

# ラット盲腸内細菌叢に及ぼす プレバイオティクス及びプロバイオティクスの効果

二ノラット・スクソムチープ<sup>1</sup>、石塚 敏<sup>2</sup>、浅野行蔵<sup>3</sup>、横田 篤<sup>4</sup>、富田房男<sup>3</sup>

<sup>1</sup>NOASTEC財団、<sup>2</sup>北大院・農・食品栄養学分野、

<sup>3</sup>北大院・農・応用菌学分野、<sup>4</sup>北大院・農・微生物資源生態学分野

## 1 背景・目的

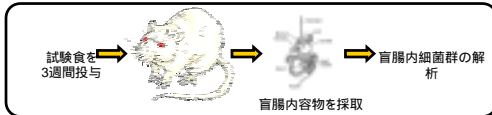
*Bifidobacterium breve* JCM 1192のコール酸取り込み活性が明らかにされている  
ラフィノースには*B. breve* JCM 1192の増殖促進効果がある

- ラットを用いたシンバイオティクスの*in vivo*試験
  - ラフィノース(プレバイオティクス)と*B. breve* JCM 1192(プロバイオティクス)の同時投与(シンバイオティクス)がラット盲腸内微生物叢に及ぼす影響
  - 2つの分子生物学的手法(FISH, T-RFLP)による菌叢解析について調べた。

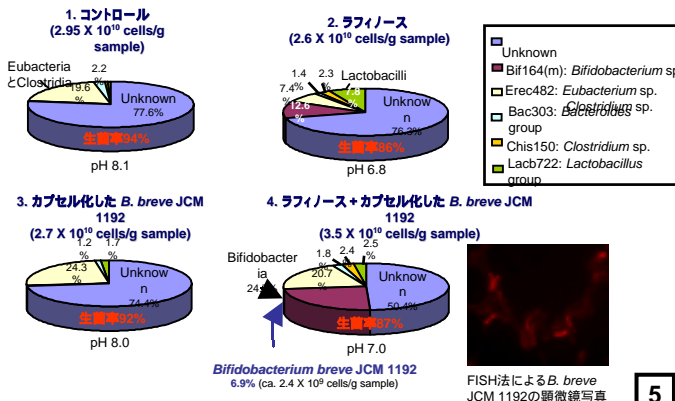
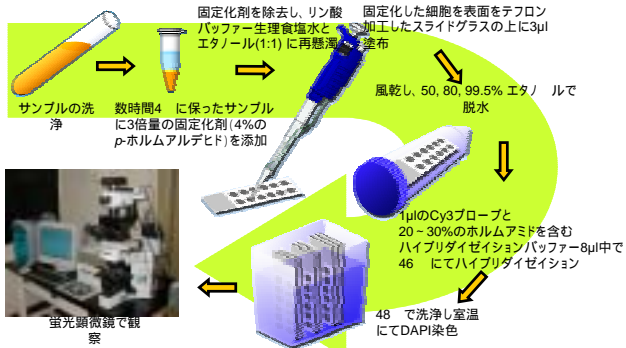
## 2 ラットの飼育とサンプル調製

実験群	試験飼料
1	基本食 + アビセル
2	基本食 + アビセル+ラフィノース
3	基本食 + アビセル+カプセル化 <i>B. breve</i> JCM 1192
4	基本食 + アビセル+ラフィノース+カプセル化 <i>B. breve</i> JCM 1192

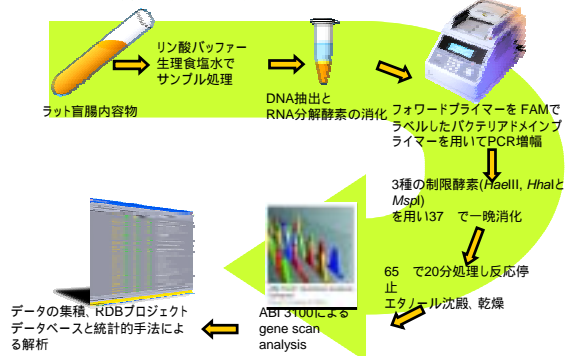
飼料1kgに対して、アビセル(結晶セルロース)50g、ラフィノース30g、カプセル化*B. breve* JCM 1192 30g (5.7 x 10<sup>7</sup> 生菌/g カプセル、森下仁丹株式会社)を添加した



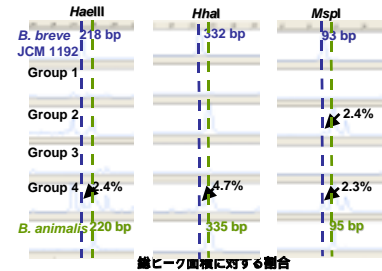
## 3 Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)法によるラット盲腸内の細菌数の測定



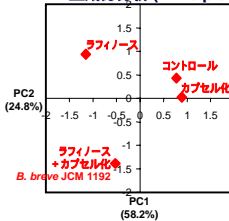
## 4 Terminal Fragment Length Polymorphism(T-RFLP)法によるラット盲腸内細菌の解析



### ABI 3100を用いたT-RFLP法によるラット盲腸内細菌の解析



### 主成分分析 (Principle Component Analysis)



- 主成分分析(Principle Component Analysis, PCA)によって盲腸サンプル内の複合細菌群の類似性を説明することができる
- PC1は細菌群に対するラフィノース(プレバイオティクス)の影響を示す
- PC2は細菌群に対するラフィノースと*B. breve* JCM 1192(シンバイオティクス)の影響を示す
- SPSSソフトウェアを用いて解析した

### ラフィノース投与群(グループ2)における主要ピークのTAP T-RFLPによる解析

変化	菌株	制限酵素		
		HaeIII	HhaI	MspI
消失した株	<i>Lactobacillus murinus</i>	209	218	532
	<i>Eubacterium hallii</i>	199	150	182
	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	235	152	259
	<i>Ruminococcus hansenii</i>	232	151	259
	<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	201	152	184
	<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	199	151	181
増加した株	<i>Bifidobacterium animalis</i>	221	335	98
	<i>Clostridium xylanolyticum</i>	235	152	184
	<i>Ruminococcus productus</i>	235	150	182
	<i>Ruminococcus productus</i>	232	150	182
	<i>Ruminococcus obeum</i>	234	151	183
		232	150	182

TAP T-RFLP: 制限断片のピークの組み合わせを菌種と関連付けるソフトウェア (<http://rdp.cme.msu.edu/html/TAP-trflp.html#program>)  
黒字: <http://rdp.cme.msu.edu/html/TAP-trflp.html#program>より得た値  
青字: 実測値

## 5 結論

- ラフィノース投与群(グループ2)では*Lactobacillus*属と*Bifidobacterium*属の比率が増加した
- *B. breve* JCM 1192とラフィノースを同時添加群(グループ4)において最も*Bifidobacterium*属の比率が高かった
- シンバイオティクスの相乗効果が確認された
- ラフィノースとカプセル化*B. breve* JCM 1192を同時に添加した場合(サンプル4)についてのみ、盲腸内の*B. breve*の増殖が認められ、総生菌数の約7%に達した シンバイオティクス効果が認められた
- FISHとT-RFLPの結果はよく符合した