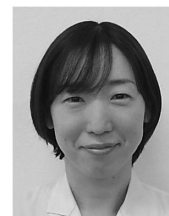


ヒトに棲息するビフィズス菌を中心とした腸内細菌に関する研究



森永乳業株式会社 堀 米 綾 子

はじめに

私たちヒトの腸管に棲息する腸内細菌は、ヒトが作り出すことのできない有用物質の産生や、病原性細菌の腸管への定着抑制などにより、ヒトの健康に大きく貢献している。腸内細菌叢は、食事などの生活習慣や薬の服用などさまざまな因子の影響を受けるが、加齢によっても構成が変化することが報告されている。離乳前の乳児腸管内には、ビフィズス菌が非常に高い割合で存在しており、乳児の健全な成育に大きく貢献すると考えられているが、離乳期を境に減少し、10~50代では比較的安定しているものの、60代以降さらに減少する。このような腸内細菌叢の加齢による変化は、加齢性疾患と関連することが示されており、腸内細菌叢の適切な制御が疾患予防の観点から重要であると考えられる。

本稿では、ヒト腸管に棲息するビフィズス菌の特徴に関する研究および、高齢者に特徴的な腸内細菌叢を制御する方法の開発に向けた取り組みについて紹介する。

1. ヒト腸管に棲息するビフィズス菌の特徴

1-1. ビフィズス菌の種類

Bifidobacterium 属には、現在100種類以上の種や亜種が分離・同定されている。ビフィズス菌は主に動物や昆虫の腸管に棲息しているが、興味深いことに菌種ごとに棲息する場所が異なることが知られている。主にヒト腸管に棲息するビフィズス菌 (Human-Residential Bifidobacteria; HRB) は10菌種程度であり、さらに乳児と成人で棲息する菌種が異なる (それぞれ乳児型HRB, 成人型HRB) (図1)。ヒトおよび類人猿の腸内細菌叢を調査した研究からは、ビフィズス菌とそれぞれの宿主が、1,500万年以上にもわたり共進化してきたことが示唆されており¹⁾、各々の宿主の腸管に適応しながらそれぞれ特徴を有した菌種に進化してきたことが推測される。

1-2. ヒト腸管に棲息するビフィズス菌と母乳との親和性

我々は、HRB (乳児型HRB) と、ヒトに棲息していないビフィズス菌 (Non-HRB) の本質的な違いを明らかにすべく、ゲノム情報に基づく研究を実施している²⁾。ゲノム解析の結果、乳児型HRBにはヒトミルクオリゴ糖 (Human Milk Oligosac-

charides; HMOs) の資化に関連する遺伝子が多く分布していることが明らかとなった。この結果は、「乳児型HRBは、Non-HRBにはないHMOs資化能を有している」という、当研究グループの *in vitro* 試験結果³⁾と一致していた。さらに、母乳および母乳に含まれる代表的な抗菌成分であるリゾチームを用いた培養試験から、乳児型HRBはリゾチーム耐性と母乳中での増殖能がともに高いこと、一方でNon-HRBはリゾチーム耐性が低く母乳中では増殖するどころか、ほとんどの菌株が死滅してしまうことが明らかとなった⁴⁾。

ゲノム情報に基づいて実施した一連の試験から、高いHMOs資化能に加えて、リゾチームへの耐性機構を獲得した乳児型HRBは、母乳との親和性を高めることで乳児腸管という特殊な環境に高度に適応してきたと考えられる (図2)。

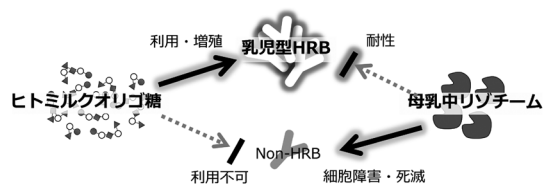


図2. 乳児型HRBと母乳との親和性

さらに、HRB特有の代謝産物に焦点を当てた研究からは、Non-HRBと比較して、HRBでは薬酸⁵⁾が、乳児型HRBではトリプトファン代謝産物であるインドール-3-乳酸 (ILA)⁶⁾の産生能が高いことが示された。ILAは抗菌作用、免疫調節作用、抗炎症作用、神経細胞分化促進作用などを有することが示されていることから、乳児型HRBが産生したILAは、乳児期の感染防御や免疫機能の発達に寄与するものと考えられる。

1-3. HRB菌株の低出生体重児への作用

我々は、上述の研究結果などからヒトにはHRBが最も適していると考え、乳児から分離したビフィズス菌を中心としたさまざまなHRB菌株の研究開発を進めている。ここでは、小児科領域の疾患予防・健康維持において数多くの研究成果が報告されている *Bifidobacterium breve* M-16V (M-16V) について紹介したい。

健康な乳児の腸管から分離されたM-16Vは、これまでに早産児や低出生体重児を含む乳児に対して、腸内細菌叢改善作用、感染防御作用、壊死性腸炎発症リスク低減作用、アレルギー症状緩和作用などが報告されている。我々はM-16Vの持続的な作用を調査するため、M-16V投与終了後の定着性および腸内細菌叢への影響を評価した⁷⁾。低出生体重児に生後からNICU入院中毎日M-16V (10億/日)を投与したところ、投与終了後数週間経過した時点においてもM-16Vが腸管内に定着していることが明らかになった (図3)。さらにM-16V投与群

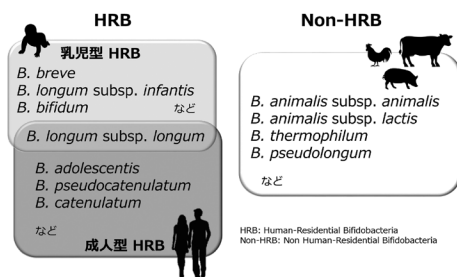


図1. ビフィズス菌の棲息場所の違い

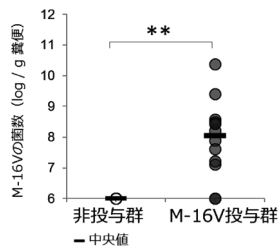


図3. 投与終了後数週間後のM-16Vの定着性

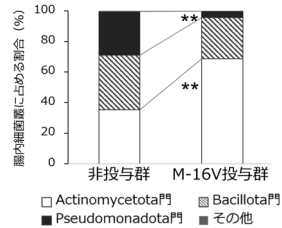


図4. M-16Vによる腸内細菌叢改善作用

では非投与群と比較して *Bifidobacterium* 属が属する Actinomycetota (旧 Actinobacteria) 門の占有率が高く、大腸菌などが属する Pseudomonadota (旧 Proteobacteria) 門の占有率が低かったことから (図4), M-16V 投与による持続的な腸内細菌叢改善作用が示された。

さまざまな研究から出生後早期に腸内細菌叢に対して適正な介入を行うことが、将来の健康に大きく寄与すると推測されることから、上述した M-16V による持続的な腸内細菌叢改善作用は、多くの子どもたちの未来の健康に繋がるものと考えられる。

2. 高齢者の腸内細菌叢制御に向けて

我々の研究グループにより、高齢者型の腸内細菌叢への変化が、全身性の加齢性疾患の発症リスク上昇に繋がる可能性が示されている⁸⁾。そこで我々は加齢に伴い減少する菌群⁹⁾に着目し、それを増加させるようなプレバイオティクスに関する研究に取り組んでいる。ここでは、加齢に伴い減少する菌群の中でも抗肥満・糖尿病作用などが確認されている *Blautia* 属細菌に関する研究を紹介する。

ヒト腸管を模した培養条件で糞便を培養するヒト腸管モデルを用いて、さまざまなプレバイオティクス素材を検討したところ、HMOsの主要成分のひとつである2'-フコシルラクトース(2'-FL)が、*Blautia wexlerae*を増殖させることを明らかにした。そこで、その増殖作用メカニズムについて詳細な解析を実施した¹⁰⁾。7名の被験者より採取した糞便について、人工腸管モデルを用いて2'-FLの細菌叢への影響を評価したところ、7名中5名(レスポンドー)では糞便細菌叢中の *B. wexlerae* が大幅に増加したのに対し、他の2名(ノンレスポンドー)では減少し、2'-FLの *B. wexlerae* 増殖作用には糞便ドナーによる個人差があることが明らかになった。2'-FLの利用には、2'-FLをフコースと乳糖に分解するGH95 α -L-フコシダーゼが重要であるため、各糞便中のメタゲノム情報を用いて、フコシダーゼ遺伝子の存在量や種類を解析した結果、レスポンドーの糞便中には、菌体内フコシダーゼ遺伝子と比較して菌体外フコシダーゼ遺伝子が多く、ノンレスポンドーではその逆であった。これらすべての遺伝子はレスポンドーで増殖した *B. wexlerae* 由来の遺伝子では無かったことから、レスポンドー糞便中の *B. wexlerae* は、他の細菌が2'-FLを菌体外で分解して生じたフコースや乳糖を利用して増殖したと推測された。実際に、*B. wexlerae* は2'-FLを利用して増殖が出来ない一方で、フコースと乳糖を利用して増殖できることが確認された。ノンレスポンドーでは、菌体内フコシダーゼを保有する細菌 (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*) が多く、2'-FLがそれらの細

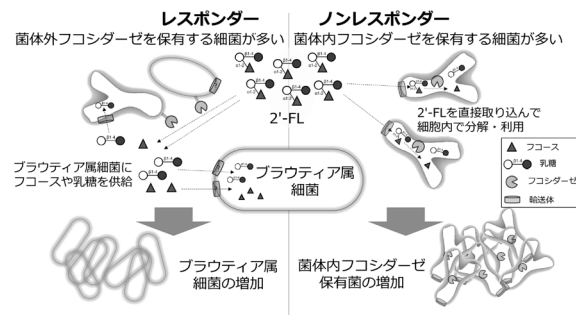


図5. 2'-フコシルラクトースによる *Blautia* 属細菌増殖作用メカニズム

菌に取り込まれて菌体内で分解・利用されていると推測された。続いて、菌体外フコシダーゼを保有する細菌を添加することによってノンレスポンドーの糞便中でも *B. wexlerae* が増殖するかを検証した。菌体外フコシダーゼを持つ *Bifidobacterium bifidum* MCC2030 を添加し、ノンレスポンドーの糞便を2'-FLを糖源とした培地で培養した結果、非添加と比較して、*B. wexlerae* が大幅に増加することが示された。以上の結果から、2'-FLによる *B. wexlerae* の増殖メカニズム (図5) が明らかになると同時に、加齢による腸内細菌叢の変化を、2'-FL や2'-FLと *B. bifidum* の組み合わせにより制御できる可能性が示された。

3. おわりに

本稿では、HRBの特徴および高齢者の腸内細菌叢制御に向けての取り組みについて紹介した。1899年にパスツール研究所の Tissier 博士によりビフィズス菌が発見されてから120年余り経過した現在においても、ビフィズス菌の機能性に関する研究報告は増え続けている。加えて、ビフィズス菌以外の腸内細菌の重要性も飛躍的なスピードで蓄積されている。今後も我々は、ビフィズス菌に秘められた機能性やその作用機序に加え、ビフィズス菌を含む腸内細菌叢全体の理解や制御に関する取り組みを通じて人々の健康に貢献すべく研究に邁進したい。

(引用文献)

- 1) Moeller AH *et al. Science*, Vol. 353, p. 380-382, (2016)
- 2) Odamaki T *et al. Int J Genomics*, 2015, 567809, (2015)
- 3) Xiao J *et al. Appl Environ Microbiol*, Vol. 76, p. 54-59, (2010)
- 4) Minami J *et al. Benef Microbes*, Vol. 7, p. 53-60, (2016)
- 5) Sugahara H *et al. Biosci Microbiota Food Heal*, Vol. 34, p. 87-93, (2015)
- 6) Sakurai T *et al. Microorganisms*, Vol. 7, p. 340, (2019)
- 7) Horigome A *et al. Front Microbiol*, Vol. 12, 610080, (2021)
- 8) Yoshimoto S *et al. Gut Microbes*, Vol. 13, e1865705, (2021)
- 9) Odamaki T *et al. BMC Microbiol*, 16, 90, (2016)
- 10) Horigome A *et al. Front Microbiol*, Vol. 13, 913624, (2022)

謝辞 本研究は、森永乳業株式会社にて、基礎研究所をはじめとする関係者の方々にご指導・ご助言いただきながら行われたものです。また、1-3は順天堂大学の清水俊明教授、久田研准教授との研究であり、先生方に多くのご支援・ご指導を賜りました。本研究に携わった全ての方々のご尽力とサポート無しではこのような賞をいただくことはできませんでした。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。