

調査・研究

食物繊維の大量摂取が腸内環境コントロールに有効である

(独) 理化学研究所・イノベーション推進センター
辨野特別研究室

辨野 義己

はじめに

ヒトの大腸内には多様な常在菌が常在し、複雑なエコシステムを形成している。腸内常在菌の構成は様々な要因：年齢や性別などの属性、食習慣、生活習慣、運動習慣および居住地域などの環境、便秘、肥満、ストレス、アレルギーや腸疾患に代表される健康状態などにより、変化することが明らかにされている。詳細な研究によりヒトの大腸内には実に500～1000種類、その数たるや飲送糞便1グラムあたり約1兆個に近い常在菌が棲みついている。これまでの培養可能な腸内常在菌の解析から分子生物学的手法を用いて培養困難な腸内常在菌を含む多様性解析が行われ、ようやくその全容が見えてきた。

本稿においては、1) 培養を介さない手法による腸内常在菌の多様性解析および2) 食物繊維が腸内常在菌のパターンを変える有効な手段であることを紹介する。

培養を介さない手法によるヒト腸内常在菌の多様性解析

腸内常在菌の約20%は培養可能な既知菌種であるが、残り80%は培養困難かあるいはその菌数が低いため、難分離性の未知菌種(群)であると推定されている(図1)¹⁻³⁾。ところがこの腸内常在菌の70～80%を占める難培養・難分離の腸内常在菌の解析に16S リボゾーム(r)RNA 遺伝子を指標とする分子生物学的手法が導入され、ようやく難培養・難分離の常在菌を含めた腸内常在

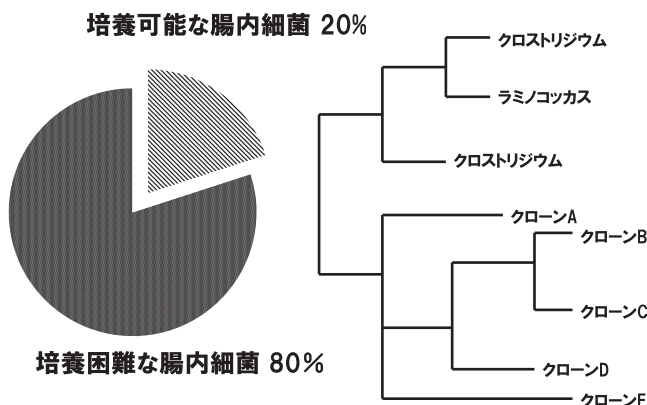


図1 腸内常在菌の全容解明
(分子生物学的手法の導入によりその全容を解明)

菌の全容が見えてきたのである^{1,2,4,6)}。分子生物学的手法によるヒト腸内常在菌の多様性解析に関する研究の一環として、16S rDNA クローンライブラリー法によりその検索を行ったところ、健康な日本人男性3名の糞便より744クローン（DNA）を取り出し、抽出クローンの25%を98%のホモロジー率を示す31既知菌種に同定し、残り75%のクローンが99の新規なファイトタイプ（系統型、Phylotype）に属することを明らかにした（表1）。このような16S rDNAによるクローンライブラリーの構築によって、ヒト腸内常在菌は*Clostridium* rDNA クラスタ IV、IX、XIVa および XVIII や *Bacteroides*、*Streptococcus*、*Bifidobacterium* の各グループなどに属する菌種（群）であることが明らかにされたのである³⁾。また、極端な菜食主義者の腸内常在

菌を検索したところ、*Clostridium* rDNA クラスタ XIVa、IV および XVIII が優勢に検出されることを認めた⁷⁾。さらに、高齢者（75～88歳）の腸内常在菌の解析の結果、240クローンを分離し、その46%を27種の既存菌種に同定し、残り54%はファイトタイプである⁸⁾。

16S rDNA クローンライブラリー法は腸内常在菌を構成している菌種（群）の解析が可能であるが、それを行うには時間と多額の費用が求められる。従って、腸内常在菌の解析において、迅速、簡便および大量のサンプル処理が要求される。そこで多様な微生物叢を数値として把握する分子生物学的手法としてRFLP法による多様性解析と遺伝子解析システムによる全自動解析を組み合わせたterminal-restriction fragment length polymorphism（T-RFLP）解析と呼

表1 16S rDNA クローンライブラリー法による健康成人、菜食主義者および高齢者の腸内菌叢の比較（%）

細菌（群）	健康成人 ³⁾			菜食主義者 ⁷⁾	高齢者 ⁸⁾		
	A	B	C		D	E	F
<i>Clostridium</i> クラスタ I	0	1.1	0	0	0	0	0
<i>Clostridium</i> クラスタ IV (<i>Clostridium leptum</i> グループ)	22.7	12.4	11	13.1	34.7	16.1	9.5
<i>Clostridium</i> クラスタ IX	0	9.8	34	0	0	35.8	14.3
<i>Clostridium</i> クラスタ XI	0	0.4	0.8	0	0	1.2	0
<i>Clostridium</i> サブクラスタ XIVa (<i>Clostridium coccides</i> グループ)	58.8	23.7	29	59.6	25.3	2.5	3.6
<i>Clostridium</i> サブクラスタ XIVb	0.5	0	0	0	0	0	0
<i>Clostridium</i> クラスタ XVI	0	4.1	0	1.7	4	0	0
<i>Clostridium</i> クラスタ XVII	0	8.3	0	0	0	2.5	0
<i>Clostridium</i> クラスタ XVIII	0	0	0.4	12	0	0	0
<i>Bifidobacterium</i>	0	0.4	5.3	0.5	0	0	0
<i>Lactobacillus</i>	0	0	0	0	0	1.2	0
<i>Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides</i>	5	9.4	16.3	6	20	8.6	15.4
<i>Streptococcus</i>	3.7	28.8	0.4	0	2.7	1.2	0
<i>Preteobacteria</i>	0.5	0.8	1.6	0	5.3	17.3	54.8
その他	8.8	0.8	1.2	7.1	8	13.6	2.4

ばれる手法が提案された⁹⁾。腸内常在菌の多様性解析において本法と16S rDNA塩基配列を使った各分子生物学的手法とを比較すると、その多様性解析やデータベース構築という点で優れた方法である。本法を用いて個人毎のT-RFパターンで表現される「腸内常在菌プロファイル」を作製し、その集積によりデータベースが構築されると、どのパターンが常態あるいは病態のどの段階であるかという判定が可能になる。

食物繊維が腸内常在菌のパターンを変える

腸内常在菌が棲む場である大腸はヒトの臓器の中で最も種類の多い疾患が発症する場であることを意味している。腸内常在菌を構成している細菌が直接腸管壁に働き、消化管の構造・機能に影響し、宿主の栄養、薬効、生理機能、老化、発がん、免疫、感染などにきわめて大きな影響を及ぼすことになる。

特に、食物繊維の機能として、図2に示すように、善玉菌である腸内ビフィズス菌の増加、便量の増大化、そして、コレステ

ロール吸収抑制が注目されている。その機能が様々な疾病リスクの軽減に貢献していることも知られるようになった。

国際的にヒトの各臓器のがんによる死亡率は異なり、生活習慣、生活条件および食餌成分の違いによることが知られている。特に結腸がんによる死亡率と脂肪の摂取量と正の相関関係にある点で注目され、近年わが国における結腸がんによる死亡率の増加は顕著である。米国ガン研究財団の調査(www.aicr.org、1997年7月発表、2007年11月に第二次報告発表)によれば、食物繊維の摂取量が少なく、運動不足が続くと大腸ガンリスクが決定的に高く、さらに動物性脂肪の高摂取やアルコールの多飲が大腸ガンによる死亡数を増加させると警告している。これまで大腸がんの高リスク地域と低リスク地域の人々の腸内常在菌を比べてみると、有意な差を認めないとされていたが、米国からの研究報告では伝統的な日本食を摂取させると、ある種の嫌気性菌種が優勢に検出されるとしている^{10,11)}。さらに、高脂肪食を常食としている都市部のカ

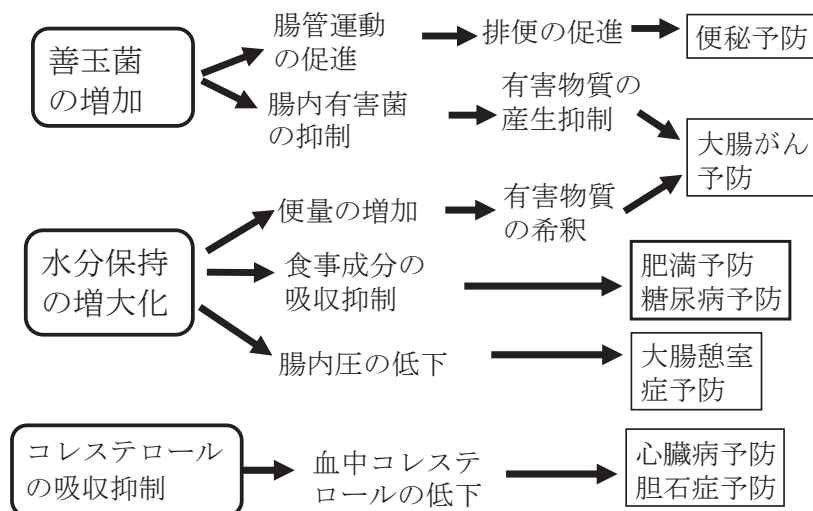


図2 食物繊維の機能

ナダ人および高脂肪食摂取の日本人の腸内常在菌の構成を伝統的な日本食を常食とする農村部の日本人ならびに都市部の日本人成人にそれと比較すると、高脂肪食摂取により、*Bifidobacterium*の比率が激減し、逆に*Bacteroides*や*Clostridium*などの比率が増加することが認められている¹²⁾。また、玄米食摂取による腸内常在菌パターンの特徴は精白米摂取に比較して¹³⁾、*Bifidobacterium adolescentis*および*Enterococcus faecalis*の有意な増加が認められ、*Collinsella aerofaciens*および大腸菌が有意に減少することも認められている。De Carlottaら¹⁴⁾は、食物繊維摂取量の異なるヨーロッパの子供と田舎にすむアフリカの子供における腸内常在菌を検索したところ、セルロースやキシランの分解に寄与している*Prevotella*や*Xylanibacter*が優勢であるアフリカの子供の腸内にはBacteroidetesの有意な増加、Firmicutesの有意な減少を認め、食物繊維摂取の必要性を示唆している。また、食物繊維摂取により、短鎖脂肪酸量が腸内常在菌により産生がうながされ、特に、酪酸の産生が大腸がん形成に阻害作用していることも知られている¹⁵⁾。

このように腸内常在菌の構成は食餌によって変動することは考えられるが、いまだ一致した結論はえられていない。それは腸内常在菌検索法の違いに加えて食習慣、生活習慣、運動習慣、年齢差などの課題が山積されているためである。

おわりに

培養を介さない手法での腸内常在菌の多様性解析の進展は食餌成分の機能と密接な関係にある。特に、食物繊維を多く含む食

品を日常的に摂取することがヒトの健康増進・病気予防に結びついている。今後、腸内常在菌の詳細な解明とともに、それらに大きな影響を与える食物繊維の機能解明が期待されている。

引用文献

- 1) Langedijk, P.S. *et al.* : Quantitative fluorescence in situ hybridization of *Bifidobacterium* spp. with genus-specific 16S rRNA-targeted probes and its application in fecal samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61** : 3069-3075, 1995
- 2) Suau, A. *et al.* : Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65** : 4799-4807, 1999
- 3) Hayashi, H. *et al.* : Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based method. *Microbiol Immunol* **46** : 535-548, 2002
- 4) Franks, A.H. *et al.* : Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16S rDNA-targeted oligonucleotide probes. *Appl Environ Microbiol* **64** : 3336-3345, 1998.
- 5) Wilson, K.H. and Blitchington, R.B. : Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. *Appl*

- Environ Microbiol* **62** : 2273-2278, 1996.
- 6) Zoetendal, E.G. *et al.* : Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Appl Environ Microbiol* **64** : 3854-3859, 1998.
- 7) Hayashi, H. *et al.* : Fecal microbial diversity in a strict vegetarian as determined by molecular analysis and cultivation. *Microbiol. Immunol* **46** : 819-831, 2002.
- 8) Hayashi, H. *et al.* : Molecular analysis of fecal microbiota in elderly individuals using 16S rDNA library and T-RFLP. *Microbiol. Immunol* **47** : 557-570, 2003.
- 9) Liu, W.-T. *et al.* : Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Appl. Environ Microbiol* **63** : 4516-4522, 1997.
- 10) Moore, W.E.C. and Holdeman, L.V. : Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Appl. Microbiol.*, **27** : 961-979, 1974.
- 11) Moore, W.E.C. *et al.* : The effect of diet on the human fecal flora, In Bruce, W.R., Corres, P., Lipkin, M., Tannenbaum, S.R., and Wilkins, T.D. (eds.), Banbury report & Gastrointestinal Cancer: endogenous factors, p.11-24, Gold Spring Harbor Laboratory, USA, 1981.
- 12) Benno, Y. *et al.* : Comparison of the fecal microflora in rural Japanese and urban Canadians. *Microbiol. Immunol.* **30** : 521-531, 1986.
- 13) Benno, Y. *et al.* : Effect of rice fiber on human fecal microflora. *Microbiol. Immunol.*, **33** : 435-440, 1989.
- 14) De Filippo C *et al.* : Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **107** : 14691-14696, 2010.
- 15) Clausen, M.R. *et al.* : Colonic fermentation of dietary fibre to short chain fatty acids in patients with adenomatous polyps and colonic cancer. *Gut.* **32** : 923-928, 1991.