シンポジウム記録 水産「プロバイオティクス」の創成

I-1. ヒトの腸内細菌叢

松木隆広

ヤクルト中央研究所

I-1. Recent advances in molecular ecology
of human intestinal microflora

TAKAHIRO MATSUKI

Yakult Central Institute, Kunitachi, Tokyo 186-8650,
Japan

1. はじめに

ヒトの腸管内には多種多様な細菌が在住し、複雑な微生物生態系（腸内フローラ）が形成されている。この微生物群集は、難消化性多糖の分解、生体内・生体外成分の代謝、ビタミンK等の必須栄養素の生産、免疫系の成熟、病原性菌の増殖抑制等のさまざまな生理活性を有しており、それゆえに宿主であるヒトの健康と密接な関係がある。この腸内フローラの機能を理解するには、腸内フローラ構成菌種を正確に把握することが必要である。腸内フローラの生態学的研究は、1990年代半ばまで主に培養法により行われてきたが、近年は16S rRNA配列を標的とした解析が主流となっている。この分子生物学的手法を用いた解析法にはFISH法や特異的プライマーによる定量的PCR法、DGGE/TGGE法、クローンライブラリー法・パイロシーケンス法などがあり、それぞれの手法で利点や課題、得られるデータの質は異なっている。¹⁾本シンポジウムでは、我々が検討した特異的プライマーを用いた定量的PCR法により得られた知見と、近年広く用いられるようになった16S rDNAクローンライブラリー法・パイロシーケンス法による報告を紹介し、腸内フローラの生態学研究の現状と今後の動向を議論したい。

2. 定量的PCR解析による腸内フローラ解析

特異的プライマーによる定量的PCR法は、他の手法に比べて検出感度が高く、操作もシンプルで多検体の解析に適した方法である。我々は、これまでにヒト腸内フローラを構成する主要な12の菌属・菌群特異的プライマーと35の菌種特異的プライマーを作製し、これらの菌種の分布を成人について調べた。その結果、個人ごとに異なるとされた腸内フローラの構成は、菌属レベルでは類似性が高いこと、²⁾*Bifidobacterium*属菌種の解析では、これまで報告されていた*B. adolescentis*, *B. longum*

に加えて*B. catenulatum* groupが主要構成菌種であること、*Bifidobacterium*の菌種構成は基本的には安定であること、等が明らかとなった。³⁾

3. 16S rDNA クローンライブラリー法・パイロシーケンス法による腸内フローラ解析

クローンライブラリー法は、FISH法や特異的PCR法と異なり構成菌の網羅的な解析が可能であるが、以前のサンガー法による塩基配列解析では、スルーショットや費用の面で、フローラ解析に一般的に用いるには限界があった。しかし2000年代半ばの次世代シーケンサーの開発によって、現在ではこの手法がヒトや実験動物のフローラ解析に多く用いられるようになってきている。

Leyらは2006年に肥満者に特徴的なフローラ構成があること、食事制限の結果、健常者に近いフローラ構成に変化すること、体重減少とフローラ変化に正の相関が観察されることを報告した。⁴⁾また、近年ヨーロッパの都市部とアフリカの農村の子どもの腸内フローラを比較し両者に顕著な違いが観察されたこと、大腸がん患者の腸内フローラに特徴があり、特に酪酸産生菌が減少していたこと、IBD患者に特徴的なフローラがあること、などが報告され、注目を集めている。

このように、分子生物学的手法による腸内フローラ解析法の確立によって、近年腸内フローラの違いと宿主形質を関連付ける興味深い報告が相次いでいる。これらのヒトを対象とした腸内フローラ研究の多くは観察研究であるが、今後はフローラと宿主表現形の因果関係の証明と考察が、より重要になっていくものと考えられる。今後の腸内フローラの生態学的研究の更なる進展に期待したい。

文 献

- 1) 松木隆広「分子生物学的手法による腸内フローラ構造解析法の比較」腸内細菌学雑誌 2006; **20**: 25-33.
- 2) Matsuki T, Watanabe K, Fujimoto J, Takada T, Tanaka R. Use of 16S rRNA gene-targeted group-specific primers for real-time PCR analysis of predominant bacteria in human feces. *Appl Environ Microbiol.* 2004; **70**: 7220-7228.
- 3) Matsuki T, Watanabe K, Fujimoto J, Kado Y, Takada T, Tanaka R. Quantitative PCR with 16S rRNA-gene-targeted species-specific primers for analysis of human intestinal bifidobacteria. *Appl Environ Microbiol.* 2004; **70**: 167-173.
- 4) Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JL. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; **444**: 1022-1023.