

一般演題 A-9

野生ニシローランドゴリラ糞便から単離された
新規ビフィドバクテリウム属細菌
— *Bifidobacterium moukalabense* —

Isolation of novel *Bifidobacterium* —*Bifidobacterium moukalabense*—
from wild western lowland gorilla

○土田さやか¹, 瀬川高弘², 近藤伸二², 北原真樹³, P.P. Mbehang Guema⁴,
藤田志歩⁵, 大熊盛也³, 牛田一成¹

¹ 京都府立大学大学院生命環境科学研究科, ² 国立極地研究所融合プロジェクト,

³ 独立行政法人理化学研究所微生物材料開発室, ⁴ ガボン共和国熱帯生態研究所,

⁵ 鹿児島大学共同獣医学部

【目的】 腸内細菌叢は、動物種によってその構成が異なることが知られており、中でも bifidobacteria の構成種は大きく異なる。bifidobacteria は、ヒトでは一定の保健効果を持つことから、防御的腸内細菌叢の中心メンバーと考えられており、宿主をヒトとする研究が数多く行われてきた。しかし、なぜ bifidobacteria がヒト腸内で優勢種なのかという議論はされていない。我々は、霊長類と bifidobacteria の共進化を明らかにすることを目的とし、野生・飼育霊長類の糞便から bifidobacteria を単離している。そのうち野生ゴリラ由来株は系統解析により新種であることが明らかとなった。そこで、本発表では新種 *Bifidobacterium moukalabense* について報告する。

【方法】 ガボン共和国ムカラバ・ドウドウ国立公園のブチアナ地区のニシローランドゴリラのグループから新鮮糞便試料を採取し、BS 寒天培地に塗抹し、Ushida *et al.* (J. Gen. Appl. Microbiol., 2010) の方法で培養した。単離の後 16S rRNA 遺伝子、*hsp60* 遺伝子の系統解析とともに生理性状試験および表現形質解析を行った。また、近縁種および遠縁種との全ゲノム比較解析もおこなった。

【結果および考察】 16S rRNA 遺伝子および *hsp60* 遺伝子系統解析より、既知種とは異なる新種であることが明らかとなった。*B. moukalabense* は系統的にヒト由来である *B. catenulatum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. dentium* と近縁であり、これら近縁種内で新種のみ Cellobiose, D-Sorbitol, Trehalose を分解せず、Leucyl glycine arylamidase 活性があった。DNA の G + C 含量は 60.1 mol% であり近縁種と大差はなかったものの、通常 bifidobacteria では検出されない菌体脂肪酸が *B. moukalabense* で検出された。ゲノムサイズは約 2.5 Mb、遺伝子数は約 2200 であり、*B. catenulatum* JCM 1194 の約 2 Mb、遺伝子数約 1780 とくらべて大きかった。*B. moukalabense* は、同国立公園内の異なるグループのゴリラ糞便からも単離されており、野生ニシローランドゴリラに特徴的な bifidobacteria であることも示唆された。

一般演題 A-10**腸内ビフィズス菌の母子伝播は、生後間もない自然分娩出生児の腸内菌叢形成に影響を及ぼす****Mother-to-Infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota**

○牧野 博¹, 石川英司¹, Agata Gawad², 久保田博之^{1, 2}, 酒井隆史¹, 大石憲司^{1, 2},
Rocio Martin³, Kaouther Ben Amor³, Jan Knol^{3, 4}, 久代 明¹

¹(株)ヤクルト本社中央研究所, ²ヤクルトヨーロッパ研究所, ³Danone Nutricia Research,
⁴ワーヘニンゲン大学

【目的】 出産前の母親（自然分娩・帝王切開）の腸管に常在するビフィズス菌群が乳児の腸管へ伝播するかを菌株レベルで検証する。

【方法】 分娩様式の異なる 17 組の母子（自然分娩：12 組，帝王切開：5 組）から，出産前の母親糞便（2 回）および各々の子供の糞便（胎便・出生 3 日後・7 日後・30 日後・90 日後）を採取した。これらの糞便サンプルについて，TOS プロピオン酸培地を用いてビフィズス菌株を単離し，16S rDNA 塩基配列を基に菌種を同定した。母子ともに同一のビフィズス菌種が検出された場合，MLST（Multilocus Sequencing Typing）法により菌株レベルの同一性を検証した。解読した 7 遺伝子の塩基配列が完全に一致した場合，同一菌株とみなした。また，qPCR（quantitative real-time PCR）法により各糞便中のビフィズス菌の菌数測定も実施した。

【結果】 乳児の糞便とその母親の出産前の糞便から共通に分離されたビフィズス菌は 5 菌種 (*Bifidobacterium adolescentis*, *B. bifidum*, *B. catenulatum*, *B. longum* subsp. *longum*, *B. pseudocatenulatum*) であった。自然分娩で出産した母子 12 組中 11 組において，最低でも 1 系統の同一ビフィズス菌株が母から子へ伝播していることが確認された。これら伝播が確認されたビフィズス菌種は，出生後 3 日目までには伝播が確認された乳児の腸管内において優勢菌群の一つ (10^9 cells/g 以上) となっていた。一方，帝王切開で出生した乳児 5 名では，母親と同一菌株のビフィズス菌は検出されなかった。また，生後 1 週間までにビフィズス菌はほとんど検出されず (10^5 cells/g 程度)，腸管内におけるビフィズス菌の定着も自然分娩児 (10^{10} cells/g) と比べて遅いことが分かった。

【考察】 自然分娩では，母から子へ複数のビフィズス菌種が伝播することを確認した。一方，帝王切開出生児では母親との同一菌株は検出されないこと，腸管内でのビフィズス菌の定着が自然分娩児と比べて遅いことを確認した。この結果は，出産形態の違いがビフィズス菌の定着時期に大きな影響を及ぼしていることを示し，ビフィズス菌の母子伝播は，出生後早期にビフィズス菌優勢な腸内細菌叢を構築し得る要因の一つと考えられた。

一般演題 A-11

小児期発症の原発性硬化性胆管炎における腸内細菌叢の dysbiosis

Dysbiosis of intestinal microbiota
in pediatric primary sclerosing cholangitis (PSC)

○岩澤堅太郎¹, 須田 互², 野口由里香³, 角田知之¹, 川本愛里¹, 乾あやの¹,
藤澤知雄¹, 高畑宗明³, 十河 剛¹, 服部正平², 森田英利³

¹ 済生会横浜市東部病院小児肝臓消化器科, ² 東京大学大学院新領域創成科学研究科, ³ 麻布大学獣医学部

【背景と目的】 原発性硬化性胆管炎 (PSC) は原因不明の進行性に肝内外の胆管周囲に線維化を来す疾患であり, 最終的には肝硬変や肝不全に至る難治性の疾患である. また, PSC 患者の炎症性腸疾患 (IBD) 合併率は, 欧米の報告によると 60~80% と非常に高い. PSC 発症機序や IBD 合併率が高い原因は明らかにされていないが, PSC 患者に対してバンコマイシンの経口投与により病態の改善が認められることから, 腸内細菌叢の構成と dysbiosis が PSC 発症に影響を及ぼしていると推察されている. 本研究では, 2013 年 5 月~2013 年 9 月の期間に済生会横浜市東部病院を受診し, PSC 発症時年齢が 18 歳未満であった 4~24 歳の PSC 患者の糞便を採取し, PSC 患者と健常者との腸内細菌叢の比較を行った.

【方法】 上記期間の症例は 23 例 (男 14 例, 女 9 例) で, 糞便採取時の年齢は 4~24 歳 (中央値 13 歳) で PSC 発症年齢は 2~15 歳 (中央値 6 歳) であった. 全症例に腸病変を認め, 潰瘍性大腸炎 14 例 (61%), クロウン病 1 例 (4%), 非特異的腸炎 8 例 (35%) であった. そのうち無作為な 4~24 歳の 13 名 (男 5 例, 女 8 例) の PSC 患者と 40 名の健常者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) などによる PSC 患者と健常者との比較を行った.

【結果と考察】 PSC 患者では, 健常者と比較して OTU (operational taxonomic unit) 数が非常に低く, これは細菌叢での菌種の多様性が減少していることを意味し, IBD や他の恒常性破綻の病態と同じ傾向がみられた. 属レベルにおいて, PSC 患者では *Falcalibacterium* 属, *Eubacterium* 属, *Clostridium* 属, *Prevotella* 属, *Blautia* 属, *Collinsella* 属は有意差に減少しており, 逆に *Streptococcus* 属は有意に増加していた. *Falcalibacterium* 属と *Clostridium* 属の減少は, IBD などの dysbiosis として注目されている. UniFrac 解析においても, PSC 患者は健常者と有意に離れたクラスターを形成しており, PSC 患者では, かなり大きな腸内細菌叢の変化が生じていると考えられた.

一般演題 A-12**口腔マイクロバイオームの構成パターンと口腔の健康状態との関連****Microbial composition in saliva and its relationship with oral health**

○竹下 徹¹, 坪井秀憲¹, 古田美智子¹, 嶋崎義浩², 柴田幸江¹, 清原 裕³, 山下喜久¹

¹九州大学大学院歯学研究院口腔予防医学分野, ²愛知学院大学歯学部口腔衛生学講座,

³九州大学大学院医学研究院環境医学分野

【目的】 口腔は腸管とともに膨大な数の細菌が生息する複雑な常在微生物叢の一つである。う蝕や歯周病に代表される口腔感染症は、病原因子をもついくつかの細菌種について数多くの研究がなされてきた一方で、マイクロバイオーム全体としての関与については不明な点が多い。本研究では口腔常在フローラの構成パターンを分類し、口腔の健康状態との関連について検討を行った。

【方法】 福岡県久山町において2007年に行われた40歳以上を対象とした町民一斉健診において受診者から採取した唾液674検体について、16S rRNA 遺伝子を用いてその細菌構成を解析した。V1-V2領域を増幅した後、次世代シーケンサーの一つであるIon PGM (Life Technologies社)を用いて塩基配列の解読を行った。得られた塩基配列はQIIMEを用いて97%以上の配列の一致を同一菌種 (operational taxonomic unit, OTU) として纏め、RDP Classifierを用いて各OTUの系統分析を行った。

【結果】 674名の唾液検体では *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* のこれまでに報告されてきた5菌門がフローラの大勢を占めていた。菌属では *Streptococcus*, *Prevotella* をはじめとする11菌属が99%以上の被験者から共通して検出され、各被験者のフローラの $84.9 \pm 6.4\%$ を占めていた。これら11菌属の全被験者における構成比率の相関関係から、*Streptococcus*, *Actinomyces*, *Rothia*, *Granulicatella* からなる SARG 群, *Prevotella*, *Veillonella* からなる PV 群, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Fusobacterium*, *Gemella*, *Porphyromonas* からなる NHFGP 群の3群に分類され、歯周炎が認められる被験者の口腔では PV 群がより優勢であり、NHFGP 群の構成比率が低い傾向があることが明らかとなった。

【考察】 本研究により、口腔マイクロバイオームの構成パターンが明らかになり、口腔の健康状態との関連が示唆された。口腔感染症の発症メカニズムを考えるうえで口腔マイクロバイオーム全体についても考慮する必要があると考えられる。