

一般演題 5

エコール (equol) がヒトフローラマウスに及ぼす影響

Effects of Equol on Human Flora-associated (HFA) Mice

○田村 基¹, 堀 幸子¹, 中川博之¹, 平山和宏², 伊藤喜久治²¹独立行政法人 農研機構 食品総合研究所, ²東京大学大学院 農学生命科学研究科

【目的】大豆イソフラボンの一つであるダイゼインから腸内フローラの代謝によりもとのイソフラボンよりもエストロゲン活性の強いエコール (equol) が産生される。しかし、エコールのヒト腸内フローラに及ぼす影響についての報告は少ない。そこで、エコールの投与がヒトフローラマウスに及ぼす影響を検討した。

【方法】健常人の糞便を採取し、*in vitro*の嫌気培養方法を用いて、ダイゼインと糞便希釈液を嫌氣的に培養し、エコール産生性の高いヒト糞便とエコール産生性の低いヒト糞便を見出した。次いで、無菌マウスにエコール産生性の高いヒト糞便もしくはエコール産生性の低いヒト糞便希釈液を投与して、エコール産生性の高いヒトフローラとエコール産生性の低いヒトフローラを有するヒトフローラマウスを作製した。作製したヒトフローラマウスにエコールを投与し、腸内フローラ構成やエコールの吸収・代謝性を比較することで、エコール代謝活性の異なるヒトフローラマウスに対するエコールの影響を検討した。また、ヒト糞便希釈液とイソフラボン配糖体を *in vitro*で嫌気培養した時のイソフラボン類の代謝性を、エコール添加した場合としない場合とで比較した。

【結果と考察】エコール産生性の高いヒト糞便を投与したヒトフローラマウスは、エコールを産生したが、エコール産生性の低いヒト糞便を投与したヒトフローラマウスはエコールを産生しなかった。エコール産生性の高いヒトフローラマウスとエコール産生性の低いヒトフローラマウスへエコールを経口投与し、血漿エコール濃度を測定したところ、エコール産生性の高いヒトフローラマウスで高い結果となった。また、ヒトフローラマウスへのエコール投与は、エコール産生性フローラの *Clostridium subcluster XIVa*, *Enterobacteriales* の占有率を増加させた。一方 *in vitro*においては、エコールの添加はヒト糞便希釈液のイソフラボン配糖体の代謝性には影響を及ぼさなかった。以上の結果から、腸内フローラのエコール産生性の違いはエコールの吸収性の差に関連し、逆にエコールは腸内フローラの構成に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

一般演題 6

大豆イソフラボンからエコールを産生する *Slackia* 属菌の
ヒト腸管からの単離および同菌群の成人腸管における分布Isolation of Equol-producing Bacterium *Slackia* sp. and
its Distribution in the Adult Gut○辻 浩和¹, 森山 薫¹, 野本康二¹, 宮永直人², 赤座英之³¹株式会社ヤクルト中央研究所, ²水戸済生会総合病院泌尿器科, ³東京大学先端科学技術研究センター

【目的】 エコールは、他の大豆イソフラボンに比べて強力なエストロゲン活性を有することから、前立腺癌をはじめとするホルモン依存性疾患の予防効果が期待されている。エコールは大豆イソフラボンの一種であるダイゼインより腸内細菌により生成されることが知られているが、全てのヒト腸管からエコールが検出されるわけではない。したがって、ヒト腸管におけるエコール産生には特異的な腸内細菌が関与していることが示唆されているが、エコール産生に関与する細菌の詳細やその分布には不明な点が多い。そこで、本研究では成人腸管から強力なエコール産生能を有する細菌を単離するとともに、同菌群の成人腸管における分布を調べた。

【方法】 末梢血中にエコールが検出される、いわゆるエコール産生者一名の糞便について、種々の糖原を添加したダイゼイン含有培地によりヒト糞便を嫌氣的に培養し、培地中のエコール量を比較した。ソルボースを糖源とした培地を用いた糞便の7継代目培養液より、エコール産生菌を単離した。本菌が、ダイゼインまたはジヒドロダイゼインを基質としてエコールを産生することを確認し、NATTS株と命名した。16S rRNA 遺伝子を標的とする本菌群特異的プライマーを作製し、定量的RT-PCR法により日本人健康成人40名の糞便における本菌の菌数を定量した。

【結果】 ソルボースを含むある種の糖はエコール産生者の *in vitro* 糞便培養におけるエコール産生を促進するが、一方でグルコースやオリゴ糖などは同活性を低下させた。ソルボースを糖源とした7代目の継代培養から、非芽胞、グラム陽性短桿菌のNATTS株を単離した。16S rRNA塩基配列の解析から、本菌はCoriobacteriaceae (科), *Slackia* (属) に分類された。本菌は、ダイゼインまたはジヒドロダイゼインを高率でエコールに変換した。本菌および類縁菌に特異的なプライマーを用いた分子生物学的検索から、同菌群が健康成人の40%に糞便1gあたり 10^6 レベルで存在することが明らかとなった。

【考察】 調べた28種の糖のうち、5炭糖など一般的な腸内細菌による利用能が低い糖が、*in vitro* 糞便培養におけるエコール産生を亢進した。一方、オリゴ糖などは同活性を低下させたことから、これらの糖はエコール非産生の腸内優勢菌を増殖させてしまい、その結果としてエコール産生菌の増殖が抑制されるものと推察された。本菌株は、既報のエコール産生菌に比べて高いエコール産生能を有していた。本菌群は健康成人腸管に広く分布しており、特に40歳未満に比べて40歳以上で多く検出されることから、本菌群の分布と年齢との関連に興味を持たれる。

一般演題 7

はちみつ摂取による便中腸内細菌叢への影響

Possible Effects of Honey Intake on Fecal Flora in Humans

羽根田祥¹, 小森佑奈², 日当愛美², 佐々木佳織³, 佐々木巖¹, ○福島浩平^{1,2,3}

¹東北大学病院胃腸外科, ²東北大学大学院医学系研究科分子病態外科学分野,

³東北大学大学院医工学研究科消化管再建医工学分野

【はじめに】 はちみつは、消耗性疾患回復期を中心に健康食品としての有用性が認識されているが、オリゴ糖を含有することから本食品のプレバイオティクスとしての可能性に着目した。

【目的】 分子生物学的手法を用い、はちみつ摂取前後の腸内細菌叢について、*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium coccooides*, *Bacteroides fragilis*などの代表的な菌属・種の変動を調べること、およびはちみつ摂取により変動しうる未知の腸内細菌同定を試みること。

【方法】 20人にはちみつを7日間投与し (0.5 g/kg/日), その前後で糞便を採取, DNAを抽出した。測定に用いる標準プラスミドを作製したのち, リアルタイムPCRにより定量した。また, Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) 法を用い, 4例ではちみつ摂取前後でのピークパターンを比較した。はちみつ摂取で変化するピークについてデータベースよりその候補を同定し, 特異的なプライマーをデザインしたのち定量的PCRによりコピー数を検討した。

【結果】 便検体湿重量あたりのDNA回収量について必ずしも正の相関を得られなかったことから, 細菌数はDNA 1 microgあたりのコピー数で表すこととし, はちみつ摂取前後の2群間で比較した。*Bifidobacterium* および *Lactobacillus* は, はちみつ摂取によって増加し, 後者で有意差が認められた。また, *C. coccooides*, *C. leptum*, *B. fragilis* についてみると, はちみつ摂取でコピー数は減少し, *C. leptum* において有意差が認められた。

T-RFLPによる検討では, はちみつ摂取で消失あるいは出現するピーク7個についてデータベースと照合すると, 5細菌の16S rDNA配列にヒットした。特異的PCRによる増幅産物の塩基配列を決定し, 一致した1細菌について定量的PCRを行った。ピークを選択するきっかけとなったサンプルでは, はちみつ摂取によりコピー数が約5倍の増加を認めたが, サンプル全体では有意の変動を認めなかった

【考察および結語】 はちみつ摂取によって一部の乳酸菌の増加と偏性嫌気性菌の減少が生じる可能性があるが, 変動の生理的意義については培養法による変動の確認も含め今後の検討を要する。

一般演題 8

哺育環境が新生仔の腸内菌叢に与える影響

Maternal Microflora Influences on the Constitution of
Infant Microflora Postnatally

岩澤佳緒里, 山口 真, 越智大輔, ○森 毅

株式会社 明治 研究本部食機能科学研

【目的】子の菌叢は出生時に母親から受け継ぐと考えられているが、一部の菌の由来が明確でなく、哺育時と離乳後で大きく菌叢構成が変化するなど興味深い点が多い。我々はブリーダーの異なる同系統のマウスが異なる度合いで腸炎を発症すること、混合飼育により菌叢が変化しうることなどを報告した（第13回腸内細菌学会）。今回は哺育時の環境が仔の菌叢と腸炎の発症程度にどのように影響するかを調べるため、実験を実施した。

【方法】二つのブリーダー（A社、B社）より妊娠マウスを購入し、仔マウス（仔）出生直後に母マウス（親）を入れ替えた。3週齢で離乳し、雌雄別に4週齢まで飼育した。その後、2%デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）を飲水投与して腸炎の発症程度を比較した。また、親と仔の糞便を回収し定量PCRで菌の構成を調べた。

【結果】二つのブリーダー間の親で菌数に差があったのは、*Bacteroides fragilis* group (A<<B)、*Clostridium coccoides* group (A<B)、Enterobacteraceae (A>B)であった。仔の菌数は、*Bacteroides fragilis* groupで哺育時の親と同様にA<Bとなり、親の入れ替えによる変化が観察された。

仔のDSS腸炎の発症程度は、親を入れ替えても変化せず、A>Bであった。

【考察】今回の検討より、仔の菌叢については*Bacteroides fragilis* groupにおいて親の影響が観察された。この変化はDSS腸炎の発症程度には大きな影響を及ぼさなかったが、他の変化を宿主に引き起こす可能性も考えられる。