データから得られた母集団に基づく一般的な確率分布を推定する方法）を採用。例えば $y=ax+b$ の関係（回帰）が二つ以上存在するモデル（重回帰モデル）によって最適な構造方程式を導き出した。

[6] 相関解析、エンリッチメント解析

相関解析は、2種類のデータ群から双方の関係性を示す数値指標（相関係数）を算出し、2群の関係性の強さを解釈する方法。エンリッチメント解析は、網羅的な代謝物データあるいは遺伝子発現データから顕著に増加する因子群を選抜した上で、既知の生物学的経路（代謝マップや遺伝子発現パターンなど）と照合して数値的に類型化する方法。

[7] 線形非ガウス非巡回モデル

非ガウス分布を形成する独立因子に対して、因果関係を推察する統計処理。ここでは、構造方程式として、DirectLiNGAM を用いている。

[8] TRPA1

一過性受容体電位アンキリン1（TRPA1）は、細胞膜チャネルの一つであり、寒冷を感知するセンサーの役割を果たすことが知られている。

[9] PHDs

プロリン水酸化酵素群を示している。寒冷センサーである TRPA1 の制御分子の一つであり、シュウ酸によって制御され、寒冷感受性を高める。PHDs は prolyl hydroxylases の略。

[10] HIF1 α

低酸素誘導因子の一つであり、さまざまなストレス反応に関与するタンパク分子の一つでもある。HIF1 α は Hypoxia-inducible factor-1alpha の略。

[11] ROS

活性酸素種を示しており、さまざまなストレス反応に関与する。ROS は reactive oxygen species の略。

[12] 持続可能な開発目標 (SDGs)

2015年9月の国連サミットで採択された「持続可能な開発のための2030アジェンダ」にて記載された国際目標。持続可能な世界を実現するための17のゴールから構成され、地球上の誰一人として取り残さないことを誓っている。SDGsは発展途上国のみならず、先進国自身が取り組むユニバーサル(普遍的)なものであり、日本としても積極的に推進している。

共同研究グループ

理化学研究所

生命医科学研究センター 粘膜システム研究チーム

チームリーダー 大野博司 (オオノ・ヒロシ)

客員主管研究員 宮本浩邦 (ミヤモト・ヒロクニ)

(千葉大学大学院 園芸学研究院 連携客員教授、株式会社サーマス、日環科学株式会社)

研究員(研究当時) 中西裕美子 (ナカニシ・ユミコ)

環境資源科学研究センター 環境代謝分析研究チーム

チームリーダー 菊地 淳 (キクチ・ジュン)

特別研究員(研究当時) 黒谷篤之 (クロタニ・アツシ)

(現 農業・食品産業技術総合研究機構 基盤技術研究本部 農業情報研究センター データ研究推進室)

生命医科学研究センター マイクロバイオーム研究チーム

副チームリーダー 須田 亙 (スダ・ワタル)

テクニカルスタッフ I 進藤智絵 (シンドウ・チエ)

千葉大学大学院 園芸学研究院

教授 児玉浩明 (コダマ・ヒロアキ)

北里大学 医療衛生学部 血液学研究室

講師 佐藤隆司 (サトウ・タカシ)

千葉県畜産総合研究センター

研究員(研究当時) 伊藤香葉 (イトウ・カヨ)

(現 千葉県印旛農業事務所)

研究員(研究当時) 本多芙友子 (ホンダ・フユコ)

(現 千葉県中央家畜保健衛生所)

京葉ガスエネルギーソリューション株式会社

部長 井藤俊行 (イトウ・トシユキ)

株式会社サーマス

副主任研究員 松浦真紀子 (マツウラ・マキコ)

副主任研究員	辻 直子	(ツジ・ナオコ)
研究員	石井千歳	(イシイ・チトセ)
研究員	中熊映乃	(ナカグマ・テルノ)
(日環科学株式会社)		

三菱ケミカル株式会社

スペシャリティマテリアルズビジネスグループ

R&D 本部 ライフソリューションズテクノロジーセンター

センター長	高橋洋介	(タカハシ・ヨウスケ)
-------	------	-------------

フード&ヘルスケアグループ食品ニュートリションセクション

リーダー	山田良一	(ヤマダ・リョウイチ)
------	------	-------------

研究員	道端良之介	(ミチバタ・リョウノスケ)
-----	-------	---------------

謝辞

本研究においては、千葉大学大学院園芸学研究科修士課程学生（研究当時）の岩田菖子氏による解剖補助、ならびに農場試験のための管理については、千葉県畜産総合研究センターの皆様（藤崎忠彦氏、高橋康祐氏、唯義章氏、後藤治一氏、岡田浩子氏、高橋圭二氏、脇雅之氏など）による多大なるご協力を賜っております。ここに深謝申し上げます。

発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせください。

理化学研究所

生命医科学研究センター 粘膜システム研究チーム

チームリーダー	大野博司	(オオノ・ヒロシ)
---------	------	-----------

客員主管研究員	宮本浩邦	(ミヤモト・ヒロクニ)
---------	------	-------------

環境資源科学研究センター 環境代謝分析研究チーム

チームリーダー	菊地 淳	(キクチ・ジュン)
---------	------	-----------

生命医科学研究センター マイクロバイオーム研究チーム

副チームリーダー	須田 亙	(スダ・ワタル)
----------	------	----------

北里大学 医療衛生学部 血液学研究室

講師	佐藤隆司	(サトウ・タカシ)
----	------	-----------

三菱ケミカル株式会社

スペシャリティマテリアルズビジネスグループ

R&D 本部 ライフソリューションズテクノロジーセンター

センター長	高橋洋介	(タカハシ・ヨウスケ)
-------	------	-------------

フード&ヘルスケアグループ食品ニュートリションセクション

リーダー	山田良一	(ヤマダ・リョウイチ)
------	------	-------------



<機関窓口>

理化学研究所 広報室 報道担当

Tel: 050-3495-0247

Email: ex-press [at] ml.riken.jp

学校法人北里研究所 総務部広報課

Tel: 03-5791-6422

Email: kohoh [at] kitasato-u.ac.jp

三菱ケミカルグループ株式会社 コーポレートコミュニケーション本部

メディアリレーション部

Tel: 03-6748-7140

お問い合わせフォーム:

<https://www.mcgc.com/contact/contact/index.php?code=newsrelease>

※上記の[at]は@に置き換えてください。
