

一般演題 B-5

ハダカデバネズミの腸内細菌叢解析とハダカデバネズミ（クイーン）
腸内細菌叢によるノトバイオートマウスでの生体影響

Intestinal microbiota of naked mole rat and gut microbe-host phenotype relationships using queen naked mole rat communities in gnotobiotic mice

○森田英利¹, 竹尾 淳¹, 須田 互², 度会晃行¹, 高畑宗明¹, 大島健志朗²,
三浦恭子³, 新井奈月³, 岡野栄之³, 菊水健史¹, 服部正平²¹麻布大学獣医学部, ²東京大学大学院新領域創成科学研究科, ³慶應義塾大学医学部

【目的】ハダカデバネズミ (naked mole rat : NMR) は、顕著な老化耐性機構と癌化耐性機能を有し哺乳類では珍しい真社会性という生活形態を示すことから、癌研究、老化研究および不妊階級をもつ視点からの行動生態学の研究に用いられているモデル動物である。一方、クイーンを頂点としたコロニー生活をすることから、血縁や生育環境がかなり閉鎖的な状況にある。本研究では、まず NMR 腸内細菌叢の解析を行い、クイーンの糞便を無菌マウスに経口投与してノトバイオートマウスを作製し、そのマウス消化管に定着した細菌叢を解析した。また、糞便中エストラジオールの経時的な定量を行った。

【方法】コロニーごとに NMR のクイーン、キング、ワーカーから糞便を採取した。その細菌由来 DNA を精製し、16S rDNA V1-V2 領域の分子系統関係に基づいた細菌叢構造の類似性解析 (UniFrac 解析) を行った。また、生後4週齢の無菌マウスにクイーンの糞便を経口投与しノトバイオートマウスを作製した。8週齢まで35日ごとに糞便を経時的に採取し、Estradiol EIA Kit (Cayman Chemical Co.) を用いて、エストラジオールを定量した。

【結果と考察】網羅的 16S rRNA 解析による腸内細菌叢解析の結果、NMR・マウス・ラットでは細菌叢組成に違いがあり、マウス・ラットで多くの Operational Taxonomic Unit (OTU) が *Lactobacillus* 属にアサインされたが、NMR では *Lactobacillus* 属にアサインされる OTU はなかった。また、NMR で検出された OTU は既知菌種との相同性が低いものが多く、新規バイオリソースが多く含まれていることが示された。NMR ではコロニー間で大きく細菌叢組成に違いがみられたが、同じコロニーのクイーン、キング、ワーカー細菌叢での違いはほとんどみられなかったことから、雌雄や階級ではなくコロニーごとに細菌叢が維持されていた。

クイーン糞便を無菌マウスに経口投与したノトバイオートマウスにおいて、UniFrac 解析の結果から、クイーンの腸内細菌叢の構成菌種のほぼ全体が定着していた。また、ノトバイオートマウスの測定期間中のエストラジオール分泌量は、SPF マウスと比較して測定値の分散が少なくなっており、腸内細菌叢の影響で分泌が抑制された可能性が考えられた。

一般演題 B-6

年齢に伴う 2 タイプの腸内細菌叢変化

Two-type age-related changes in the fecal microbiota composition of healthy elderly

○小田巻俊孝¹, 高橋幸子¹, 菅原宏祐¹, 清水(肖)金忠¹, 阿部文明¹, 大澤 朗²
¹森永乳業(株) 食品基盤研究所, ²神戸大学大学院農業研究科

【目的】 加齢に伴い腸内細菌叢の構成は大きく変化することが古くより知られている。パイロシーケンサーを用いた研究成果もこれを支持しているが、これら研究の多くは成人と高齢者を 2 群間比較しているため、年齢の連続的な変化については知見が得られていない。そこで本研究では被験者を群分けすることなく、年齢と腸内細菌叢構成の相関について解析を実施した。

【方法】 関東在住の健常成人 91 名、関西および沖縄在住の自立した生活を送っている健常高齢者それぞれ 28 名、55 名より糞便を提供してもらい、合計 174 名を対象に V3-4 領域を標的とした 16S メタゲノム解析を MiSeq にて実施した。

【結果】 全体像として、加齢に伴う *Actinobacteria* や *Firmicutes* の減少、*Proteobacteria* の増加といった既報と一致した結果が認められた。科レベルでは 52 の OTU (operational taxonomic unit) が年齢と有意な相関を示していたが、これら細菌の加齢に伴う変動は、大きくわけ 2 タイプ、①平均値は年齢と共に変化するが占有率の分布範囲は年齢で変化しないもの (non range-change type) と、② 65 ~ 70 歳以降になると平均値も占有率の分布範囲も変化するもの (range-change type) に分けられた。さらに腸内細菌叢の多様性について評価したところ、加齢に従い多様性の上昇が確認された。

【考察】 日本人の腸内細菌叢は 65 ~ 70 歳付近で大きな変化を示し高齢型の腸内細菌叢構成になることが示唆された。食事や抗生物質により乱れた腸内細菌叢構成は短期間で元に戻ることが知られているが、こうした一時的な環境変化により① non range-change type の変化が序々に引き起こされ、加齢に伴う腸管機能の低下といった永続的な環境変化が② range-change type のような劇的な変化を引き起こしているのではないかと推察している。

一般演題 B-7

Asian microbiome project phase II :
アジア人の腸内フローラの加齢による変化Phase II study of asian microbiome project:
Age-related changes in gut bacterial composition in asian population

- Jiro Nakayama¹, Kanako Higashi¹, Azusa Yamamoto¹, Koichi Watanabe², Enkhzaya Ganbold³, Dugersuren Jamiyan⁴, Shirchin Demberel⁴, Phanphen Phoonlapadacha⁵, Jaruwan Sitdhipol⁵, Sunee Nitisinprasert⁶, Kwang-Ho Choi⁷, Rather Irfan Ahmad⁷, Park Yong Ha⁷, Martinus Agus Sarwoko⁸, Mariyatun⁸, Endang S. Rahayu⁸, Fa-Zheng Ren⁹, Ying-Chieh Tsai¹⁰, Kenji Sonomoto¹, Lee Hui Ting¹¹, Regina Ang¹¹, Angela Lim¹¹, Yow Kok Siang¹¹, Ang Sze Chien¹¹, Yuan-Kun Lee¹¹
- ¹Kyushu Univ., ²Yakult Central Institute, ³Health Sciences University of Mongolia, ⁴Mongolian State University of Agriculture, ⁵Thailand Institute of Scientific and Technological Research, ⁶Kasetsart Univ., ⁷Yeungnam University, ⁸Gadjah Mada Univ., ⁹China Agric. Univ., ¹⁰National Yang-Ming Univ., ¹¹National Univ. of Singapore

【背景】腸内フローラと健康や疾病との関係が次々と明らかにされ、次なる重要研究課題として、食と腸内細菌叢の関係が注目されている。特に、豊富で優良な食文化が根付くアジアは、食と腸内フローラと健康の調査コホートとして魅力的である。そこで我々は、Asian Microbiome Project (AMP) を設立し、アジア10か国と共同でアジア人の食と腸内フローラと健康に関する調査を行っている。第17回大会では、児童を対象とした第一期調査 (Phase I study) の結果を報告し、アジア児童には2つのエンテロタイプが存在することを報告した。第18回大会では、成人と高齢者も含めて対象とした第二期調査 (Phase II study) の結果を報告する。

【方法】アジア5ヶ国 (中国, タイ, インドネシア, 大韓民国, モンゴル) に住む児童 (7歳から11歳, 計220人), 成人 (20歳から40歳, 計150人) と高齢者 (70歳以上, 計128人) を対象として、糞便を採取し、細菌叢を解析した。糞便から細菌DNAを抽出し、ユニバーサルプライマーにより細菌16S rRNA 遺伝子 V6-V8 領域を網羅的に増幅させ、そのアンプリコンを次世代シーケンサー (Roche 454 titanium) により大量に配列解析した。得られた配列データを用いて細菌の系統解析を行い、各糞便サンプルの細菌組成を求めた。得られた細菌組成データを基に、国別および年齢層別の有意差検定、多様性解析、主成分分析等を行った。

【結果】5カ国の全被験者腸内細菌叢 (Family (科) レベル) での主成分分析では、児童のデータで示されたのと同様、第一主成分では *Prevotellaceae* が正、*Bacteroidaceae* が負の因子負荷量を示し、第二主成分では *Bifidobacteriaceae* が正、*Ruminococcaceae* が負の因子負荷量を示した。児童では、インドネシアでは第一主成分が正の *Prevotellaceae* の多いタイプ (P エンテロタイプ), 中国および大韓民国では第一主成分が負の *Prevotellaceae* が少なく *Bacteroidaceae* や *Bifidobacteriaceae* の多いタイプ (BB エンテロタイプ) が多いといった傾向が顕著に見られたが、成人および高齢者ではその傾向は弱くなった。また、5カ国で共通して、加齢に伴い *Bifidobacteriaceae* が減少し、*Enterobacteriaceae* が増加する傾向が顕著に見られた。一方、大韓民国を除く4カ国で、加齢に伴い、多様性 (検出される OTU 数) が減少していく傾向も見られた。

【考察】児童で見られた各国で偏在する P および BB エンテロタイプが、成人および高齢者では混在するようになった要因としては、加齢とともに、国特有の食から多国籍食を食するようになることが疑われるが、現在、食要因分析を行っている。また加齢によりビフィズス菌が減少し、大腸菌群が増加する原因、そしてその宿主の健康に対する影響についても興味をもたれる。