

# alicセミナー 腸内フローラと食品・乳製品

平成28年2月8日（月）

公益財団法人日本ビフィズス菌センター

学術委員会 委員 瀬戸 泰幸

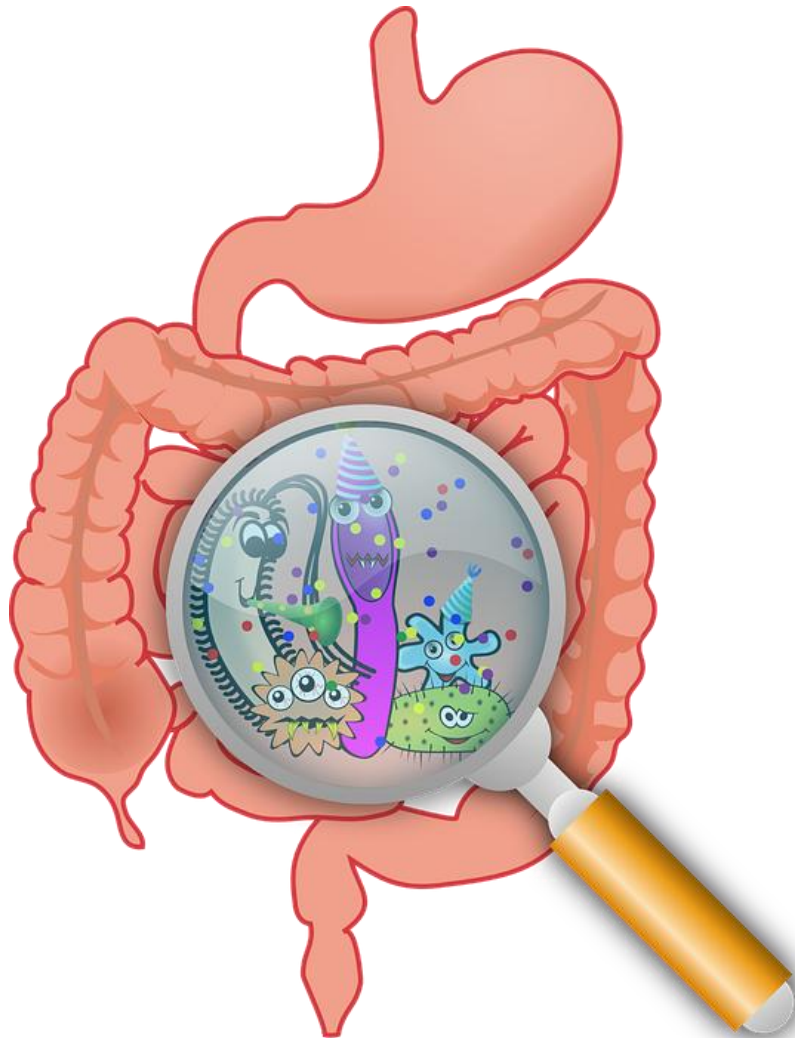
（雪印メグミルク(株)ミルクサイエンス研究所 主席）

# 本日の内容

- ・腸内フローラとは
- ・腸内フローラの解析方法
- ・腸内フローラの構成菌と健康なヒトのフローラ
- ・食事と腸内フローラ
- ・腸内フローラの役割と疾病
- ・腸内フローラの改善方法
- ・今後の課題

# 腸内フローラとは

ヒトの腸内には数多くの細菌が棲みついている。



最新研究では、腸管全体で  
**1000種類、1000兆個**  
(ヒトの細胞が約60兆個)



これらの菌の集合体を  
腸内フローラと呼ぶ。

(フローラ=お花畑)

ちなみに、ヒトのうんちには、  
**1gに約1兆個の腸内細菌が**  
含まれる。

# なぜ今、腸内フローラが注目されるのか

## 2つの大きな要因

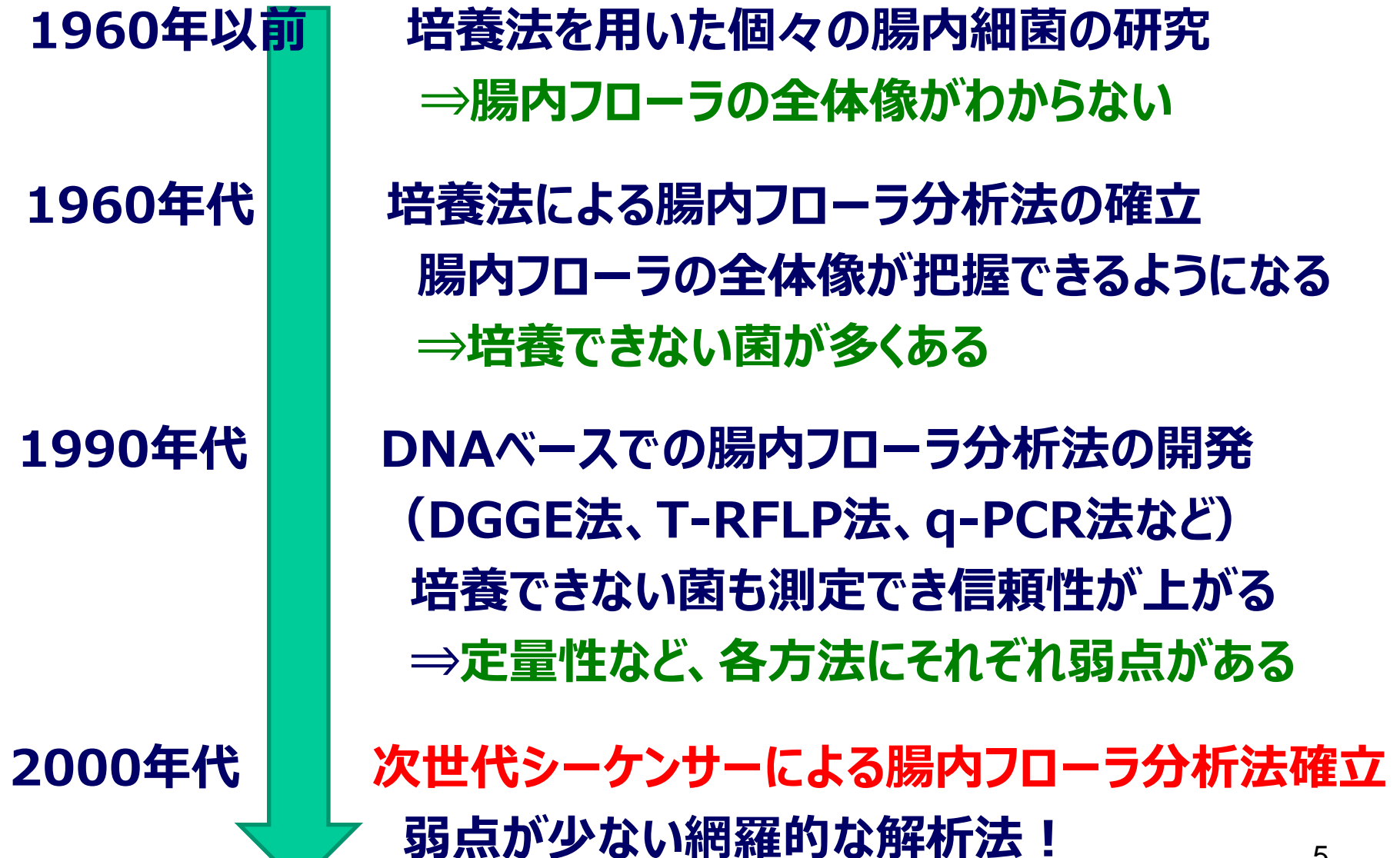
### 1. 腸内フローラの解析法の発展

- ・培養法による解析から、DNAを利用した解析へ
- ・次世代シーケンサーによる大規模な解析方法の確立

### 2. 腸管免疫研究の発展

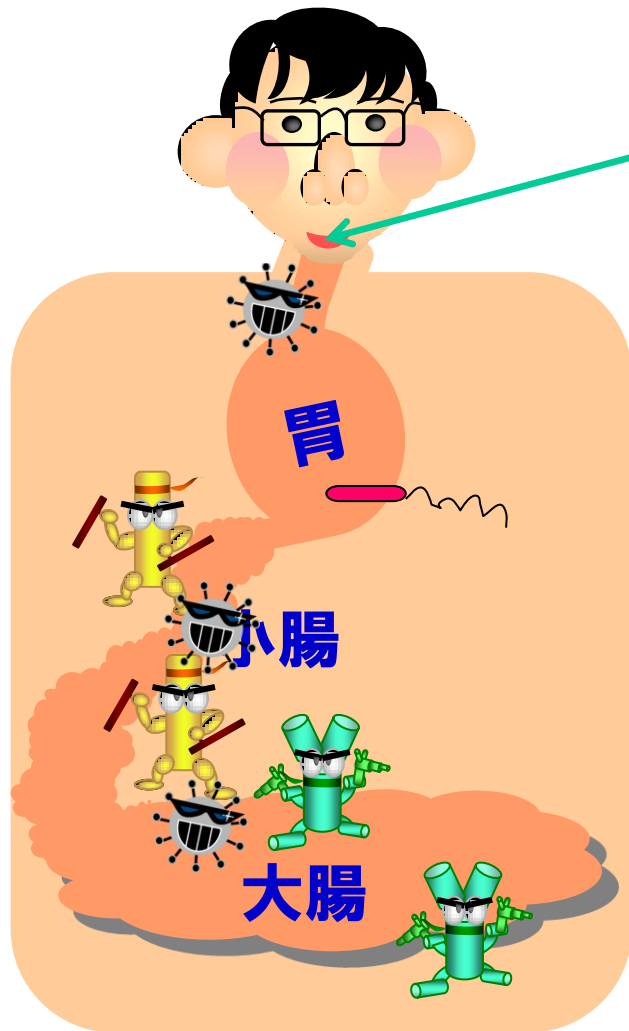
- ・栄養や水分吸収の場と考えられてきた腸管が、最大の免疫器官でもあることが明らかに。
- ・腸内フローラが、腸管の免疫応答と密接に関係していることが判明。

# 腸内フローラの分析方法の歴史



# 腸管免疫研究の発展

腸管内は、外部環境と直接つながっている。



病原菌やウイルスも取り込まれる。



腸管は感染しやすい場所

腸管は実はヒト最大の免疫器官

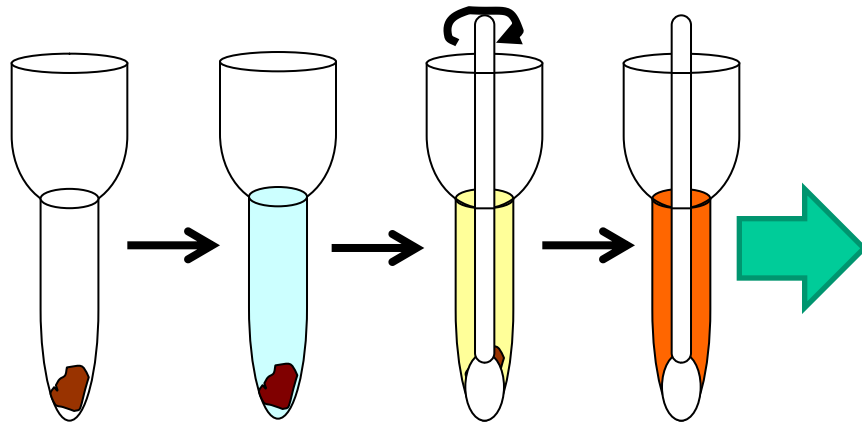


腸内細菌やその代謝物が、腸管の細胞に作用し、免疫反応と関わることが分かってきた。

# 本日の内容

- ・腸内フローラとは
- ・**腸内フローラの解析方法**
- ・腸内フローラの構成菌と健康なヒトのフローラ
- ・食事と腸内フローラ
- ・腸内フローラの役割と疾病
- ・腸内フローラの改善方法
- ・今後の課題

# 腸内フローラの分析（培養法）

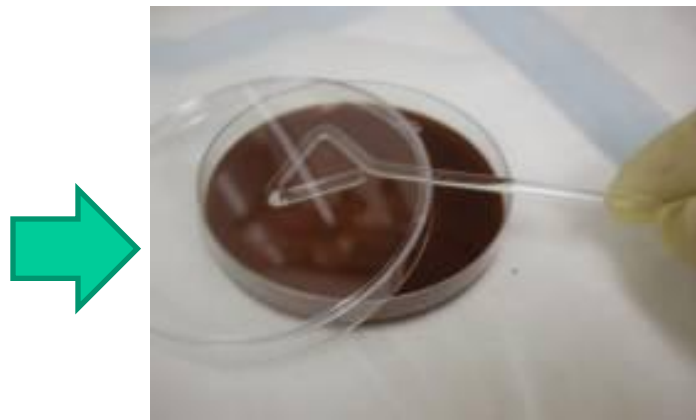


糞便

均質化 試料



試料の希釈



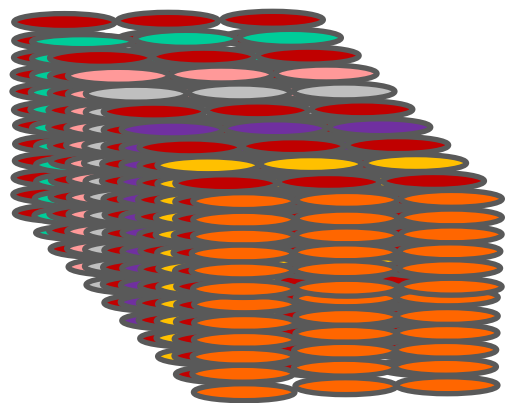
試料の塗抹



嫌気培養



# 培養法による腸内フローラ解析



1名あたり10種類以上の  
解析培地

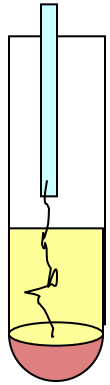
菌数測定



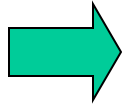
複数のコロニーが出る場合が  
あり、測定に熟練が必要。

- ・すぐ培養しないと菌が死ぬ
- ・多くの人手が必要
- ・菌数測定に熟練が必要
- ・培養できない菌も多い

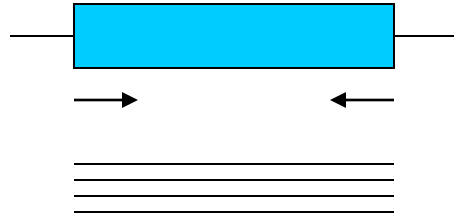
# 次世代シーケンサーによる腸内フローラの分析



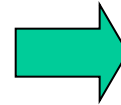
便からDNAを抽出



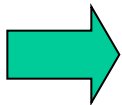
16S-rRNA遺伝子



細菌の分類指標となる  
遺伝子をPCR法で増幅



次世代シーケンサーで  
配列を解読



読み取った配列の  
分類をソフトで決定

- ・凍結保存サンプルも解析できる。
- ・培養できない菌も解析できる。
- ・培養法よりは少人数で済む。
- ・ソフトウェアへの習熟が必要。

# 培養法と次世代シーケンサー法の比較

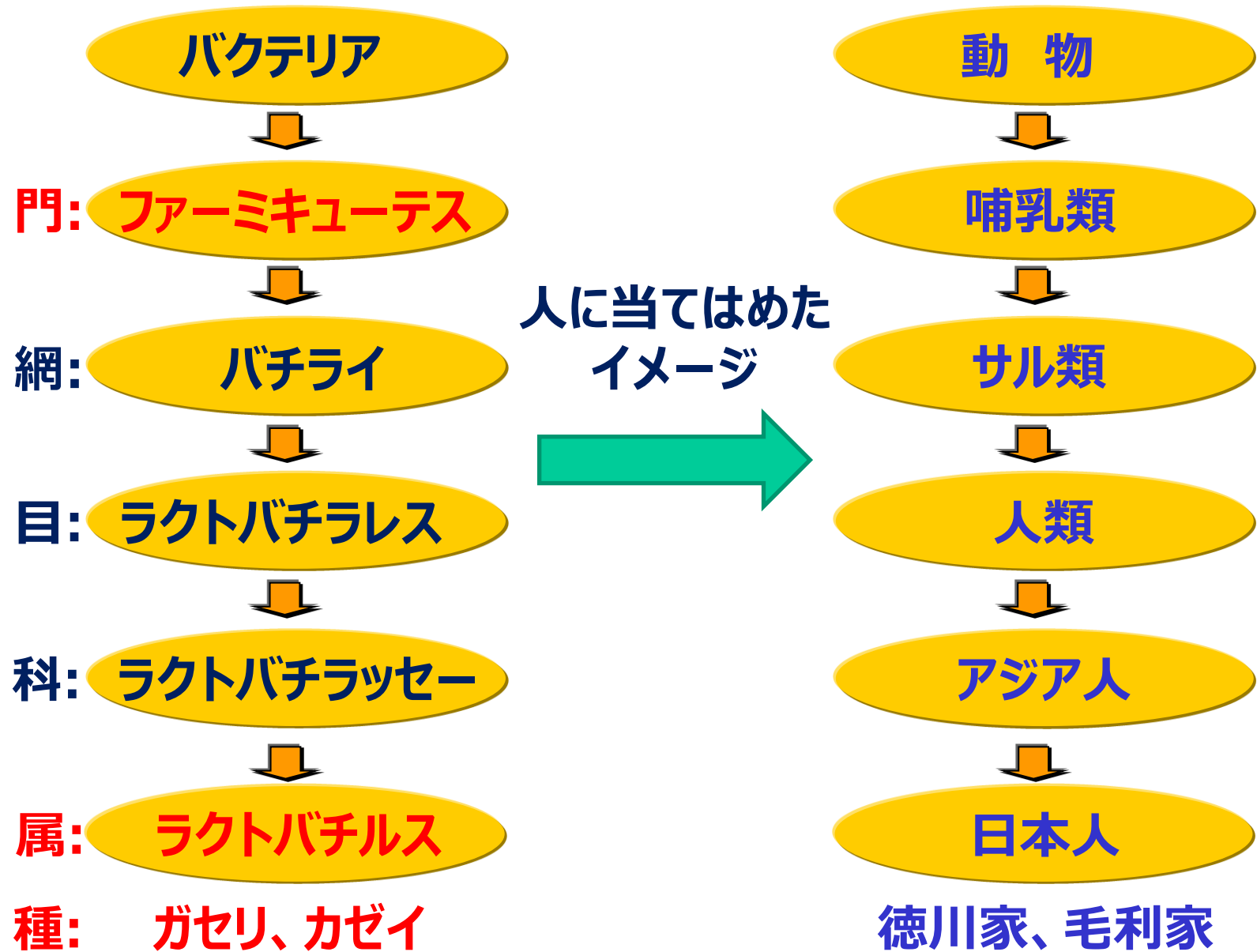
	培養法	シーケンサー法
測定菌の広さ	×培養可能な菌のみ	○全ての菌が対象
分類の細かさ	×大まか	○細かい
必要な人手	×多い	○少ない
凍結保存糞便	×使えない	○使用可能
生菌の分離	○可能	×できない
死菌の影響	○測定されない	△DNA残れば影響
コスト	○安い	×高い

シーケンサー法は、腸内フローラ解析技術として優れているが、培養法には生菌を分離できるメリットがある。

# 本日の内容

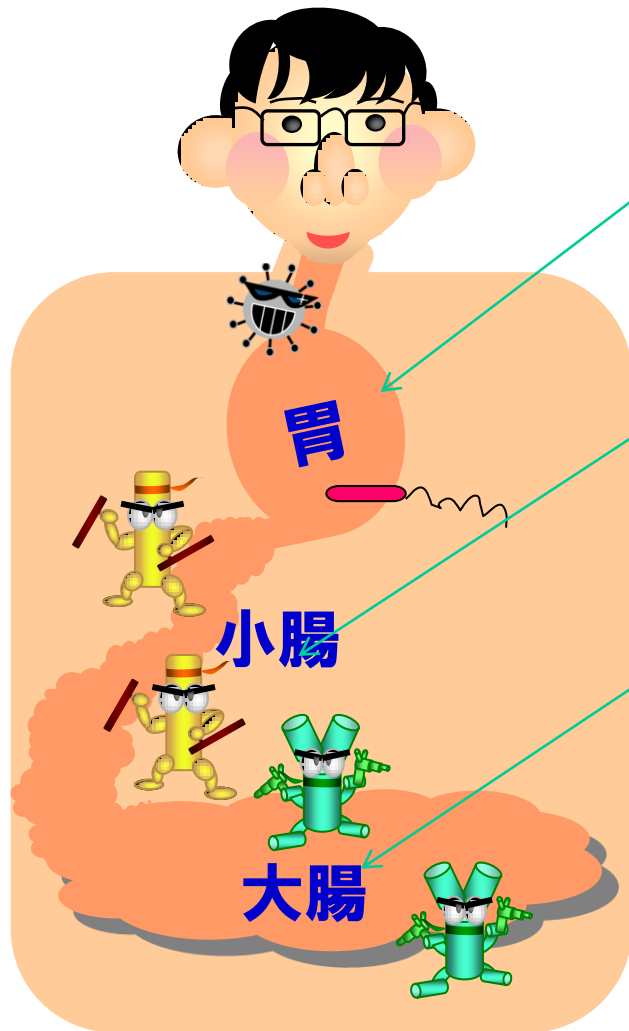
- ・腸内フローラとは
- ・腸内フローラの解析方法
- ・**腸内フローラの構成菌と健康なヒトのフローラ**
- ・食事と腸内フローラ
- ・腸内フローラの役割と疾病
- ・腸内フローラの改善方法
- ・今後の課題

# 腸内細菌の分類について



# 消化管の部位によるフローラの違い

消化管の各部位で菌数やフローラは異なっている。



胃：1g中1000個以下  
耐酸性ある一部のラクトバチルス

小腸：1g中1万～1000万個程度  
ラクトバチルスなどが中心

大腸：1g中1000億個程度  
バクテロイデス、クロストリジウム、ビ  
フィズス菌などの絶対嫌気性の菌

腸内フローラという場合、通常は  
**大腸や糞便のフローラ**を指す<sup>14</sup>

# 腸内フローラを構成する主な菌

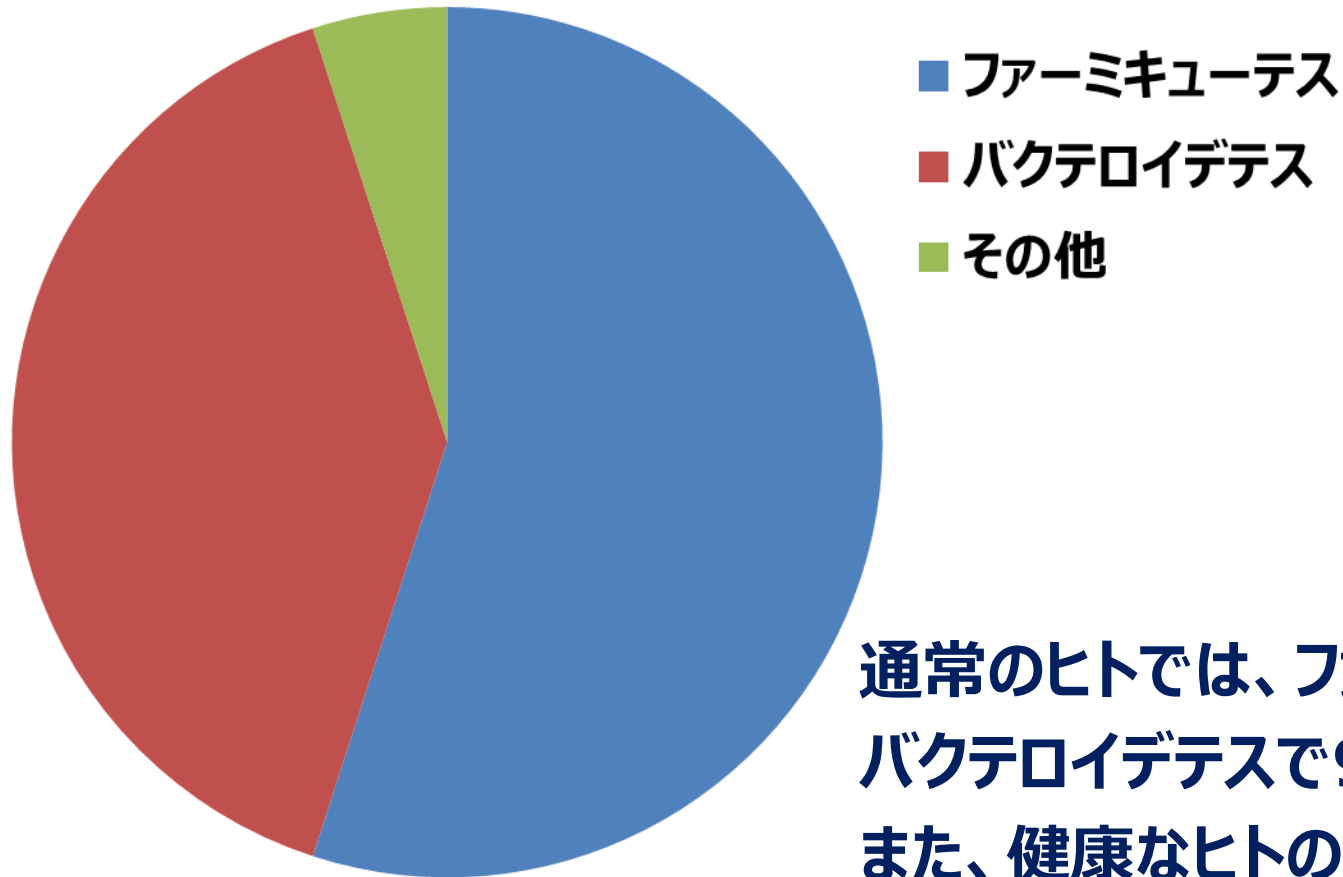
広く捉えるときは**門レベル**の分類を良く使う。

細かくみるときは**属、種レベル**の分類をよく使う。

門	(網、目、科)	属	種
<b>ファーミキューテス</b>		クロストリジウム ルミノコッカス ラクトバチルス	ガセリ、カゼイ
<b>バクテロイデテス</b>		バクテロイデス プレボテラ	
アクチノバクテリア プロテオバクテリア		ビフィドバクテリウム エッシェリッチア (大腸菌)	

# 健康なヒトの腸内フローラ

## 門レベルの分類

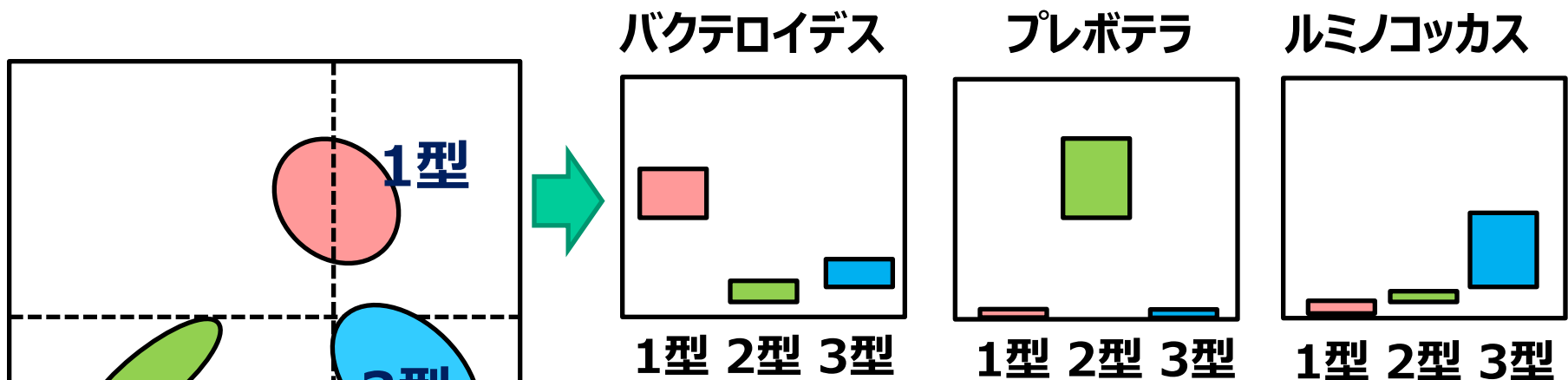


通常のヒトでは、ファーミキューテスとバクテロイデテスで95%を占める。また、健康なヒトのほうがいろいろな菌を保有している（多様性が高い）といわれている。



# 健康な人の腸内フローラ： エンテロタイプ

近年、健康な人の腸内フローラは、主に3パターンに分類されることが報告された。Arumugamら Nature 2011



**1型**：バクテロイデス属が多いタイプ

**2型**：プレボテラ属が多いタイプ

**3型**：ルミノコッカス属が多いタイプ

# 各エンテロタイプの特徴

エンテロタイプは食習慣との関係があるといわれている。

- 1型（バクテロイデスタイプ）

米国人や中国人に多くみられ、低炭水化物、高タンパク質の食事に多いとされる。

- 2型（プレボテラタイプ）

アジア人、中南米やアフリカの人に多くみられ、高食物繊維の食事に多いとされる。

- 3型（ルミノコッカスタイプ）

日本人やスウェーデン人に多くみられ、動物性タンパク質と脂肪が多い食事と関連性があるとされる。

ただし、きれいに3つには分けないという研究者もいる。

# 本日の内容

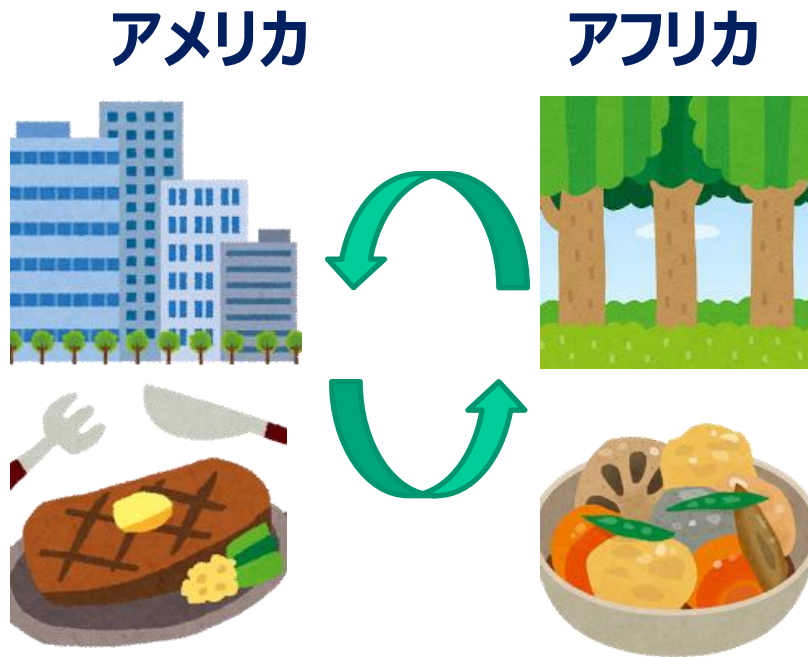
- ・腸内フローラとは
- ・腸内フローラの解析方法
- ・腸内フローラの構成菌と健康なヒトのフローラ
- ・**食事と腸内フローラ**
- ・腸内フローラの役割と疾病
- ・腸内フローラの改善方法
- ・今後の課題

# 食事と腸内フローラ

食事と腸内フローラは密接な関係がある。

食事を変更して2週間で腸内フローラは変化する

(O'Keefe SJ et al, Nat Commun. 2015)



アメリカに住むアフリカ人と南アフリカ人各20名の生活を入れ替えた。



2週間で腸内フローラが変化した。アメリカ生活では胆汁酸が増え、短鎖脂肪酸が減少した。

# 食事と腸内フローラ

これまでに報告がある、食事とフローラの関係

- **高脂肪食**

肥満になるとファーミキューテス門が増える。

- **肉食**

バクテロイデテス門や大腸菌の仲間が増える

- **低食物繊維食**

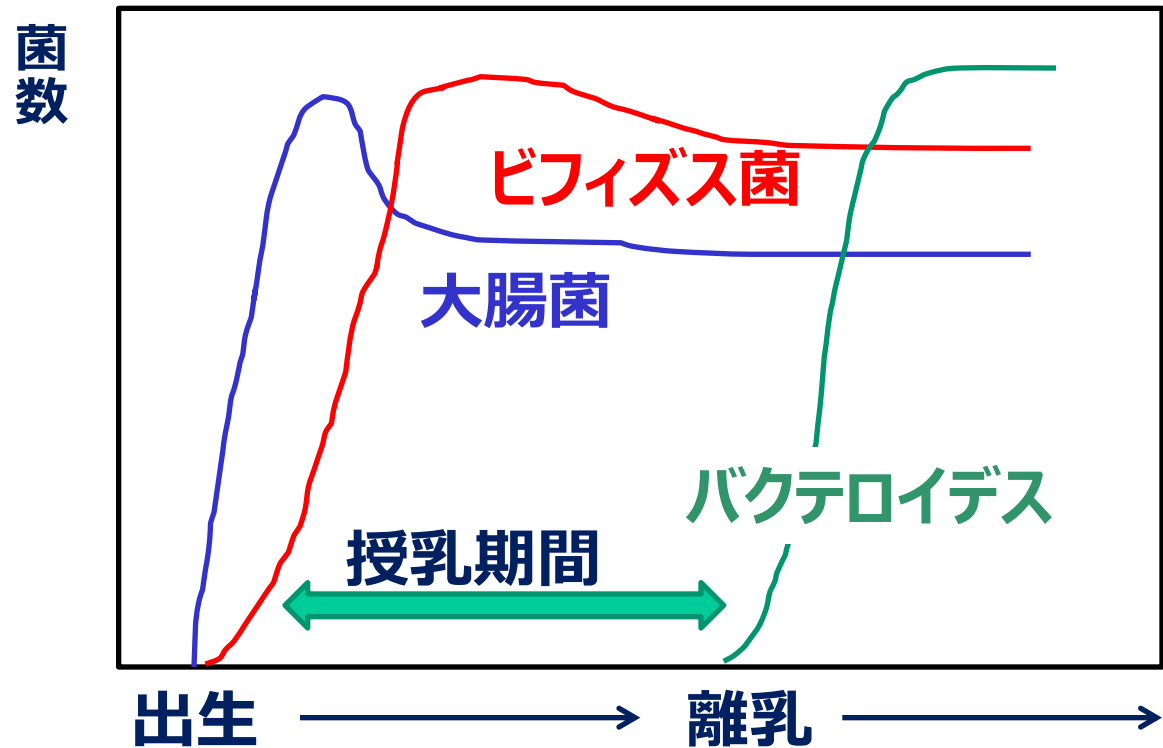
腸内細菌の多様性が減少する。

その他、細かい菌種が変化する報告もあるが、評価が定まっていないものもあるのでここでは省略する。

# 母乳と腸内フローラ

母乳は赤ちゃんの理想の食事。

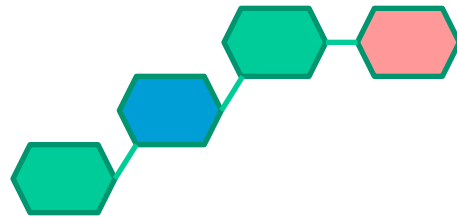
母乳で育てられた赤ちゃんではビフィズス菌がほとんどを占める。



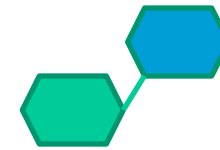
# 母乳と腸内フローラ

母乳中の特別な構造を持つオリゴ糖が、ビフィズス菌を増やすカギ

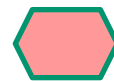
Kitaokaら Appl. Environ. Microbiol. (2005)  
Wadaら Appl Environ Microbiol. (2008)



ラクト-N-テトラオース



ラクト-N-ビオースI



グルコース



ガラクトース



N-アセチルグルコサミン

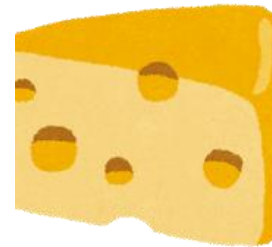
数ある腸内細菌の中で、赤ちゃんにいるタイプのビフィズス菌だけの栄養源となる。

# 乳製品と腸内フローラ

牛乳に含まれる乳糖には、オリゴ糖ほどではないが、ビフィズス菌を増やす作用がある。

ヨーグルトには腸内ではたらく乳酸菌（プロバイオティクス）を使用しているタイプや、腸内の有用菌を増やすオリゴ糖を含むタイプがある。

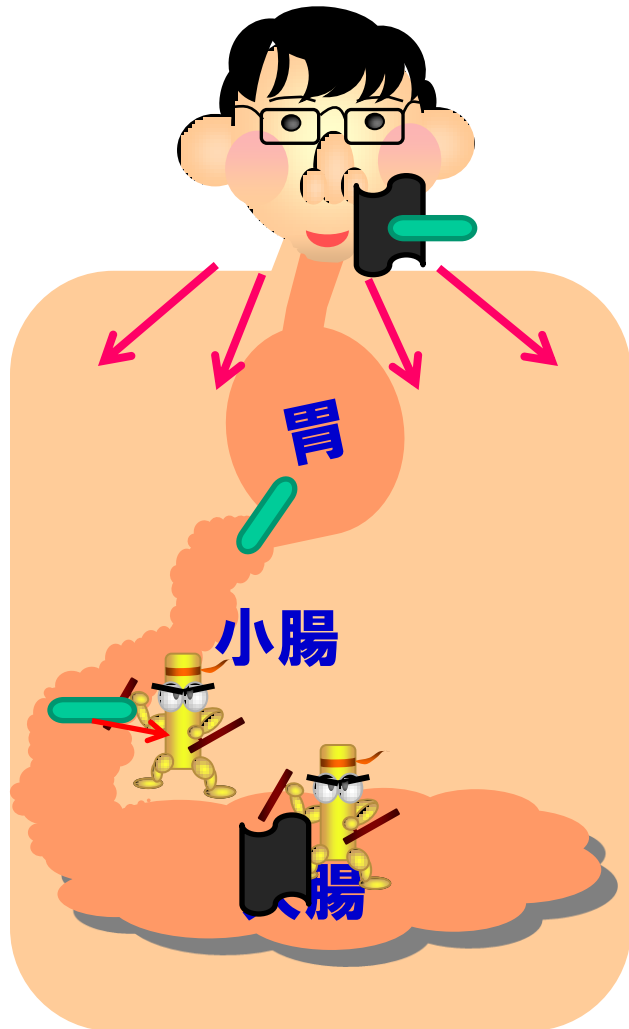
チーズなどが、腸内フローラに及ぼす影響についてはまだよくわかっていない。





# 日本人の食事と腸内フローラ

海苔を分解できる酵素を日本人の腸内細菌から発見  
(J-H Hehemann, et al, Nature, 2010.)



海洋細菌の研究者が海苔を分解できる菌を発見、分解酵素を同定。

日本人の腸内細菌（バクテロイデス・プレビウス）にも酵素があることが判明。

なぜ日本人の腸内細菌だけか（仮説）

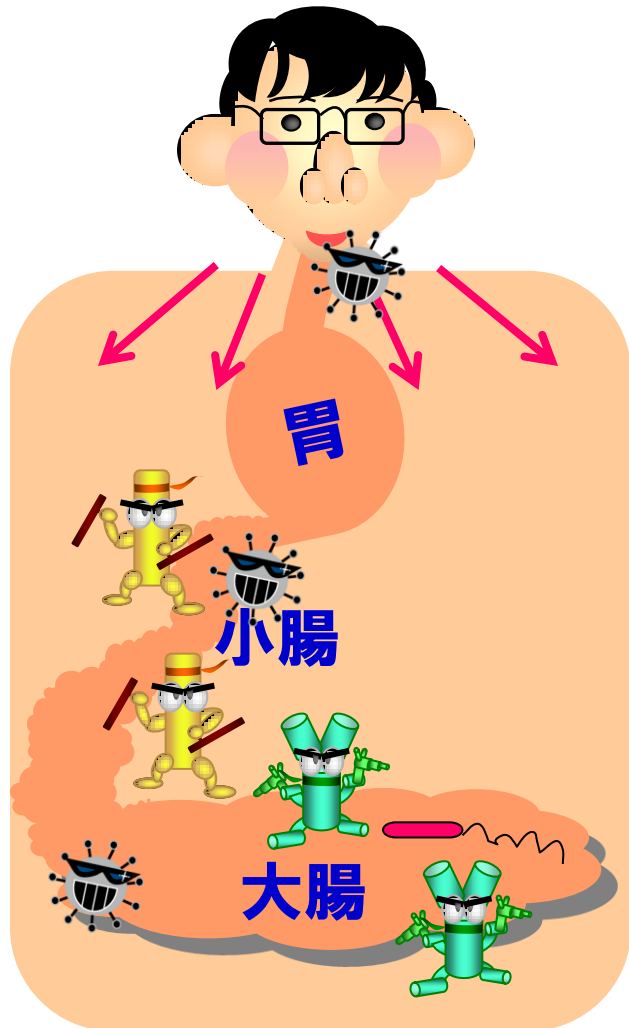
- ①海苔と一緒に海苔分解菌を食べる。
- ②海苔分解菌が腸に届く
- ③腸内細菌と遺伝子のやり取りを行う。
- ④腸内細菌が海苔を分解できるようになる。

# 本日の内容

- ・腸内フローラとは
- ・腸内フローラの解析方法
- ・腸内フローラの構成菌と健康なヒトのフローラ
- ・食事と腸内フローラ
- ・**腸内フローラの役割と疾病**
- ・腸内フローラの改善方法
- ・今後の課題

# 腸内フローラの役割

腸内フローラは、主に次のような働きで健康に寄与していると考えられている。



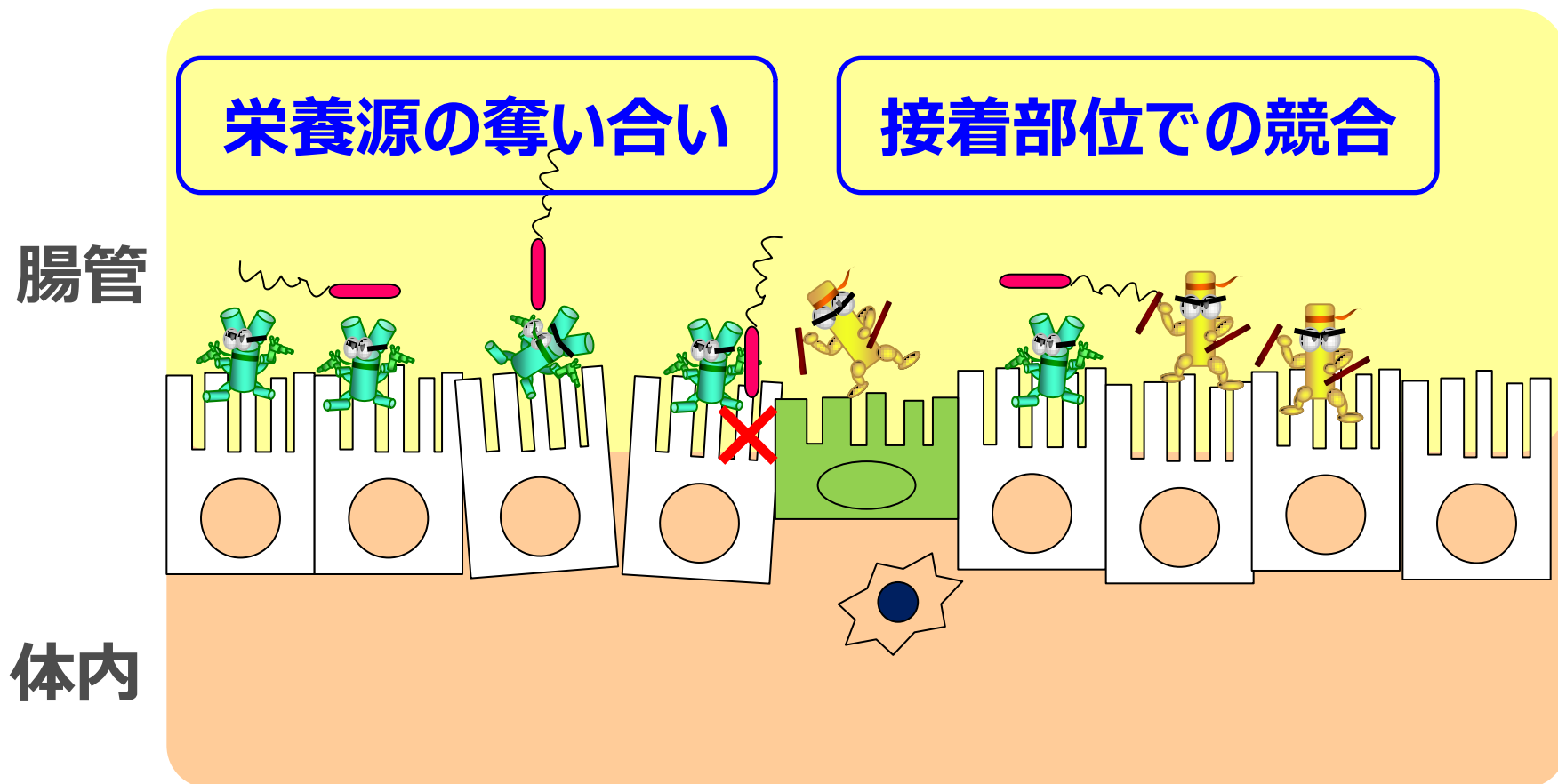
有害菌に拮抗して、腸管への接着や腸管内での増殖を抑制する。

菌の構成物や代謝物が、免疫細胞を刺激し、免疫を制御する。

菌の代謝物が腸管細胞の栄養となり、腸管のバリア性を高める。

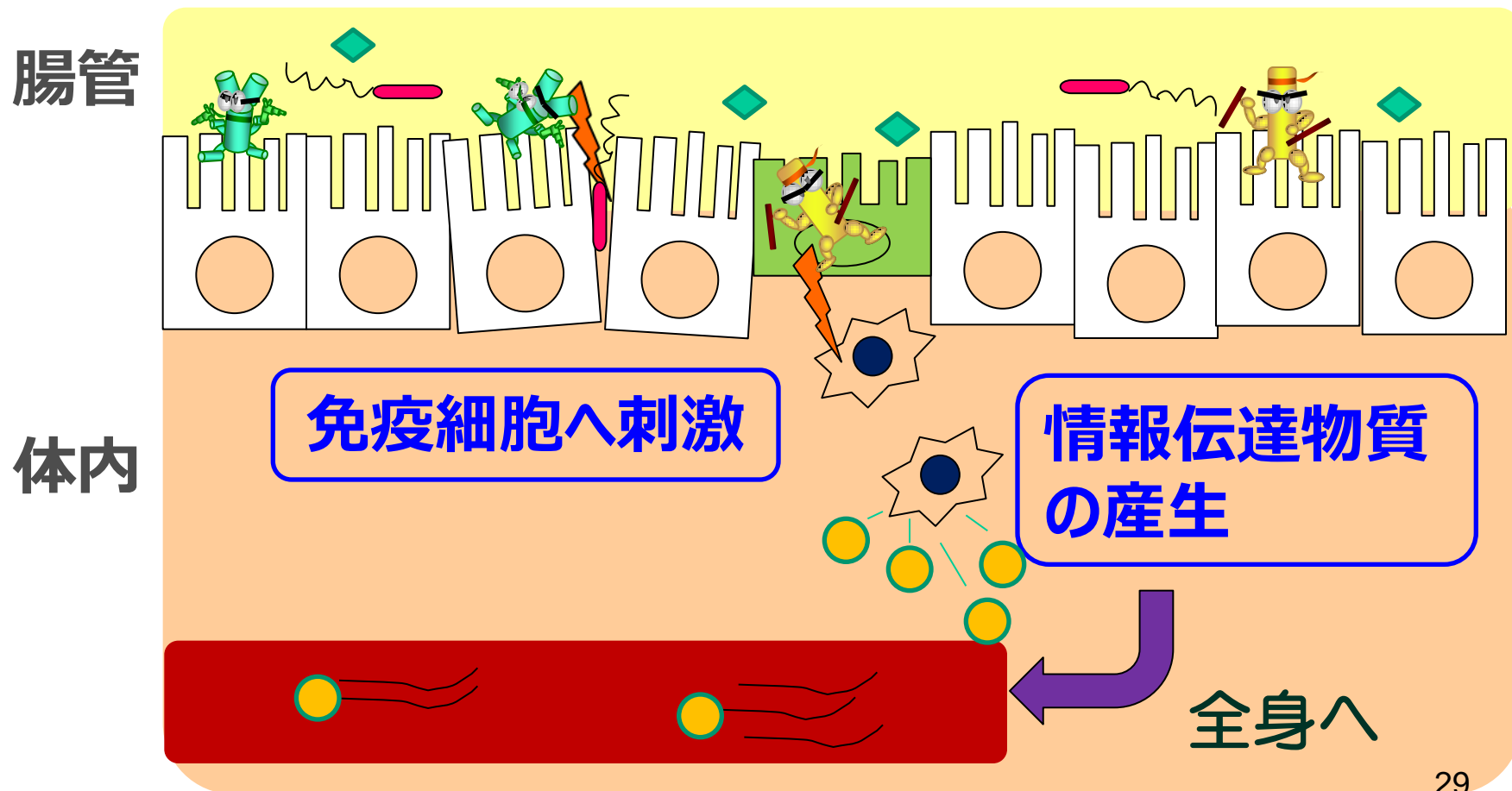
# 腸内フローラの働き1

有害菌の腸管への接着や増殖を抑え、感染を抑制する。



# 腸内フローラの働き 2

菌の構成物や代謝物が免疫細胞を刺激して免疫を制御する。



# クロストリジウムと免疫制御

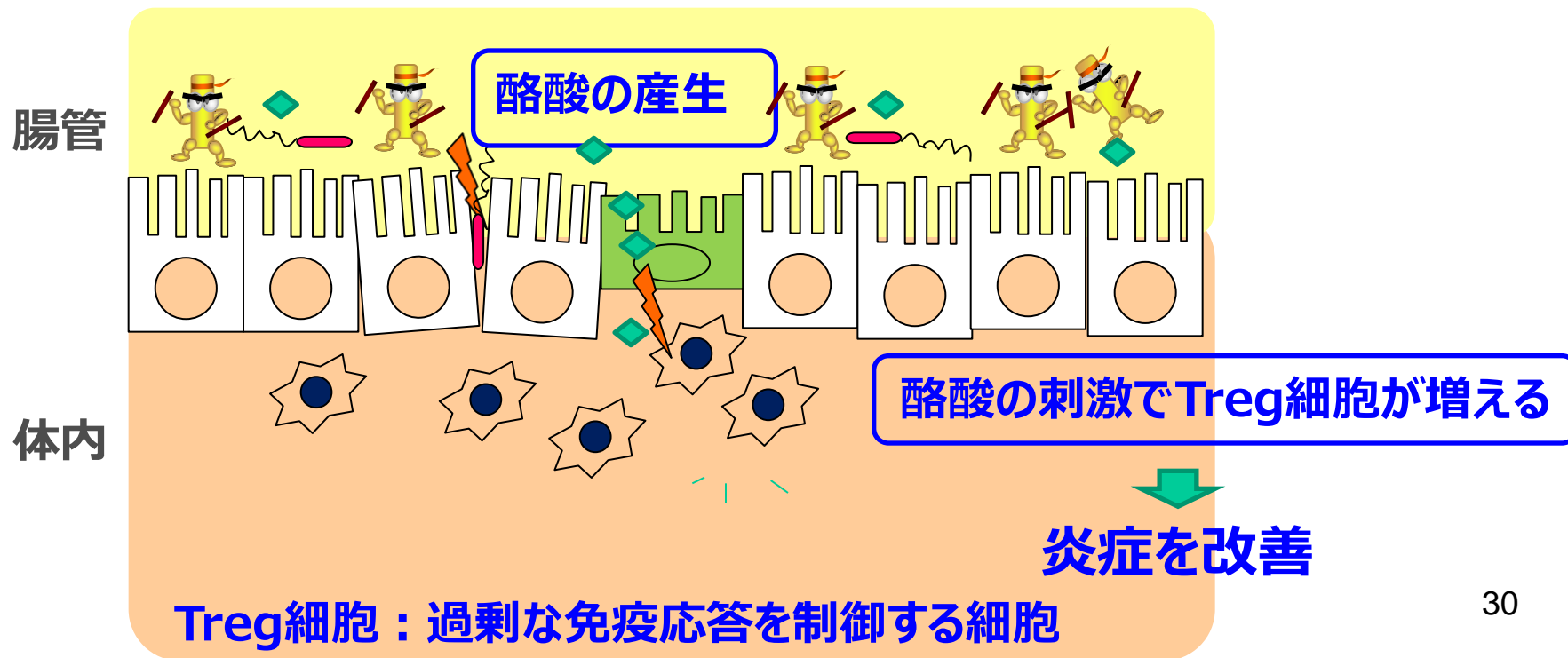
17種類の腸内細菌で炎症が抑制される

(Atarashi et al, Nature. 2013)

腸内フローラからクロストリジウム属中心とする17種の菌を分離

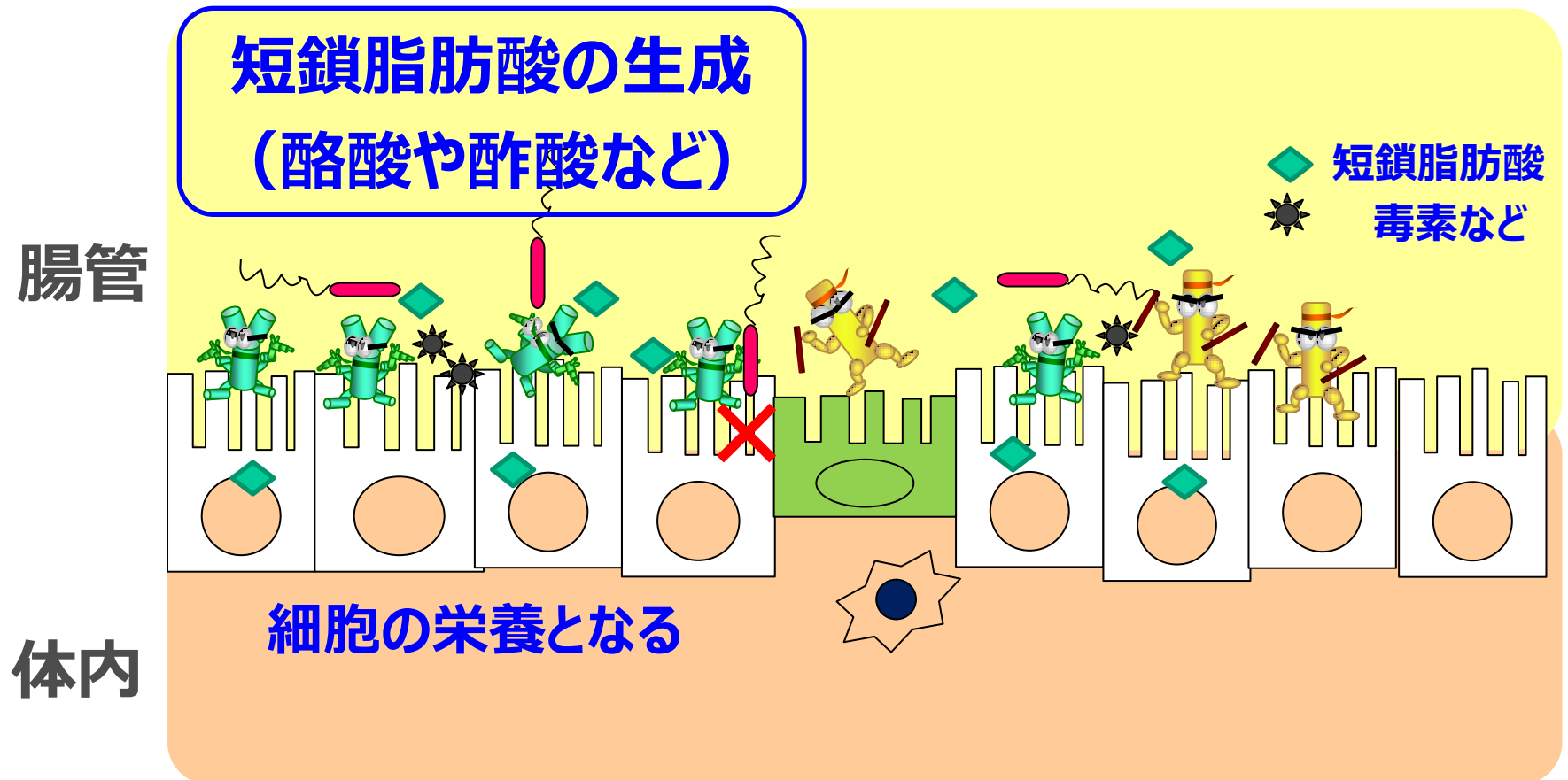


炎症モデルマウスに投与すると、炎症が大きく改善



# 腸内フローラの働き3

代謝物が腸管細胞の栄養となり、また、腸管のバリア性を高める。

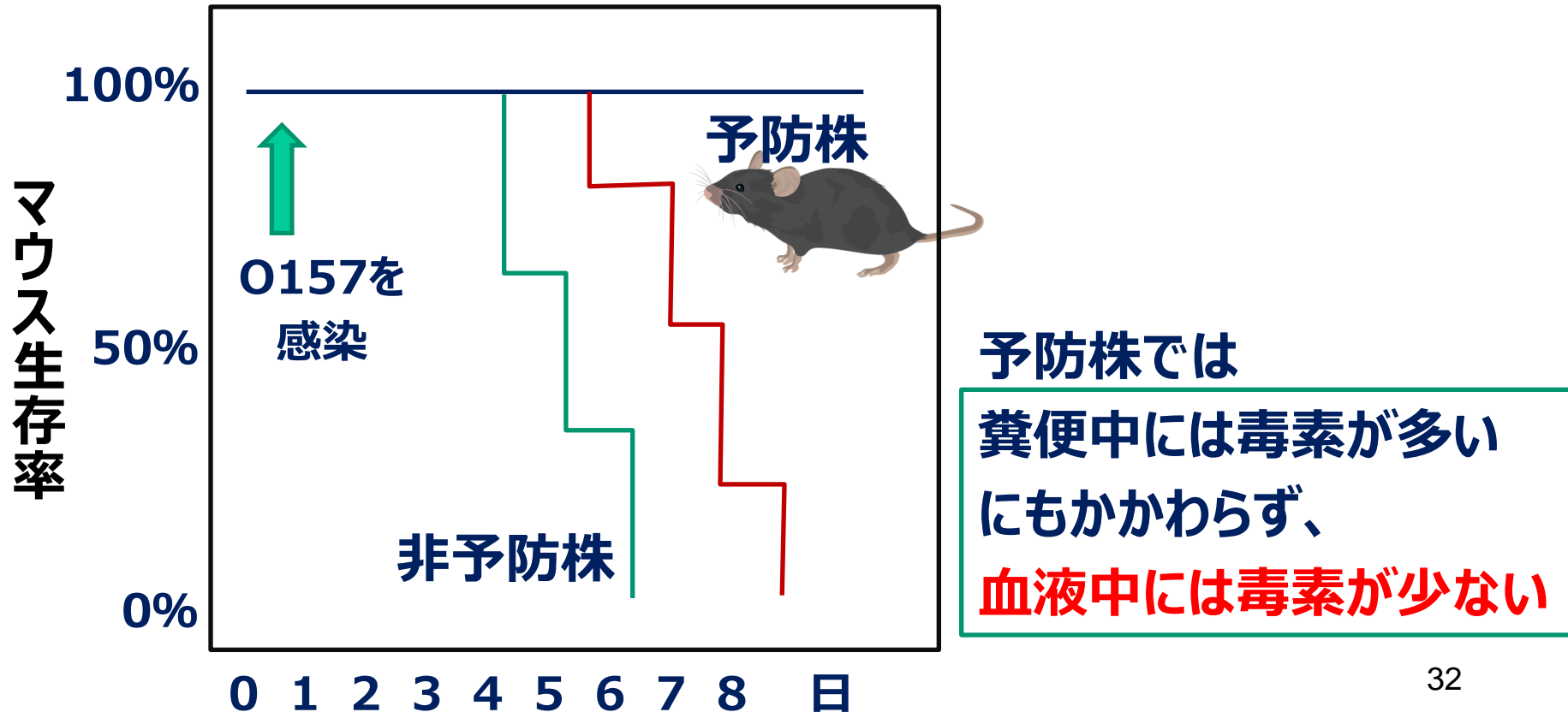


# O157感染と腸内フローラ

特定のビフィズス菌が大腸菌O157によるマウスの死を予防

(S Fukuda et al, Nature. 2011)

無菌マウスにビフィズス菌を投与した後にO157を感染させると、特定のビフィズス菌のみがマウスの死を予防した。





# 0157感染と腸内フローラ

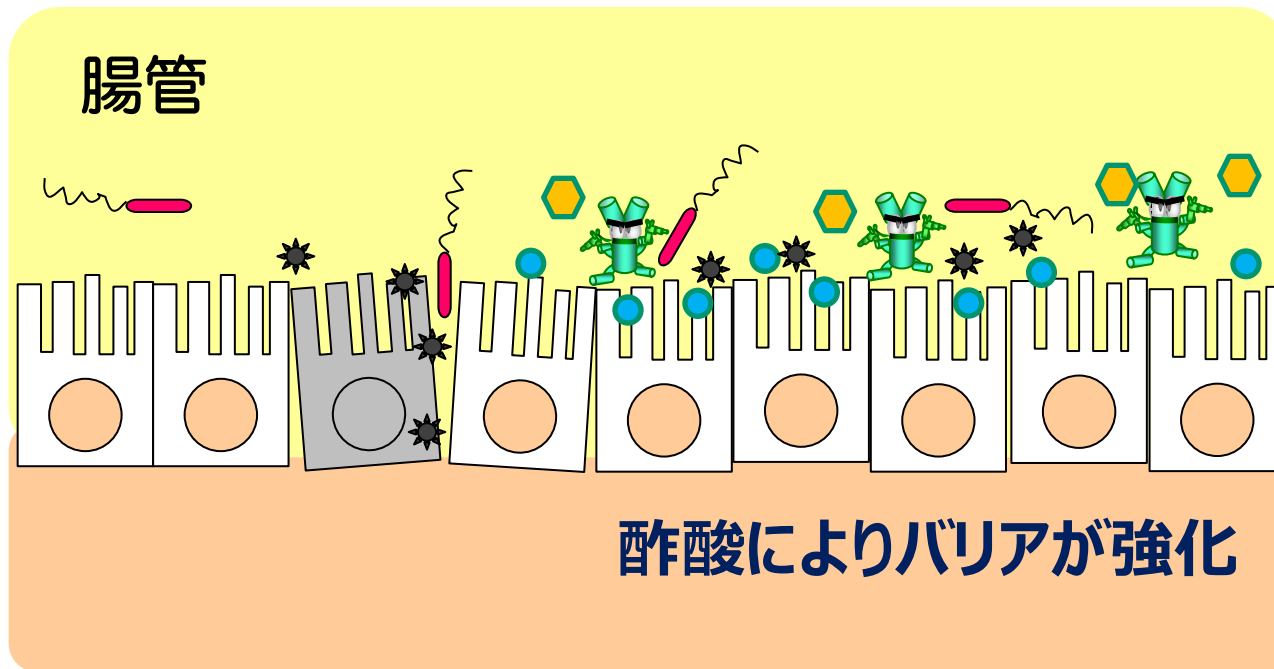
ビフィズス菌が大腸菌O157によるマウスの死を予防

(S Fukuda et al, Nature. 2011)

ゲノム比較の結果、予防株のみ果糖取込み能を有し、大腸で果糖から酢酸を産生できる。



酢酸が腸管のバリアを強化し、毒素の侵入を抑制



# 腸内フローラの異常 (Disbiosis)

いくつかの疾病で、腸内フローラが正常でないという報告がなされている。

## (Disbiosisがみられる疾病)

### ・偽膜性大腸炎

本来は少ないクロストリジウム・ディフィシル菌が増加する。

### ・炎症性腸疾患

腸内細菌の多様性が減少。ファーミキューテスが減少。

### ・多発性硬化症

ファーミキューテス、とくにクロストリジウムが減少。

### ・過敏性腸症候群（下痢型）

小腸における細菌の異常増殖。

# 腸内フローラの異常 (Disbiosis)

逆に、腸内フローラが乱れることで、疾病の要因になる可能性も考えられている。

## (Disbiosisの要因)

- ・**抗生物質の服用**

多くの腸内菌が死滅し、特定の菌だけ生き残る。

- ・**胃のpH調整剤の服用**

pHが変わり、通常以外の菌が増える場合がある。

- ・**食物繊維の少ない食事**

大腸に栄養源が届かず、菌の多様性が減る。

- ・**高脂肪の食事**

胆汁酸が多く出て、胆汁酸耐性の低い菌が死ぬ。

# Disbiosisとディフィシル菌感染症

## ● クロストリジウム・ディフィシル感染症

- ・ 胞子をつくり、抗生物質耐性が非常に高い腸内細菌。
- ・ 増殖すると非常に激しい炎症を起こし治りにくい。
- ・ 死亡率は数%、高齢者の場合10%以上にも及ぶ。
- ・ 抗生物質の摂取後に起こる場合がほとんど。

抗生物質を継続して飲む



主要な腸内細菌が減少する (Disbiosis)



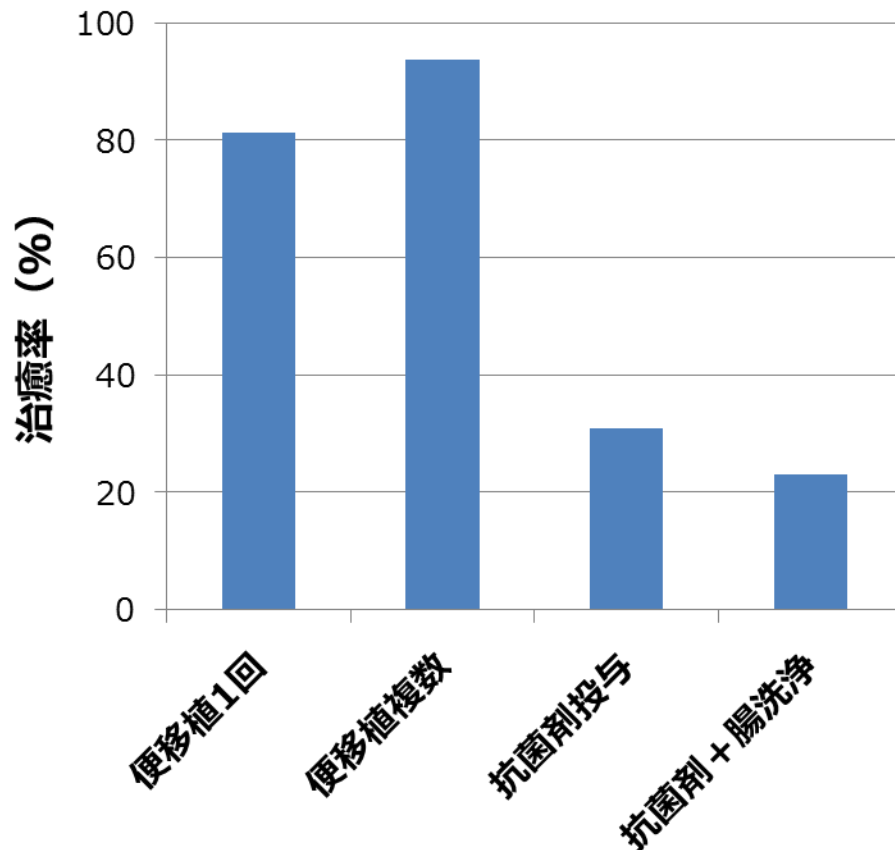
ディフィシル菌のみ生き残る



ディフィシル菌が増殖し、炎症を発生させる

# 便移植の可能性

健常人の糞便移植により、ディフィシル菌感染症に伴う偽膜性大腸炎患者が回復 (van Nood E et al, N Engl J Med. 2013)



腸内フローラ正常化のため、健康なヒトの糞便を移植



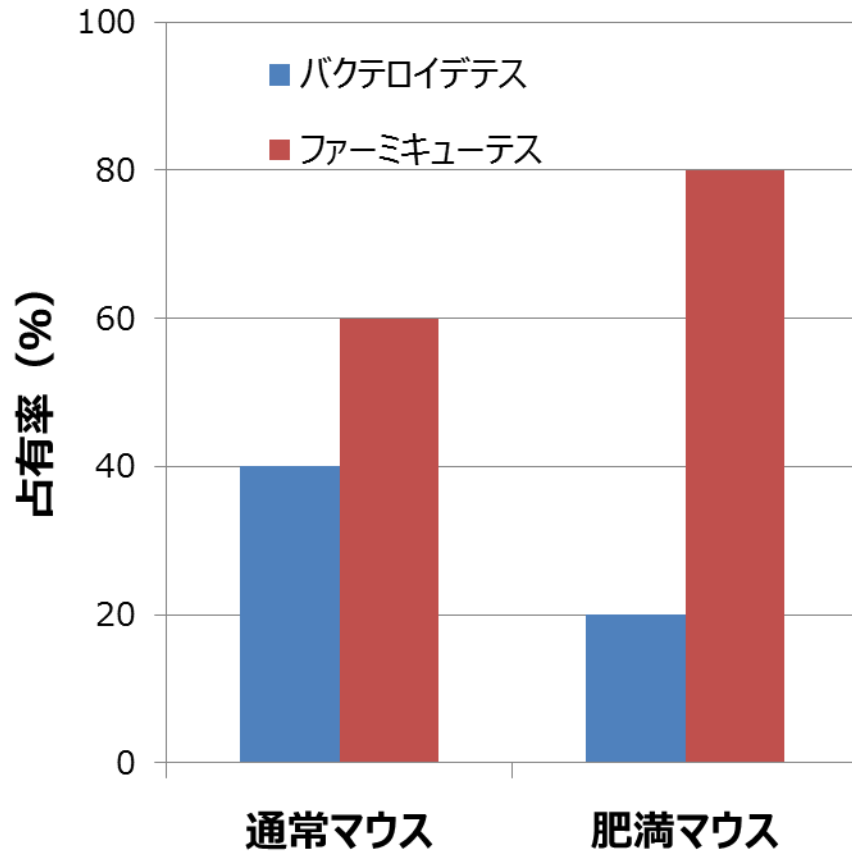
従来の抗菌剤投与よりも、治癒率が非常に高い。

潰瘍性大腸炎など、他の腸管疾患にも応用が試みられている。

# 肥満マウスの腸内フローラ

肥満のマウスは、通常マウスと腸内フローラが異なる

(Leyら, Proc Natl Acad Sci U S A. 2005)



肥満マウスでは、ファーミキューテス門が多く、バクテロイデテス門が少ない。



肥満の結果なのか、原因なのか

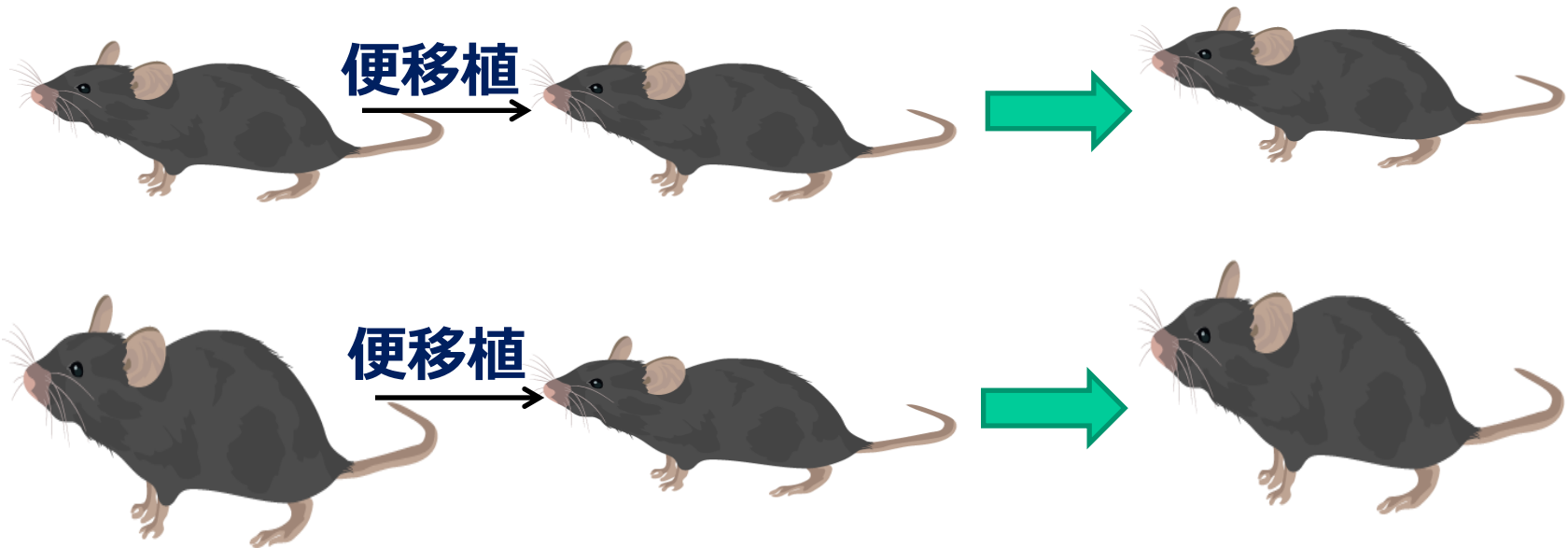
# 肥満マウスの腸内フローラ

肥満のマウスは、通常マウスと腸内フローラが異なる

(Leyら, Proc Natl Acad Sci U S A. 2005)

肥満・痩せマウス

無菌マウス



肥満マウスの便を移植すると、同じ餌でも肥満になる。  
腸内細菌が肥満の一因となっていることが判明。

# 本日の内容

- ・腸内フローラとは
- ・腸内フローラの解析方法
- ・腸内フローラの構成菌と健康なヒトのフローラ
- ・食事と腸内フローラ
- ・腸内フローラの役割と疾病
- ・**腸内フローラの改善方法**
- ・今後の課題



# よい腸内環境、腸内フローラをつくるには



- **プロバイオティクスの摂取**  
良い菌を腸に取り入れる。
- **プレバイオティクスの摂取**  
自分の腸の中の良い菌を増やす。
- **食物繊維をとる**  
大腸に届き、腸内細菌の餌になる。
- **バランスよくいろいろなものを食べる**  
腸内細菌の多様性を増やす。

# プロバイオティクスとは

イギリスのFuller博士が1989年にまとめた概念  
現在は2002年のWHOの定義、  
「適切な量を摂取することで、宿主によい影響を  
及ぼす生きた微生物」となっている。

⇒乳酸菌・ビフィズス菌など



プロバイオティクス⇒Probiosis (生物共生)

有害菌を抑制して体によい生菌



アンチバイオティクス (抗生物質)

有害菌を殺菌する医薬品・・・良い菌も死ぬ

# プレバイオティクスとは

イギリスのGibson博士が1995年にまとめた概念  
「腸内の特定の細菌の活性を変化させることで、  
宿主の健康を改善する難消化性の食品成分」  
⇒オリゴ糖など（ビフィズス菌を良く増殖させる）

プレバイオティクス⇒pre（事前に）

体に良い菌を増やす難消化性の物質。

プロバイオティクス⇒Probiosis（生物共生）

有害菌を抑制して体によい生菌

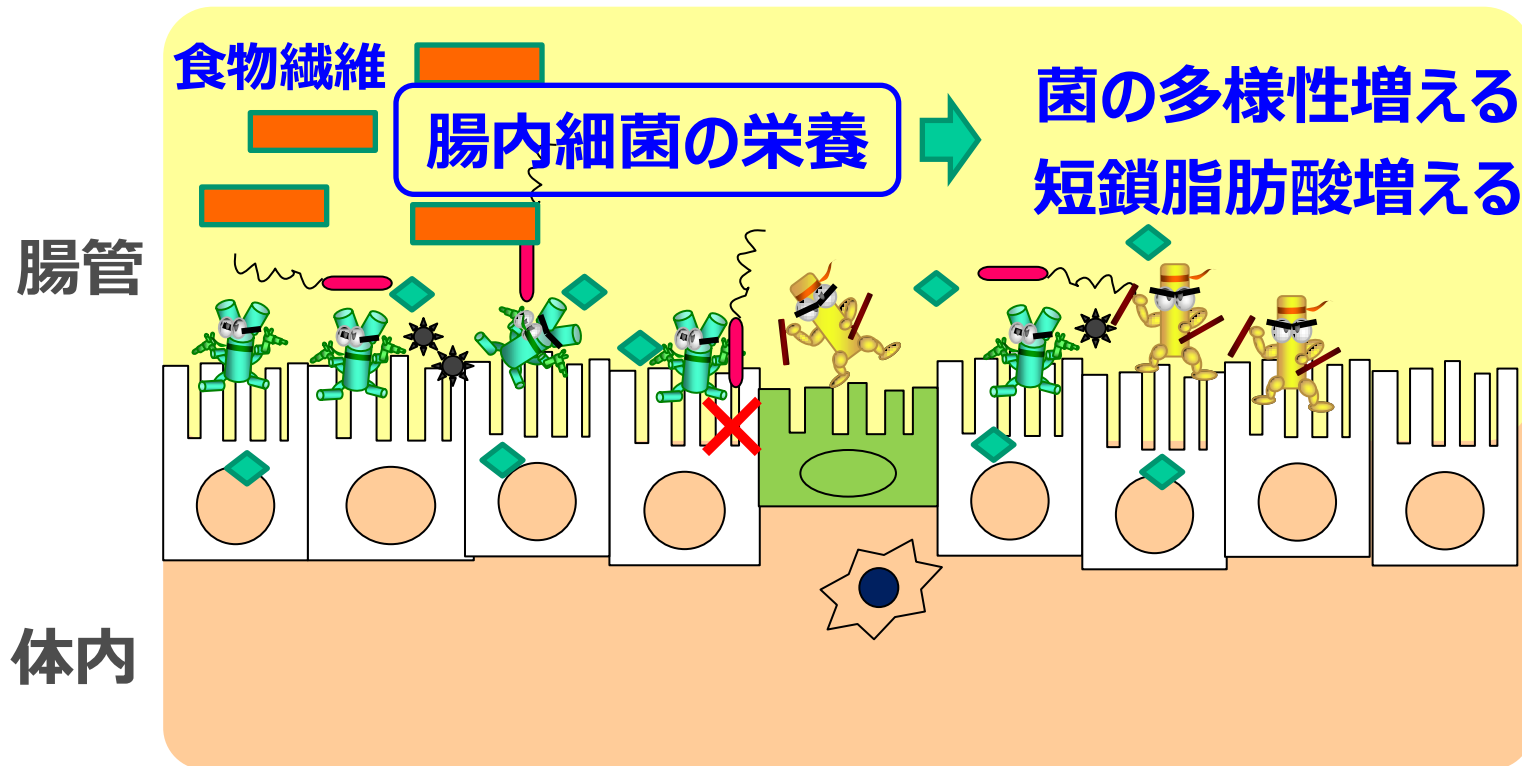
プロ+プレ⇒シンバイオティクスというときもある

# 食物繊維について

ヒトの消化酵素では分解できない難消化性の糖質



そのまま大腸まで届き、腸内細菌の栄養源になる

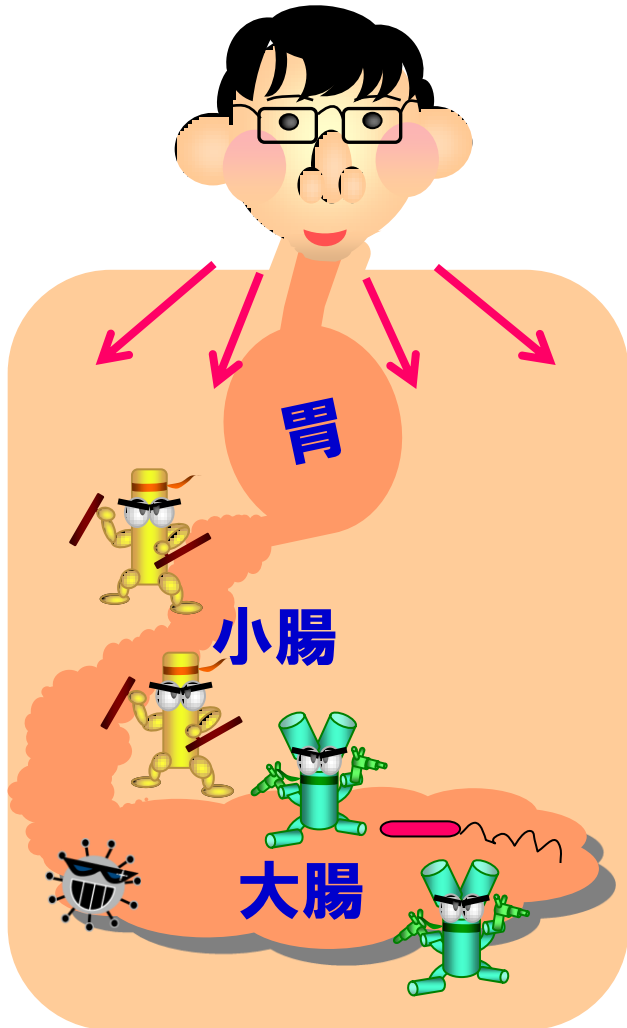


# 今後の課題

- ・腸内フローラとは
- ・腸内フローラの解析方法
- ・腸内フローラの構成菌と健康なヒトのフローラ
- ・食事と腸内フローラ
- ・腸内フローラの役割と疾病
- ・腸内フローラの改善方法
- ・今後の課題

# 今後の課題

腸内フローラには多くの菌が関与しているため、どの菌の何が影響するのか複雑で、簡単に解析できない。



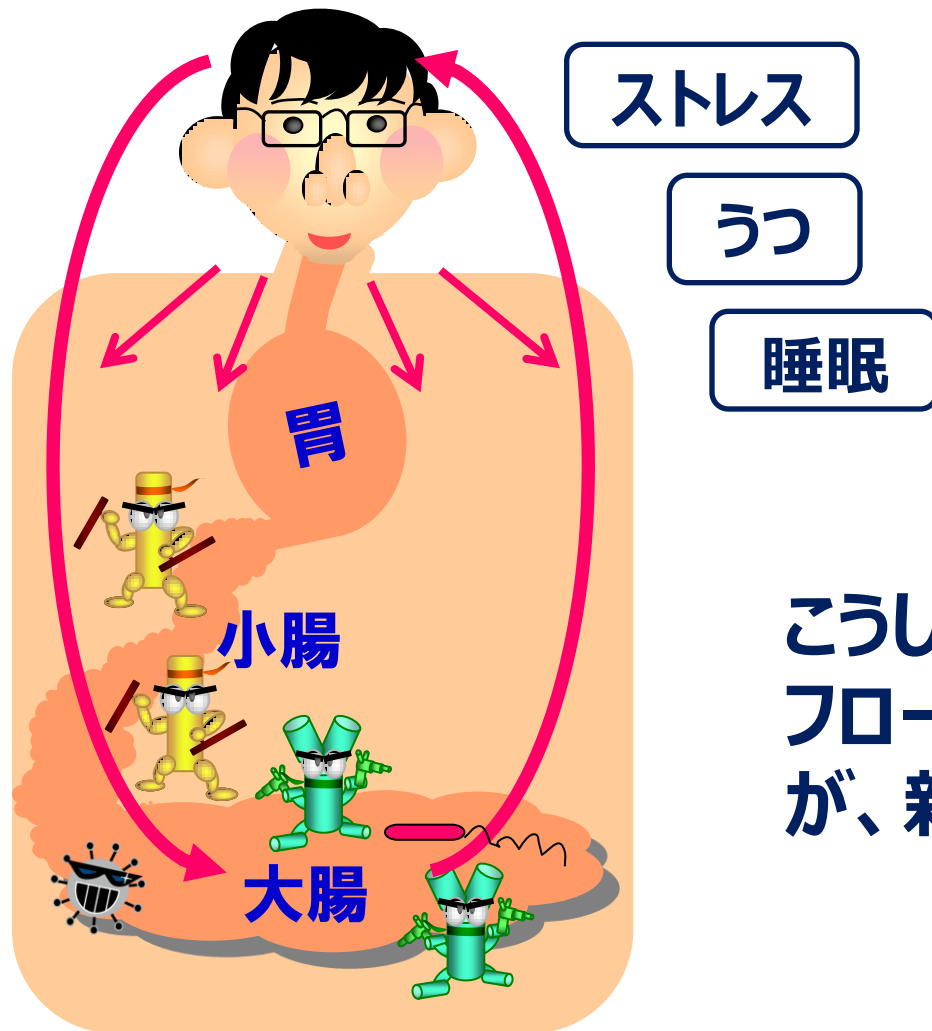
そのため、論文で現象が報告されても、メカニズムが明らかになっていない場合が多い。



メカニズムを明確にして、結果の信頼性を高める必要がある。

# 今後の課題

最近では、腸での刺激が脳まで伝わるということがいわれ、  
(脳腸相関) 研究対象が広がっている。



こうしたメンタルの部分にも腸内  
フローラが関わるのか、というこ  
とが、新たな課題となっている。

# ご清聴ありがとうございました

図の一部は、いらすとやウェブサイト (<http://www.irasutoya.com/>) と Togo picture galleryのフリー素材を使用しました。

Togo picture gallery by DBCLS is Licensed under a Creative Commons **表示 2.1 日本** (c)