

高齢マウスの腸内に蓄積したマイクロプラスチックが 腸内細菌叢および血中マーカーに及ぼす影響

[1] 組織

代表者：清水 宗茂

(東海大学海洋学部水産学科)

対応者：オガワ 淑水

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：加藤 満帆

(東海大学海洋学部水産学科)

研究費：130,000 円

[2] 研究経過

地球環境問題の深刻化に伴い、海洋プラスチックごみへの関心が急速に高まっている。特にマイクロプラスチック (MP) については、分析技術の向上により、従来は検出困難であった 200 μm 以下の微細な粒子の検出が可能となった。その結果、魚介類、食卓塩、缶詰、ミネラルウォーターなど、ヒトが日常的に摂取する様々な食品群から MP が検出されるとともに、ヒトの糞中にもその存在が確認されている。これにより、MP は地球環境のみならず、生体環境に対しても深刻な影響を及ぼすリスクとして懸念されている。

このような背景のもと、加齢に伴う腸管バリア機能の低下などが認められる高齢者において、継続的な MP 摂取が生体に及ぼす影響についての知見は乏しく、対策の立案が困難な状況にある。

我々はこれまでに、若齢および老齢マウスに MP 添加食を給餌する実験を行ったところ、老齢マウスは若齢マウスと比較して糞重量が多く、MP 排泄率も高い傾向を示すことを明らかにした。さらに、MP とキトサンを共添加することで、MP のみと比べて、糞重量の増加および MP 排泄率の上昇傾向が確認された。しかしながら、マウスの週齢やキトサン摂取の有無が MP 排泄に違いを認める作用機序の検討には至っていない。

そこで本研究では、MP およびキトサン投与前後におけるマウスの腸内細菌叢を解析することにより、MP 摂取に伴う腸内環境の変化、ならびに老齢マウスと若齢マウス間における腸内環境の差異を明らかにすることを目的とした。

本実験の概要について以下に記す。

分析サンプルは、これまでの *in vivo* 実験にて回収・冷凍保存していた、24 ヶ月齢および10週齢の C57BL/6

マウスの糞を使用した。

すなわち、実験開始時 (Day 1) および、以下に記載する 2 種類の飼料を 14 日間にわたり給餌した後に採取した糞 (Day 15) を解析対象とした。給餌条件は、AIN-93M に平均粒径 50 μm の MP を添加した「MP 添加飼料 (飼料 5 g あたり MP 3,000 個を含有) (コントロール食)」または、同飼料のコーンスターチの一部をキトサンに置換した「キトサン添加 MP 飼料 (キトサン食)」の 2 条件とした。さらに、若齢および老齢マウスを用いて実施したため、群構成は、コントロール食・若齢群 (CY 群)、キトサン食・若齢群 (KY 群)、コントロール食・老齢群 (CO 群)、キトサン食・老齢群 (KO 群) の 4 群とした (各群 4 匹)。

採取した糞からのゲノム DNA 抽出には NucleoSpin® DNA Stool (タカラバイオ株式会社) を使用し、網羅的シーケンス解析はゲノムリード株式会社に委託した。取得したデータのバイオインフォマティクス解析は、東海大学において QIIME 2 を用いて実施した。

研究活動状況の概要

2023 年 11 月および 2024 年 12 月に加齢研へ赴き、マウスの飼育管理ならびにサンプルの採取を実施した。回収した糞サンプルからの DNA 抽出は、東海大にて行い、その後の次世代シーケンス解析はゲノムリード株式会社へ委託した。取得したデータのバイオインフォマティクス解析は、東海大にて QIIME 2 を用いて実施した。また、研究期間中は必要に応じて遠隔での進捗報告を行い、連携を図った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

腸内細菌叢の多様性および構成割合の比較を行うため、16S rRNA アンプリコンシーケンスデータに基づく解析を実施した。

サンプル内多様性 (α 多様性) の指標として、系統学的な豊富さを示す「Faith's Phylogenetic Diversity (Faith's PD)」および種の豊富さと均等度 (Evenness) の双方を加味した「Shannon 多様性指数 (Shannon entropy)」を算出し、群間で比較した (図 1、図 2)。

CO 群および CY 群においては、実験開始前 (pre) と比較して 14 日間の MP 添加食給餌後 (post) に、Faith's PD および Shannon 指数の双方が上昇する傾向

が認められた。これは、MP の単独摂取が老齢・若齢を問わず、腸内細菌叢の構成種を多様化させ、かつ均等度を増加させていることを示唆する結果であった。

一方、KO 群およびKY 群では、月齢により異なる動態が観察された。KY 群では、Faith's PD の顕著な上昇がみられた一方で、Shannon 指数は高値のまま安定して推移していた。特筆すべき点として、KO 群では、Faith's PD の給餌前後での変動が比較的小さかったにもかかわらず、Shannon 指数は給餌後に明らかな低下傾向（中央値が 5.8 から 5.2 へ減少）を示した。これは、老齢マウスへのキトサン投与が新たな菌種の獲得（系統的多様性の増加）には大きく寄与しない一方で、特定の菌群の占有率を相対的に拡大させ、腸内細菌叢全体の均等度を低下させた可能性を示唆するものと考えられた。

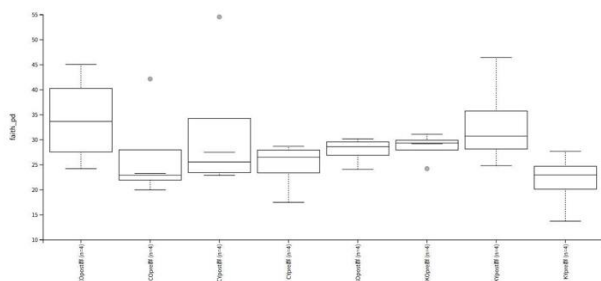


図1 腸内細菌叢の Faith's PD 指数

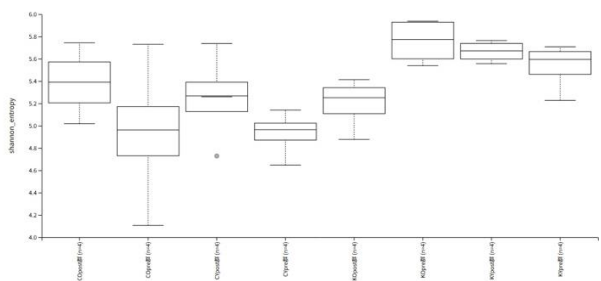


図2 腸内細菌叢の Shannon 指数

次に、これらの多様性変化の要因を探るため、分類群レベル 5 (科レベル: Family) における各サンプルの相対存在比 (Relative Frequency) を比較した (図 3)。全群を通じた共通の傾向として、*Bacteroidota* 門に属する *Muribaculaceae* 科 (グラフ上部の薄緑色領域) が最優占種として大部分を占めていることが確認された。

給餌前後の群集構造の推移を観察すると、マウスの月齢および飼料条件に特有の構造変化が引き起こされていることが明らかとなった。例えば、CY 群においては、給餌後に特定の分類群 (赤紫色の領域) の相対存在比が急激に拡大するなど、目視においても明確な群集構造の変化が確認された。また、KO 群をはじめとする他群においても、*Lachnospiraceae* 科など *Firmicutes* 門に属する細菌群の占有率に細かな増減が認められた。

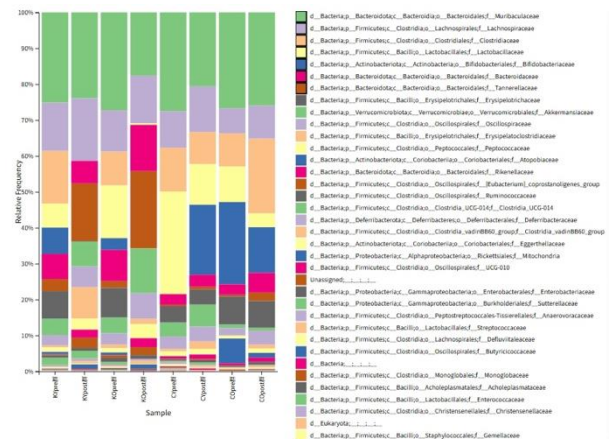


図3 飼料給餌前後における腸内細菌叢の相対存在比 (科レベル)

以上の結果を総括すると、14 日間の MP 単独摂取は、老齢・若齢を問わず腸内細菌叢の系統的多様性 (Faith's PD) と均等度 (Shannon 指数) の双方を上昇させ、腸内フローラ全体を多様化させる (あるいは攪乱する) 方向に作用したと考えられた。

対照的に、キトサンと MP の併用摂取では、腸内細菌叢に対して月齢依存的な応答を引き起こした。とりわけ老齢個体においては、系統的な豊富さは維持されつつも均等度が顕著に低下することが確認された。これは、キトサンの摂取が腸内細菌の種類を増減させるのではなく、特定の細菌群 (*Firmicutes* 門に属する特定の科など) の増殖を選択的に促進、あるいは抑制することにより占有率のバランスを大きく変化させ、結果として、老齢マウスの腸内環境に対して改善効果をもたらしていることを示唆していると考えられた。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、腸内環境と環境毒性の関連を探る新たな共同研究プロジェクトへと発展した。本研究で明らかになった「キトサン摂取が老齢個体の腸内細菌叢バランスを選択的に調整し、マイクロプラスチック曝露に伴う腸内環境を改善する」という成果は、栄養学のみならず環境毒性学や老年医学など、他分野への応用が期待される重要な知見である。これらの成果は、「腸内フローラ制御を介した環境汚染物質の生体影響軽減」という新しい研究領域の開拓 (萌芽的研究の発見) に結びつき、今後の発展が期待されるとともに、本研究に携わった若手研究者の育成にも大きく寄与した。

[4] 成果資料

昨年度の研究は、日本栄養・食糧学会中部支部大会で発表した。

劉笛, 長崎祥太, オガワ淑水, 瀧靖之, 清水宗茂, キトサン摂取がマイクロプラスチックの体外排泄に及ぼす影響 (老齢および若齢マウスを用いた検討), 第 84 回 日本栄養・食糧学会中部支部大会, 2025 年 11 月