

一般演題 A-13

同一地域に居住する日本人の年齢による腸内細菌叢構成と機能

Gut microbiota composition and function in Japanese adult and elderly residing in the same area

○大宅穂波¹, 西嶋智彦^{2, 3}, 高見和代², 馬渡隆志²,
村田泰之⁴, 須田 互^{3, 5}, 服部正平^{3, 6}, 池田隆幸¹

¹ 藤女子大学人間生活学部食物栄養学科, ² 江崎グリコ株式会社健康科学研究所,

³ 東京大学大学院新領域創成科学研究科, ⁴ 社会福祉法人神愛園,

⁵ 慶應義塾大学医学部, ⁶ 早稲田大学理工学術院

【目的】日本人は諸外国人と比較して特徴的な腸内細菌叢構成および機能を有しており、これが日本人の長寿と関連している可能性が報告されている。しかし、このような日本人の腸内細菌叢構成や機能の特徴が年齢によりどのように変化するかについては十分に明らかになっていない。そこで本研究では、これらの特徴について、年齢による変化を解明するため、同一地域に居住する幅広い年齢層の腸内細菌叢を調査、解析した。

【方法】糞便採取前 1 か月以内に抗生物質の使用歴のない北海道石狩地方の自宅もしくは高齢者施設に居住する 65 ~ 103 歳の高齢者 78 名 (80.3 ± 9.7 歳), 20 ~ 64 歳の高齢者施設職員 44 名 (44.0 ± 10.8 歳), および大学生 40 名 (22.0 ± 1.0 歳) を対象に調査を行った。各被験者の糞便から細菌のゲノムを抽出後、Illumina 社 Miseq を用いてメタ 16S rRNA 解析を行い、腸内細菌叢の年齢変化を評価した。機能 (遺伝子) 予測は、PICRUSt (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States) を用いた。

【結果および考察】すでに報告されている通り、高齢者では α 多様性の増加が認められた。高齢者では、*Klebsiella* や *Lactobacillus*, *Desulfovibrio* などの顕著な増加が認められる一方で、*Faecalibacterium* や *Blautia*, *Bifidobacterium* などの減少が認められた。炭水化物の代謝で生じる水素消費に関わる 3 つの経路 (メタン生成, 酢酸生成, 硫酸還元) について、腸内細菌叢の機能予測から評価を行った結果、硫酸還元関連の遺伝子が高齢者では年齢とともに増加し、一方で酢酸生成関連の遺伝子の減少が認められた。これまで日本人の腸内細菌叢は *Blautia* が多く、水素代謝の主経路を酢酸生成が担っていると報告されているが、高齢者では酢酸生成が減少し、硫化水素生成が増加している可能性が示された。このような加齢による腸内細菌叢の構成および機能の変容が、腸内環境の老化の一端であると推察される。

一般演題 A-14**一般住民におけるエクオール産生能とエクオール産生菌の検討****Evaluation of the relationship between the ability to produce equol and equol-producing microbiota**

○飯野 勢^{1,2}, 飯野香理³, 樋口 毅⁴, 横山良仁³, 福田眞作²

¹弘前市立病院内科, ²弘前大学大学院医学研究科消化器血液内科,

³弘前大学大学院医学研究科産科婦人科, ⁴弘前大学大学院保健学科

【目的】エクオールは腸内細菌の代謝により産生され, 日本人の約半数がエクオールの産生能を有しているといわれている. エクオール産生菌は十数種類発見されているが, エクオール産生能と腸内細菌叢の関連についての報告は少ない. 我々は, 一般住民のエクオール産生者, 非産生者の腸内細菌を分析することで, エクオール産生菌とエクオール産生能の関連について検討を行った.

【方法】弘前市岩木地区で行われている岩木健康増進プロジェクトにおいて 2015 年の全参加者 1,118 人について検討した. エクオール検査と腸内細菌検査の検体欠損の 75 人を除外した 1,043 人を解析対象とした. エクオールの産生の判定は, 尿中エクオール濃度, 尿中ダイゼイン濃度の比の対数を用いてカットオフ値を -1.75 と定め, エクオールの産生の評価を行った. 腸内細菌は便検体より, 次世代シーケンサーの Miseq を用い 16S rRNA 遺伝子塩基配列より検体に由来する菌群の帰属を推定した. エクオール産生菌とされる 15 種類について, エクオール産生者と非産生者で違いがあるか検討した.

【結果】エクオール産生者は 457 人 (44%), 非産生者は 586 人 (56%) であった. エクオール産生菌 15 種類において全菌群における平均割合で, エクオール産生者が有意に高値であったのは *Asaccharobacter celatus*, *Slackia isoflavoniconvertens* のみであった. *S. isoflavoniconvertens* においてエクオール産生者, 非産生者での菌存在率は *A. celatus* で 50% と 12% ($p < 0.001$), *S. isoflavoniconvertens* は 39% と 4% ($p < 0.001$) であった.

【考察】13 種の菌でエクオール産生者と非産生者に菌の割合で有意差を認めなかった理由は, これらの菌にはエクオール非産生株が多く含まれていた可能性が考えられた. また, 有意差を認めた 2 菌種においても, 非産生者の中にこれらの菌を有するものが存在した. 理由は, エクオールのカットオフ値の問題, エクオール非産生株の存在が考えられた.

【結論】一般住民におけるエクオール産生者では有意に *A. celatus*, *S. isoflavoniconvertens* の全菌群における割合が高かった. これらの菌にはエクオール産生株が多く存在する可能性がある.

一般演題 A-15

母体腸内細菌叢と児の出生時の発育状態との関連性

Association between maternal gut microbiota and neonatal growth

○佐藤由美¹, 櫻井健一², 渡邊広宏², 森 千里²¹千葉大学大学院医学薬学府栄養代謝医学, ²千葉大学予防医学センター

【目的】胎内環境要因は出生後の成長発達や生活習慣病発症リスクに影響することが知られており (Developmental Origins of Health and Disease: DOHaD), 児の出生時の発育状態はその重要な予測因子の1つである。胎内環境要因として母体の食事や栄養状態などが挙げられるが, 腸内細菌叢の関与は明らかではない。腸内細菌叢は宿主の食事や栄養状態と関連していることから, DOHaD への関与が示唆される。本研究では, 母体腸内細菌叢と児の出生時の発育状態との関連を明らかにすることを目的とした。

【方法】Chiba study of Mother and Children's Health (C-MACH) の参加者のうち 10 例を対象とした。妊娠後期の糞便からメタ 16S 解析による腸内細菌叢解析を行った (北海道システムサイエンス)。また, 簡易型自記式食事歴法質問票 (BDHQ) により食物摂取頻度調査を行い, 食品摂取量を評価した。母体腸内細菌叢と児の出生時の発育状態 (出生身長・体重・頭囲) との関連を相関解析し, 交絡因子 (母年齢, 妊娠前 BMI, 妊娠中体重増加率, 在胎週数) による補正を行った。さらに, 腸内細菌叢に対する食品摂取量の影響を検証するために, 腸内細菌叢と食品摂取量との関連を相関解析した。

【結果】*Bacteroidetes* 門の構成比と出生体重・頭囲の間には有意な正の相関がみられ ($r=0.768$, $p=0.009$, $r=0.744$, $p=0.014$), 交絡因子による補正後も出生体重との相関は有意であった ($r=0.820$, $p=0.046$)。また, *Bacteroidetes* 門の構成比と緑葉野菜, 海藻, 焼き魚の摂取量との間には有意な正の相関がみられた ($r=0.826$, $p=0.006$, $r=0.671$, $p=0.048$, $r=0.798$, $p=0.010$)。

【考察】母体腸内細菌叢のうち, *Bacteroidetes* 門の構成比は児の出生体重・頭囲と関連することが示唆された。出生体重の過小や過大は生活習慣病発症リスクと関連することや, 出生時の頭囲と神経発達に関連があることが報告されている。コホート調査の継続により母体腸内細菌叢が児の将来の生活習慣病発症リスクや神経発達に及ぼす影響を明らかにする必要がある。また, *Bacteroidetes* 門の構成比は食品摂取量と関連していたことから, 母体腸内細菌叢を変化させる方法の1つとして食事への介入の有用性が示唆された。今回の検討は少数例のために交絡因子の影響を十分に検討できておらず, 今後例数および解析の追加を行う必要がある。

一般演題 A-16**日本人の大規模健常者コホートにおける腸内細菌叢と生活習慣の分析
—“不調”と菌叢と習慣の相関—****Analysis of gut microbiome and life-style in large healthy Japanese cohort
—Correlation between ill-health, microbiota, and life-style—**○竹田 綾¹, 栗山 実¹, 沢井 悠¹, 宇野毅明²¹株式会社サイキンソー, ²国立情報学研究所

【目的】 約 10 年前に次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA メタゲノム解析手法が確立されて以来, 米 Human Microbiome Project をはじめ世界中でヒト腸内細菌叢の大規模コホート研究が行われている。しかし, 日本国内においてはまだ報告例が少なく, 特に疾患を持たない健常者の腸内細菌叢を数千人規模で分析した例は少ない。一方, 人種・民族別の腸内細菌叢の比較例からは, 食習慣の違いが与える腸内細菌叢への影響は明らかであり, ユニークな食習慣を持つ日本人は, 研究が進んでいる欧米人の腸内細菌叢とは大きく異なることが示唆される。そのため, 今後日本人における腸内細菌叢と疾患の関連性や治療法の研究を進めるためには, まず日本人の健常者の菌叢の特徴と分布を知る必要がある。

【方法】 今回, ウェブサービスを介して集めた日本人の健常者のオンラインコホート 2000 人以上の腸内細菌叢と, 100 項目以上にわたる詳細な生活習慣アンケート情報を用いて, (1) 各常在菌の保有割合の分布, (2) 様々なクラスタリング手法や機械学習を含む統計解析による, 体調不良・体質・悩みなどの“不調”と菌叢の関係を調査した。

【結果】 日本人の 10%以上の人々が共有する常在菌は 100 種類 (属レベル), 90%以上の人々が共有する菌は 20 種類 (属レベル) あり, エンテロタイプは *Bacteroides* 型が圧倒的に多いことがわかった。便秘や下痢, ストレス過多や太り気味といった“不調”について, 腸内細菌叢との深い相関が示唆された。さらに, それぞれの不調と相関のある菌叢はいくつかのタイプに分類され, 各タイプに特徴的な属性や生活習慣を見出すことができた。

【考察】 日本人の健常者における腸内細菌叢は非常に多様であり, “標準的な”または“基準となる”菌叢を 1 つに決めることは困難であることがわかった。ただし, 腸内細菌叢と関係のある“不調”における菌叢はその多様性が低くなる傾向が見られた。このことは, 菌叢のタイプによってその不調の改善方法の有効性が変わる可能性も考えられる。今後コホートサイズが大きくなればなるほど, さらに多くの“不調”と菌叢の関係性が明らかになることが期待される。

一般演題 A-17

小児の特発性ネフローゼ症候群における再発と腸内細菌叢の異常の関連性の検討

Characteristics of gut microbiota in children with frequent-relapsing idiopathic nephrotic syndrome

○駿田竹紫¹, 木全貴久¹, 山内壮作¹, 北尾哲也¹,
辻 章志¹, 橋谷田真樹², 赤根 敦², 金子一成¹

¹ 関西医科大学小児科学講座, ² 関西医科大学法医学講座

【背景と目的】小児のアレルギー疾患の病因論として近年、「乳児期に正常な腸内細菌叢が形成されないこと (Dysbiosis) による制御性T細胞 (regulatory T cell: Treg) の異常が過剰な炎症反応を引き起こす」という仮説が注目されている。一方、小児のネフローゼ症候群で大多数を占める病型である特発性ネフローゼ症候群 (INS) の病因はいまだに不明であるが、古くから気管支喘息などのアレルギー疾患の合併が多いことが知られている。また近年は、INSの発症や再発にもTregの異常が寄与しているとする報告が増えている。実際、演者らも最近、INS小児の末梢血中のTreg比率が発症時に低下していることを報告した (Pediatr Int., *in press*)。

そこで「INSの小児においてはTregの分化・誘導に重要な菌群の減少という腸内細菌叢の変化、すなわちDysbiosisがTregの異常を引き起こし再発に関与している」と仮説を立て、検証を行った。

【対象と方法】再発を認めたINS小児8名 (R群) と再発のないINS小児4名 (NR群)、および健康小児9名 (C群) から自然排便した便 (INS小児は初発時) を採取、糞便から抽出した細菌DNAを用いて次世代シーケンサーを用いてメタゲノム解析を行い、Tregの分化・誘導を促進するとされる *Clostridiales* と *Lactobacillales* の合計比率を三群間で比較した。

【結果】 *Clostridiales* と *Lactobacillales* の合計比率は、R群 (中央値45.5%) において、NR群 (65.8%) とC群 (62.4%) に比して有意に低かった (それぞれ、 $p=0.04$, $p=0.02$)。一方、NR群とC群間には有意な差を認めなかった ($p=0.71$)。

【考察と結語】R群は、Tregの分化・誘導を促す便中 *Clostridiales* と *Lactobacillales* の合計比率が有意に低かった。したがってINSの再発においては、腸内細菌叢の異常 (Dysbiosis) によるTregの分化・誘導の低下が関与している可能性が示唆された。