

令和 6 年 5 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21875

研究課題名（和文）薬効評価を目指した腸内フローラ数理モデルの開発

研究課題名（英文）Development of a simulator to evaluate the efficacy of an antibacterial agent to resident and resistant bacteria

研究代表者

石川 拓司（Ishikawa, Takuji）

東北大学・医工学研究科・教授

研究者番号：20313728

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：ゼブラフィッシュ稚魚の蠕動運動の計測に成功し、腸内流動の可視化、薬剤濃度の可視化、常在菌と耐性菌の可視化を行った。これらの成果は、生理学の分野で定評のあるAmerican Journal of Physiology誌に掲載された。腸内フローラの数理モデル化も行い、マクロな細菌集積を記述する連続体解析を実施した。そして、腸内における大腸菌の大局的な分布が物理的要因と生物学的要因の組み合わせによって生み出されていることを明らかにし、腸内環境における細菌動態を数理モデルで正確に記述できることを示した。この成果は、生物学分野で定評のあるBMC Biology誌に掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの腸内には1kgもの細菌が生息しており、腸内フローラと呼ばれる生態系を形成している。近年、腸内フローラが宿主の様々な疾患と密接に関わっていることが明らかとなり、腸内フローラの違いを利用した診断や、糞便微生物叢移植などの治療技術の革新が期待されている。こうした技術革新の核となるのは、腸内フローラを予測し、制御する技術であるが、現状では腸内フローラの形成メカニズムは解明されておらず、極めて困難と言わざるを得ない。本成果は、こうした現状を打破し、腸内フローラの形成を予測し制御するための礎となる。

研究成果の概要（英文）：Peristaltic movements of juvenile zebrafish were successfully measured. Visualisation of intestinal flow, drug concentrations and endogenous and resistant bacteria was also carried out. These results were published in the American Journal of Physiology, a well-established journal in the field of physiology. Mathematical modelling of the intestinal flora was also carried out, and a continuum analysis describing the macroscopic bacterial accumulation was performed. It was then clarified that the macroscopic distribution of E. coli in the gut is produced by a combination of physical and biological factors, and it was shown that the bacterial dynamics in the gut environment can be accurately described by a mathematical model. The results were published in BMC Biology, a well-established journal in the field of biology.

研究分野：バイオメカニクス

キーワード：腸内フローラ シミュレーション 可視化実験 大腸菌

1. 研究開始当初の背景

腸内フローラに対する我々の理解は極めて未熟である。特に、薬剤耐性菌の動態や、薬剤投与が腸内フローラに及ぼす影響については、不明な点が多く残されている。数理モデルは、こうした複雑系である腸内フローラの骨格を理解し、定量的に記述するのに最良のツールである。しかしながら、腸内フローラの数理モデルはほとんど手が付けられていないのが現状である。その原因は、現象が大規模で複雑なため扱うべき変数の数が多くなり過ぎ、パラメータの設定や相互作用を適切にモデル化できないことが原因であろう。本研究では、複雑系を個別要素に細分化し、個々の現象に対して輸送現象論に基づく数理モデル化を行い、それをブロックのように積み上げることで、最終的に複雑系をモデル化する手法を採用する。この手法は多くの労力を要する欠点があるが、個々の現象にきちんと定式化がなされるため、現象の本質的理解に到達できる利点がある。

2. 研究の目的

本研究では、輸送現象論を基盤とし、薬効評価を目指した腸内フローラの数理モデルを開発することを目標とする。研究対象は主にゼブラフィッシュと線虫とし、数理と実験を丹念に融合させることで、予測精度の高い数理モデルの構築を目指す。

3. 研究の方法

実験では、ゼブラフィッシュと線虫を用いた。ゼブラフィッシュの実験では、受精後7日目の稚魚を3%アガロースゲル床の上に置き、ゲル床上で平らになるように姿勢を調整した。実体顕微鏡下で、大腸菌懸濁液を充填したガラス針を口から挿入し、溶液を前腸内に注入した。観察の間、120 μ g/mLのトリカイン溶液で麻酔した。腸蠕動の促進剤としてアセチルコリンを、抑制剤としてアトロピンを用いた。線虫の実験では、腸内に摂取された大腸菌の消化吸收を可視化するために、蛍光タンパク質を発現させた薬剤耐性大腸菌を線虫に30分間摂取させた。その後、アガロースゲル上に線虫を移し、カバーガラスを被せた。蛍光顕微鏡で腸内に摂取されたグルコースの蛍光強度及び輝度の分布を計測した。数値シミュレーションにおいて個々の細菌挙動を解析する際には、境界要素法を用いた。マクロな細菌挙動に対する数値シミュレーションを行う際には、連続体モデルの基礎式を有限体積法で解いた。

4. 研究成果

ゼブラフィッシュ稚魚の蠕動運動の計測に成功し、腸内流動の可視化、薬剤濃度の可視化、常在菌と耐性菌(蛍光タンパク質を発現させた耐性大腸菌)の可視化を行った。ゼブラフィッシュの腸内流動の詳細を解明した成果は、生理学の分野で定評のある *American Journal of Physiology* 誌に掲載された。ゼブラフィッシュ稚魚の腸内における大腸菌の挙動と分布も詳細に調べた。そして、腸壁形状や腸内物質の粘性といった微小環境の違いにより、腸内の異なる領域で大腸菌の運動パターンが異なることを発見した。具体的には、大腸菌の拡散は腸のひだの中で抑制され、その結果、ひだの中に大腸菌が蓄積しやすくなった。微小流体流路を用いて *in vitro* 実験を行った結果、腸壁の幾何学的形状に関連する物理的特性が、大腸菌をひだ内に優先的に集積させることが確認された。さらに、腸の背側で大腸菌の密度が高いことが観察され、この細菌集積は生物

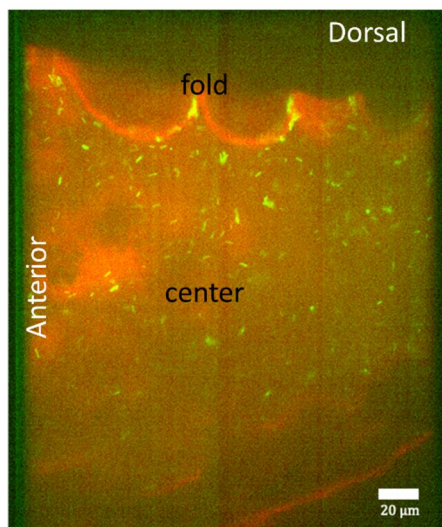


図1 ゼブラフィッシュ腸内の大腸菌分布

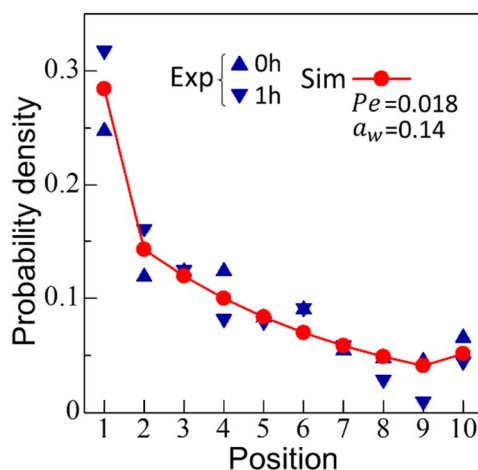


図2 細菌分布のシミュレーション結果と実験結果の比較

学的メカニズムで誘起されていることが示唆された。これらの実験結果を踏まえ、我々は腸内フローラの数理モデル化を行い、マクロな細菌集積を記述する連続体解析を実施した。そして、腸内における大腸菌の大局的な分布が、物理的要因と生物学的要因の組み合わせによって生み出されていることを明らかにした。これらの研究結果は、腸内という *in vivo* 環境における細菌動態を数理モデルで正確に記述できることを示したものであり、腸内フローラの数理モデル構築の重要な一歩である。この成果は、生物学分野で定評のある *BMC Biology* 誌に掲載された。腸内細菌の研究成果はレビュー論文としてもまとめ、バイオエンジニアリング分野で注目されている *APL Bioengineering* 誌に掲載された。

また、線虫の消化吸収を議論した研究は、生物学の分野で定評のある *Journal of Experimental Biology* 誌に掲載された。線虫の腸内流動と腸壁への物質吸収も可視化計測し、腸内流動によって腸壁への物質輸送が促進されることを明らかにした。促進量はペクレ数の 2 乗に比例することを解明した成果は、総合誌で定評のある *Scientific Reports* 誌に掲載された。さらに、蛍光グルコースを用い、線虫腸壁への物質吸収過程を可視化計測する技術も開発した。グルコースが腸壁直上の層に蓄積される現象は、生物学で広く認知されている *BBRC* 誌に掲載された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yang Jinyou, Kikuchi Kenji, Ishikawa Takuji	4. 巻 6
2. 論文標題 High shear flow prevents bundling of bacterial flagella and induces lateral migration away from a wall	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Communications Physics	6. 最初と最後の頁 354
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42005-023-01471-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Yang Jinyou, Isaka Toma, Kikuchi Kenji, Numayama-Tsuruta Keiko, Ishikawa Takuji	4. 巻 22
2. 論文標題 Bacterial accumulation in intestinal folds induced by physical and biological factors	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 76
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12915-024-01874-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Saito Takumi, Kikuchi Kenji, Ishikawa Takuji	4. 巻 706
2. 論文標題 Glucose stockpile in the intestinal apical brush border in <i>C. elegans</i>	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 149762 ~ 149762
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2024.149762	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Yuki, Kikuchi Kenji, Numayama-Tsuruta Keiko, Ishikawa Takuji	4. 巻 12
2. 論文標題 Reciprocating intestinal flows enhance glucose uptake in <i>C. elegans</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15310
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-18968-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Takuji	4. 巻 121
2. 論文標題 Bacterial behaviors in confined diorama environments	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 2487 ~ 2489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2022.05.045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitamura Hiroki, Omori Toshihiro, Ishikawa Takuji	4. 巻 18
2. 論文標題 Impact of rheological properties on bacterial streamer formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of The Royal Society Interface	6. 最初と最後の頁 20210546
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsif.2021.0546	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Srivastava Atul, Kikuchi Kenji, Ishikawa Takuji	4. 巻 8
2. 論文標題 Non-biodegradable objects may boost microbial growth in water bodies by harnessing bubbles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Royal Society Open Science	6. 最初と最後の頁 210646 ~ 210646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsos.210646	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kikuchi Kenji, Noh Hyeontak, Numayama-Tsuruta Keiko, Ishikawa Takuji	4. 巻 318
2. 論文標題 Mechanical roles of anterograde and retrograde intestinal peristalses after feeding in a larval fish (<i>Danio rerio</i>)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 G1013 ~ G1021
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00165.2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Suzuki Yuki, Kikuchi Kenji, Numayama-Tsuruta Keiko, Ishikawa Takuji	4. 巻 223
2. 論文標題 How do <i>Caenorhabditis elegans</i> worms survive in highly viscous habitats?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 jeb224691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jeb.224691	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Takuji, Omori Toshihiro, Kikuchi Kenji	4. 巻 4
2. 論文標題 Bacterial biomechanics? From individual behaviors to biofilm and the gut flora	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 APL Bioengineering	6. 最初と最後の頁 041504 ~ 041504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0026953	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 J. Yang, T. Isaka, K. Kikuchi, K. Numayama-Tsuruta, T. Ishikawa
2. 発表標題 Intestinal folds accumulate bacteria through physical and biological factors
3. 学会等名 76th Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Toma Isaka, Kenji Kikuchi, Keiko Numayama-Tsuruta and Takuji Ishikawa
2. 発表標題 Stagnation Phenomenon of Motile <i>E. Coli</i> in a Folding Wall
3. 学会等名 AP-Biomech 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Jiawei Huang, Kenji Kikuchi, Keiko Numayama-Tsuruta and Takuji Ishikawa
2. 発表標題 Transdermal Transport through Intercellular Gaps of Liposomes in Suspensions
3. 学会等名 AP-Biomech 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Jiawei HUANG, Kenji KIKUCHI, Keiko NUMAYAMA, Takuji ISHIKAWA
2. 発表標題 Nutrient delivery pathway tracing and drug efficacy evaluation by fluorescent glucose
3. 学会等名 第51回可視化情報シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井坂斗真, 菊地謙次, 沼山 恵子, 石川 拓司
2. 発表標題 窪みを有する壁面近傍における大腸菌滞留性の解明
3. 学会等名 日本流体力学会年会2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuta Kikunaga, Kenji Kikuchi, Keiko Numayama-Tsuruta, Takuji Ishikawa
2. 発表標題 Microbial transport of E.coli in the gut of a zebrafish larva
3. 学会等名 9th World Congress of Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuta Kikunaga, Kenji Kikuchi, Keiko Numayama-Tsuruta and Takuji Ishikawa
2. 発表標題 Visualization of microbial transport in the gut of a zebrafish larva
3. 学会等名 PSFVIP13 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yu Kogure, Toshihiro Omori and Takuji Ishikawa
2. 発表標題 SIMULATION OF A PACKED SUSPENSION OF MICROSWIMMERS
3. 学会等名 PSFVIP13 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yu Kogure, Toshihiro Omori, Takuji Ishikawa
2. 発表標題 Mass transport in induced by a packed lattice of squirmers
3. 学会等名 9th World Congress of Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Y. Kogure, T. Omori, T. Ishikawa
2. 発表標題 Mass Transport in a Packed Suspension of Swimming Microorganisms
3. 学会等名 18th International Conference on Flow Dynamics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yu Kogure, Toshihiro Omori, Takuji Ishikawa
2. 発表標題 Mass transport in an aggregation of swimming microorganisms
3. 学会等名 The 11th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小暮悠, 大森俊宏, 石川拓司
2. 発表標題 微生物濃厚懸濁液中の物質拡散シミュレーション
3. 学会等名 第35回数値流体力学シンポジウム CFD35
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takuji Ishikawa
2. 発表標題 Biomechanics can provide a new perspective on microbiology
3. 学会等名 Webinar in Sharif University of Technology (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Biological Flow Studies Laboratory http://www.bfsl.mech.tohoku.ac.jp/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------