

2016年5月

## 日本人における加齢に伴う腸内細菌叢の変化を確認

～科学雑誌『BMC microbiology』(5月25日)掲載のご報告～

我々の腸内細菌叢は、加齢に伴いそのバランスが変化するとされておりましたが、各年代の違いを詳細に解析した研究はこれまで報告がありませんでした。

そこで森永乳業は、神戸大学 大澤朗教授との共同研究にて、0歳から104歳までの健常者367名を対象に腸内細菌叢を解析、比較いたしました。

結果、加齢に伴う腸内細菌の連続的な変化には数パターンが存在し、加齢にともない減少する菌群、加齢に伴い増加する菌群、成人のみ占有率の高い菌群、乳幼児と高齢者で占有率の高い菌群などが明らかとなりました(図1)。更に、70歳を越えた時点で高齢者型の腸内細菌叢構成になる健常者が多いことなども示されました。

これまで多くの研究にて病態者と健常者を比較することで腸内細菌叢と疾病との関連性が報告されておりましたが、個人差が大きいこと等を理由に健康な腸内細菌のパターンについては未だ明らかにされておられません。今後も引き続き健常者の腸内細菌データを収集することで、目指すべき理想の腸内細菌叢を明らかにしていきたいと考えております。

なお、本研究成果はオンライン科学雑誌『BMC microbiology』(5月25日付)に掲載されました。

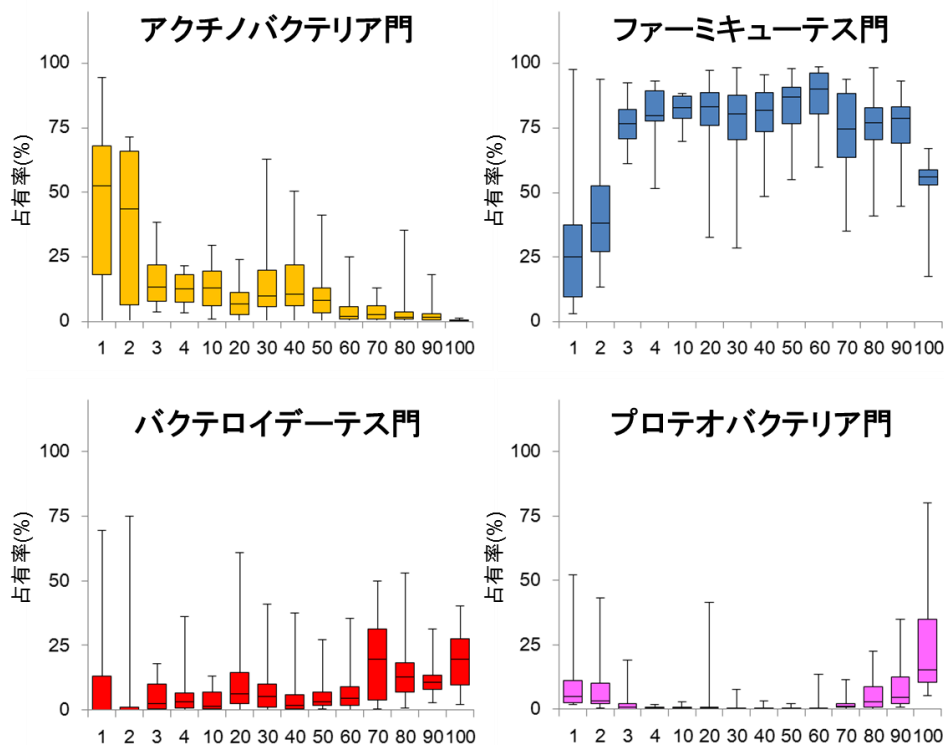


図1 加齢に伴う腸内細菌叢の変化(代表的な門)

横軸に記載の数字は以下の通り。1:離乳前、2:離乳中、3:離乳後3歳まで、4:4～9歳、10～100:10歳代～100歳代

## 研究の背景と目的

1970年代、東京大学の光岡知足(みつおか ともたり)名誉教授は培養法を用いて、加齢に伴い腸内細菌のバランスは劇的に変化することを示し、その模式図が長年広く引用されてきました(図2)。

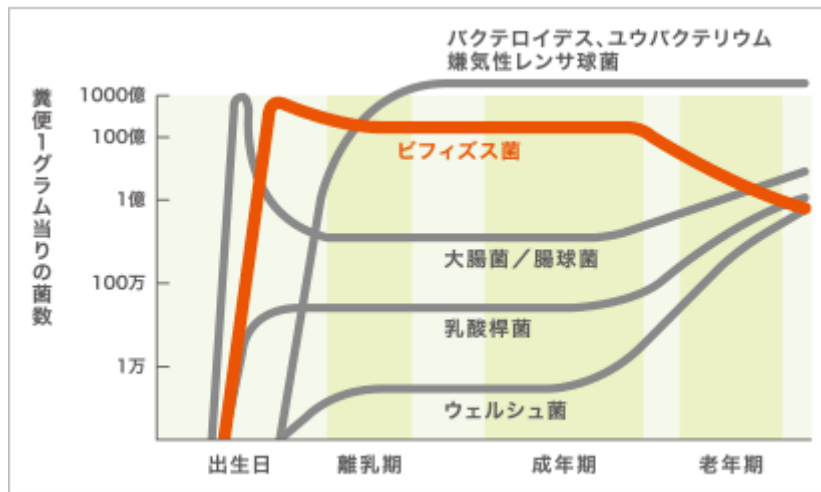


図2 加齢に伴う腸内細菌叢の変化(培養法データに基づく模式図、出典:日本の科学と技術 光岡ら 1976を改変)

その後、腸内細菌叢を解析する技術は飛躍的に向上し、それまで培養されていた腸内細菌は全体の20~50%程度でしかないと明らかになりましたが、前述した模式図(図2)を更新できるような大規模な腸内細菌解析は行われてきませんでした。現在、世界中で腸内細菌の研究が進められ、様々な疾患との関わりが明らかにされておりますが、健常者の腸内細菌の典型といったものは示されておらず、どのような腸内細菌叢構成を目標にすべきかについては未だ結論に至っておりません。

そこで本研究では、今後の腸内細菌研究の基盤と成りうる日本人健常者の腸内細菌叢構成を年代別に明らかにすることを目的に、幅広い年代の腸内細菌叢を解析いたしました。

## 研究の内容

### 【方法】

日本国内に在住している生後間もない0歳児から自立した生活を送っている健康な104歳までの計367名の方より便をご提供いただき、便より抽出したDNAを用いて、次世代シーケンサーにて腸内細菌叢を網羅的に解析いたしました。

### 【結果】

#### 1. 加齢に伴う腸内細菌叢変化

本試験で得られたデータより、乳幼児から超高齢者に至るまでの腸内細菌叢の変動が詳細に明らかにされました(図3)。図2で示されていた通り、乳幼児で最優勢菌であるビフィズス菌を含むアクチノバクテリア門は離乳後その割合が急激に減少し、60歳代以降は更に減少してしまうことや、大腸菌等を含むプロテオバクテリア門の占有率は乳幼児と高齢者で高いことなどが確認できた他、今回新たに難培養性のため示されていなかった多くの細菌(主にファーミキューテス門)の変動なども明らかにすることができました。

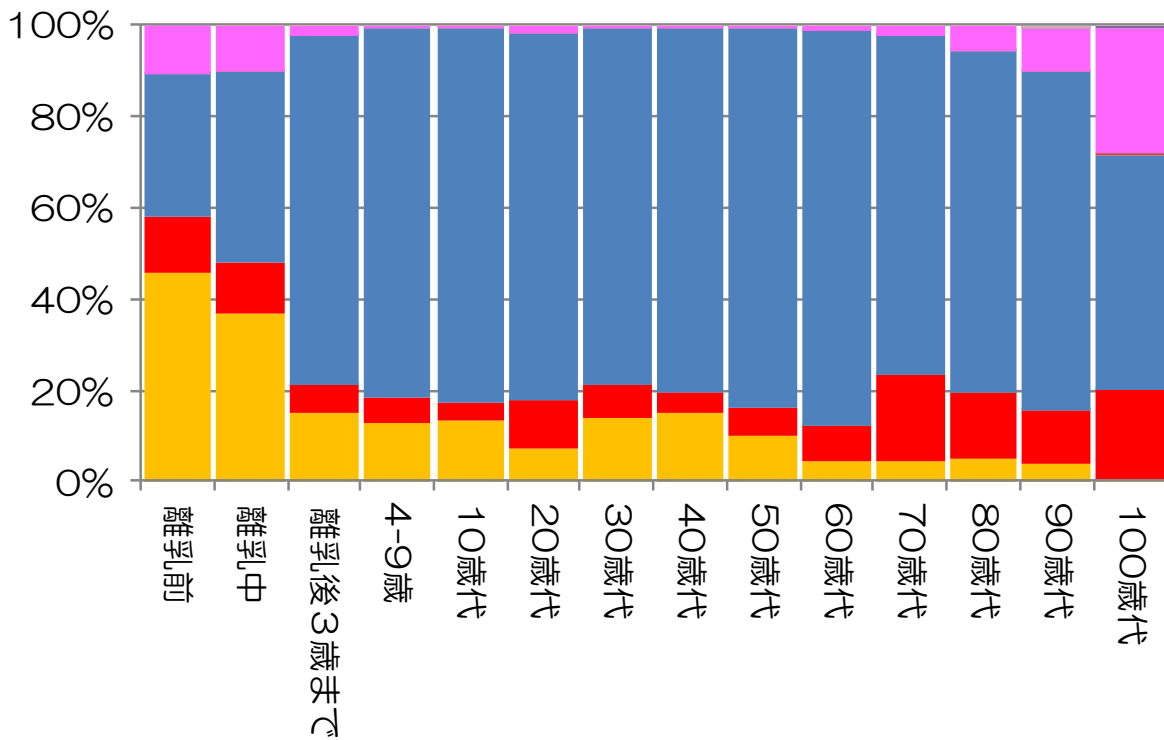


図3 加齢に伴う腸内細菌叢全体の変化(次世代シーケンサーによる結果)

黄:アクチノバクテリア門、赤:バクテロイデーテス門、青:ファーミキューテス門、桃:プロテオバクテリア門

今回試験にご参加頂いた方より検出された細菌は、遺伝子の相同性から186属に分類されましたが、これらを加齢に伴う変動パターンの似たもの同士をまとめるグルーピング(クラスタリング)により9つに分類することで、各細菌群のより詳細な挙動を明らかにすることができました。

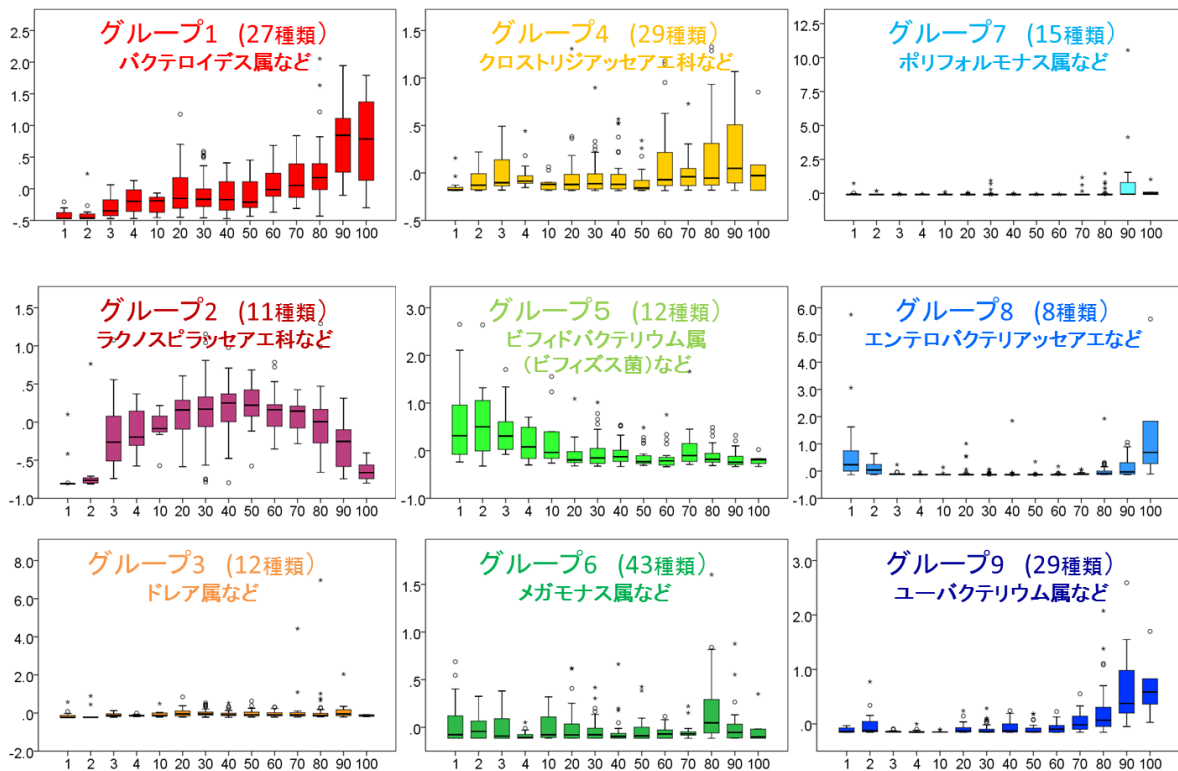


図4 加齢に伴う腸内細菌変化の違い

横軸に記載の数字は以下の通り。1:離乳前、2:離乳中、3:離乳後3歳まで、4:4~9歳、10~100:10歳代~100歳代

## 2. 健常者の腸内細菌叢は、乳幼児、成人、高齢者で大きく異なる

腸内細菌叢の構成は個人ごとに大きく異なることが知られておりますが、その腸内細菌叢構成が似たもの同士をまとめるグルーピング(クラスタリング)を行ったところ、図5のように年齢できれいに分類されることが分かりました。この結果は、腸内細菌の年齢による違いが単純な個人差よりも大きいことを示していると考えられます。ただし、高齢者1群に分類されている成人など、実年齢に合致しない腸内細菌を保有している被験者の方も見受けられました。この結果は、腸内細菌年齢が実年齢よりも老化してしまっている被験者を示しているのではないかと考えられます。

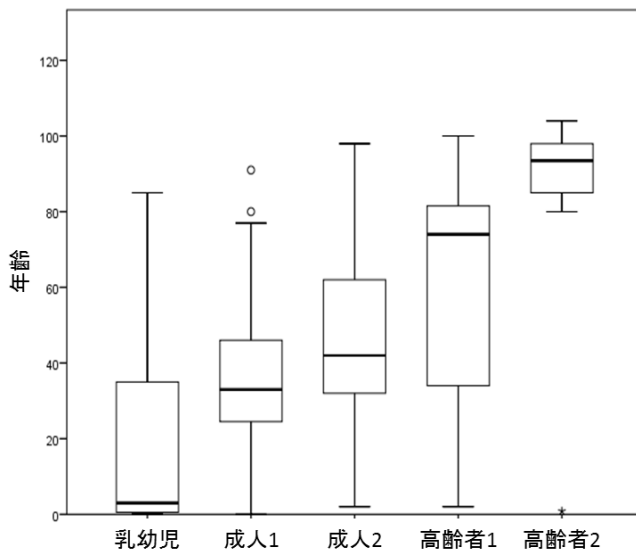


図5 腸内細菌叢構成に基づきクラスタリングした被験者年齢

## 3. 加齢に伴う腸内細菌叢の変動要因のひとつは、大腸に到達する食事成分

加齢は腸内細菌叢を変化させる要因のひとつであることが知られておりましたが、その理由については明らかにされておりません。今回得られたデータから、腸内細菌が保有する機能性遺伝子割合をPICRUStというツールにて推測したところ、栄養を取り込む輸送体をコードする遺伝子が、年齢により異なることが示されました。これは、腸内細菌が利用する栄養素が異なることを示しているため、食事の影響を受けていると考えられます。例えば、食物繊維に含まれているキシロースという糖を取り込む輸送体の割合は、その食経験がほぼないと考えられる乳幼児では低いのですが、離乳後食物繊維を含む食事を摂取する世代になると一定の割合を有するようになっていました(図6)。

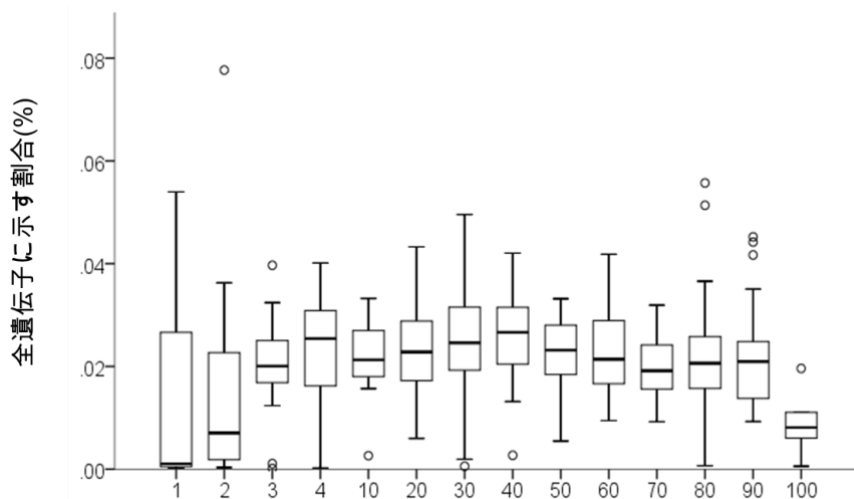


図6 各年代におけるキシロース輸送体遺伝子の保有率

横軸に記載の数字は以下の通り。1: 離乳前、2: 離乳中、3: 離乳後3歳まで、4: 4-9歳、10~100: 10歳代~100歳代

今回の試験結果より、日本人の各年代における健常者の腸内細菌叢バランスを明らかにすることができました。本試験は現在も継続しており、論文掲載時以上のデータが蓄積されております。今後、弊社では人々の健全な発達や健康寿命の延命に、どのような腸内細菌叢が適しているのかを明らかにし、その理想像に近づけるためのアプローチ方法を併せて研究してまいります。

#### <用語説明>

- ・次世代シーケンサー:近年の科学領域において非常に多く用いられている装置。シーケンサーはDNAやRNAの配列を解析することが可能な装置であるが、次世代シーケンサーは従来の装置に比べて飛躍的に多くの配列を解析することが可能であり、複雑な腸内細菌の遺伝子配列などを網羅的に解析することが可能となる。
- ・アクチノバクテリア門:ビフィズス菌を含む腸内細菌の分類群
- ・ファーミキューテス門:ヒト腸内に棲息する最優勢分類群のひとつ(グラム陽性菌)
- ・バクテロイデーテス門:ヒト腸内に棲息する最優勢分類群のひとつ(グラム陰性菌)
- ・プロテオバクテリア門:大腸菌等を含む腸内細菌の分類群

#### 【ご参考:森永乳業の「腸内細菌叢」研究】

当社では、「ビフィズス菌」や腸内細菌叢に関して数々の原著論文や学会発表を行っております。下記は2015年以降の原著論文や学会発表です。

#### 原著論文: (英語タイトルは日本語訳を記載)

##### 1. 基礎研究

- ・ 比較ゲノム解析は、3種のプロバイオティックビフィズス菌の炭水化物代謝能の違いを菌種・株レベルで明らかにした(小田巻ら、International Journal of Genomics、2015)
- ・ 母乳中のリゾチームは乳児腸管におけるビフィズス菌定着の選択因子となり得る(南ら、Beneficial Microbes、2015)
- ・ 異なる起源由来のビフィズス菌における葉酸産生能力の違い(菅原ら、Bioscience of Microbiota, Food and Health、2015)
- ・ オステオポンチン欠乏はマウスにおける腸内菌叢とマクロファージ食作用が破綻した自発的腸炎を促進する(Toyonagaら、PLOS ONE、2015)
- ・ 炎症ポリープを有するミニチュアダックスフンドの腸内菌叢破綻(五十嵐ら、Res Vet Sci.、2016)

##### 2. 機能性研究

- ・ 周術期におけるビフィズス菌投与が大腸ガン手術後の栄養状態回復、炎症応答、腸内菌叢を改善する:前向きランダム化試験(水田ら、Biosci Microbiota Food Health. 2016)
- ・ 肉食摂取により引き起こされる腸内菌叢変化に対するプロバイオティックヨーグルトの効果:オープンランダム化試験(小田巻ら、Beneficial Microbes、2016)
- ・ 中高年者におけるビフィズス菌配合カルシウム強化ミルクの継続摂取と健康状態に関する横断研究(清水ら、ミルクサイエンス、2016)
- ・ プロバイオティクス *Bifidobacterium longum* は腸内細菌の変動を介して腸内代謝産物を変動させる(菅原ら、Scientific Reports、2015)
- ・ ラット未熟仔モデルにおいて *Bifidobacteriu breve* は炎症反応を抑制し、壊死性腸炎を防ぐ(佐藤ら、Beneficial Microbes、2016)

- *Bifidobacterium breve* は離乳期ラットの免疫機能を変化させ、DSS 誘導性腸炎を改善する (和泉ら、Pediatric Research、2015)
- *Bifidobacterium breve* B-3 株の経口摂取が軽度肥満者の代謝機能に及ぼす作用に関するランダム化比較試験 (南ら、Journal of Nutritional Science、2015)
- マウスの慢性的な UV 照射で誘導される皮膚光老化における *Bifidobacterium breve* B-3 の効果(佐藤ら、Beneficial Microbes、2015)

### 3. 製造技術

- 応用製品中のビフィズス菌数測定法に関する研究 (武藤ら、ミルクサイエンス、2016)
- 粉乳製品中のビフィズス菌数測定法：懸濁液の影響とビフィズス菌種選択的培地の開発(武藤ら、ミルクサイエンス、2015)

## 学会発表:

### 1. 基礎研究

- 大腸癌・腺腫とFusobacteriaとの関連 (齋藤ら、Gut Microbiota研究会、2016)
- メタゲノム解析を利用した肝硬変患者における血中細菌の検出 (梶原ら、第113回日本内科学会講演会、2016)
- ヒトに棲息するビフィズス菌と棲息しないビフィズス菌の違い (小田巻、The 1st International Symposium Creation and Future Trends in Food and Agricultural Immunology (CFAI)、2015)
- 遺伝子型および表現型の評価から見えてきたヒト由来ビフィズス菌の優位性 (菅原ら、酪農科学シンポジウム、2015)
- *Bifidobacterium* 属細菌を中心とした腸内細菌叢研究 (小田巻、第36回日本食品微生物学会学術集会ランチョンセミナー、2015)
- 若齢マウスにおける抗菌ペプチド $\alpha$ -ディフェンシンと腸内菌叢の変化 (佐藤ら、3rd World Congress on Targeting Microbiota、2015)
- 成長に伴うマウスの腸内細菌叢や抗菌ペプチド $\alpha$ -ディフェンシンの変化及びその関係 (佐藤ら、日本乳酸菌学会、2015)
- 生菌製剤投与が健常犬の消化管におよぼす影響に関する基礎的検討 (福島ら、日本ペット栄養学会第17回大会、2015)
- 横断研究:生後から100歳以上までの加齢に伴う腸内菌叢変化(小田巻ら、8th PROBIOTICS PREBIOTICS & NEW FOOD、2015)
- 加齢に伴う腸内細菌叢の変化—0歳から100歳以上まで— (小田巻ら、「栄養とエイジング」国際会議 (I L S I)、2015)
- ヒト腸管内における *Streptococcus gallolyticus* の分布に関する研究 (野本ら、第89回日本細菌学会総会、2016)

### 2. 機能的な研究

- マルチオミクス解析で見えてきた腸内菌叢を介したビフィズス菌の生理作用 (菅原ら、第31回日本静脈経腸栄養学会学術集会、2016)
- パイロシーケンシングによる母子腸内菌叢解析は乳幼児のアレルギー発達と腸内菌叢の関連性を示した (清水ら、第64回日本アレルギー学会学術大会、2015)
- 腸内細菌と健康,特にヒト常在ビフィズス菌の特徴と生理機能に関して (清水、第15回日本抗加齢医学会総会、

2015)

- 日本の男女中高年における、ビフィズス菌含有乳酸菌飲料摂取と健康状態に関する横断研究(南ら、日本農芸化学会2015年度大会、2015)
- 日本人高齢者におけるプロバイオティクスミルク消費と健康状態の関連性に関する横断研究：ライフスタイルと生活習慣病（下田ら、ACN2015 12th Asian Congress of Nutrition、2015）
- 日本人高齢者におけるプロバイオティクスミルク消費と健康状態の関連性に関する横断研究：体重と罹患率（斉藤ら、ACN2015 12th Asian Congress of Nutrition、2015）
- 日本人高齢者におけるプロバイオティクスミルク消費と健康状態の関連性に関する横断研究：睡眠状態との関連性（柳澤ら、ACN2015 12th Asian Congress of Nutrition、2015）
- ビフィズス菌配合カルシウム強化ミルクの継続摂取と健康状態に関する横断研究（南、日本食品免疫学会主催第10回宿泊セミナー、2015）
- オリゴ糖の組み合わせがビフィズス菌の増殖に与える影響の検討(江原ら、日本農芸化学会2015年度大会、2015)
- 肉食時の腸内細菌叢変化に対する*Bifidobacterium longum* BB536含有ヨーグルト摂取の影響(加藤ら、第19回腸内細菌学会、2015)
- 肉食時の腸内菌叢破綻に対する*Bifidobacterium longum* BB536含有ヨーグルト摂取の影響（加藤ら、International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics、2015）
- ヒトの健康とビフィズス菌・乳酸菌の生理作用（村田、第3回日本くすりと食品機能フォーラム、2015）

以上