

## BMFH シンポジウム 2016 プログラム

2016年2月13日(土) 午前の部		総合司会 八村敏志
10:00～10:10	開会の辞 神谷 茂 (BMFH 出版会代表理事) 共催団体代表挨拶 清野 宏 ((公財)日本ビフィズス菌センター理事長)	
10:10～12:10	シンポジウム1「腸内細菌叢 (マイクロビオータ) の全貌を探る」(口演 25分, 質疑 5分) 座長 高野俊明 (ダノン健康栄養財団) / 平山和宏 (東京大学)	
10:10～10:40	1. 腸内菌の分類と構成 藤澤倫彦 (日本獣医生命科学大学)	
10:40～11:10	2. ヒト腸内マイクロバイオームのメタゲノム解析 服部正平 (早稲田大学)	
11:10～11:40	3. 栄養—腸内フローラネットワークを介した免疫制御と疾患 國澤 純 (医薬基盤・健康・栄養研究所)	
11:40～12:10	4. 統合オミクス手法による腸内 microbiota 解析 大野博司 (理化学研究所)	
(12:10～13:20 休憩)		
午後の部		総合司会 平山和宏
13:20～14:10	国内特別講演 (口演 45分, 質疑 5分)  座長 神谷 茂 (杏林大学) <b>食をめぐるアレルギー, 免疫, 腸内細菌の研究</b> 上野川修一 (東京大学名誉教授, 日本食品免疫学会会長・日本ビフィズス菌センター前理事長)	
14:10～15:00	海外特別講演1 (口演 45分, 質疑 5分)  座長 清野 宏 (東京大学) <b>Modulation of the Human Gut Microbiota: An Ecological Perspective</b> Dr. Jens Walter (University of Alberta, Canada)	
(15:00～15:15 休憩)		

- 15 : 15 ~ 18 : 10 シンポジウム2 「食と健康を考える—プロバイオティクス・プレバイオティクス, バイオジェニックスの最新知見—  
座長 大澤 朗 (神戸大学) / 八村敏志 (東京大学)
- 15 : 15 ~ 15 : 55 1. 海外特別講演2 (口演 35分, 質疑 5分)  
**Probiotic health benefits: what is documented for lactic acid bacteria and bifidobacteria?**  
Dr. Seppo Salminen (University of Turku, Finland)
- (以下, 口演 20分, 質疑 5分)
- 15 : 55 ~ 16 : 20 2. シンバイオティクスによる感染制御  
朝原 崇 ((株)ヤクルト)
- 16 : 20 ~ 16 : 45 3. *Lactobacillus gasseri* SBT2055 株の内臓脂肪低減作用  
門岡幸男 (雪印メグミルク(株))
- (16 : 45 ~ 16 : 55 休憩)
- 16 : 55 ~ 17 : 20 4. 微生物・脳腸相関: ガセリ菌 CP2305 株を用いた検討  
藤原 茂 (アサヒグループホールディングス(株))
- 17 : 20 ~ 17 : 45 5. 発酵乳の健康および抗加齢効果—腸管バリア機能維持を中心に—  
浅見幸夫 ((株)明治)
- 17 : 45 ~ 18 : 10 6. プロバイオティクス摂取の疫学  
清水金忠 (森永乳業(株))
- 18 : 10 ~ 18 : 15 閉会の辞 園元謙二 (日本乳酸菌学会会長)
- 18 : 30 ~ 20 : 00 懇親会 (一条ホール内)

海外特別講演 (Dr. Walter)

## Modulation of the human gut microbiota: An ecological perspective

Jens Walter

University of Alberta, Canada

Diverse strategies have been used for several decades to improve human and animal health through the modulation of the gut microbiota, spanning from the administration of defined probiotic strains (or Live Biotherapeutics), whole microbial consortia (e.g. fecal bacteriotherapy), to the provision of bacterial growth substrates (prebiotics and dietary fiber). However, we still lack a conceptual understanding on how the gut microbiota can be modulated. In this presentation I will summarize how ecological theory can provide a framework by which to understand characteristics of the human gut microbiota and the impact of microbiome-modulating strategies. I will present some of our own studies that investigated basic ecological questions regarding the temporal, spatial, and global patterns of the human microbiome, the factors that shape these patterns, and the ecological constraints within the human microbiome can be manipulated by diet and probiotics. The methodological toolset that is now available (e.g. through next-generation sequencing) provides an unprecedented opportunity to obtain phylogenetic, compositional, and functional information of microbial communities. When analyzed in the light of ecological theory, this has the potential to elucidate the factors and ecological processes that determine and potentially predict the response of the gut microbiota to therapeutic modulations.

**国内特別講演****食をめぐるアレルギー，免疫，腸内細菌の研究**

上野川修一

東京大学名誉教授

本研究は食の摂取によって起こるアレルギーについて，その原因物質（食品アレルギー）のアレルギー誘起構造の解析と，それに基づくアレルギーの制御に関する研究から出発した．そしてその後腸管の免疫系および腸内細菌に関する研究そしてこれらと食成分との関わり合いについての研究へと展開した．この講演ではその内容を述べたい．

**〔食品アレルギー誘起構造〕** この四半世紀，食品アレルギーが急増した．演者らはそのアレルギーのアレルギー誘起に関与する領域の特定とその修飾によるアレルギー反応の抑制について研究を行い，牛乳および卵のアレルゲンたんぱく質（ $\beta$ -ラクトグロブリン， $\alpha$ s1-カゼイン，オボアルブミン）のアレルギー関与領域を特定した．そして関与領域を一部修飾したアナログペプチドを用いることによって反応を調節することができた．

**〔アレルギー反応の抑制〕** 経口免疫寛容，プロバイオティクス，オリゴ糖，ヌクレオチドなどによってアレルギー反応（IgE 産生など）を抑制できることを動物実験で明らかにした．

以上述べてきた研究を進めている間，これら食成分の作用の場であり，当時充分に明らかとなっていなかった腸管免疫系そして腸内の共生細菌について研究する必要性を感じた．そしてこれらの機能についても食成分との関連を中心に研究を展開した．

**〔腸管免疫〕** 腸管免疫系の主な機能は腸に特有の抗体である IgA の産生と食品アレルギーの抑制機構である経口免疫寛容の誘導である．そしてそれを担う器官としてはパイエル板や腸間膜リンパ節，腸管上皮が存在している．パイエル板の中に IgA 産生を促進する IL-6 の産生能が高い樹状細胞が見出された．また IL-5 を特異的に産生する新しいリンパ球様細胞が見出された．

さらに経口免疫寛容についてそのメカニズムを研究し，寛容が誘導された T 細胞の細胞内情報伝達経路，そして細胞膜における反応に変化が見出された．またこの研究の進行中に CD8 陽性 T 細胞より産生される T 細胞の抑制因子を高濃度に調製した．その後この因子は同時期に発見された IL-10 と同一であることが明らかとなった．

**〔腸内細菌〕** 大腸には嫌気性の細菌が生息し，これらが腸管を通して生体側に重要な影響を与えていることが知られてきた．そこでこれら腸内細菌の免疫系への作用について無菌動物を用いて研究した．ビフィドバクテリウム，ラクトバチルス，バクテロイデスなどはそれぞれ腸管免疫系に対する主作用が炎症抑制あるいは抗体産生促進など異なった傾向をもつことが明らかとなった．

また，腸内細菌は大腸上皮細胞に発現している Toll 様受容体である TLR4 遺伝子のメチル化を促進しその結果炎症が抑えられることが見出された．すなわち腸内細菌は腸をエピジェネティックな作用を通じて調節していることが明らかにされた．

以上の研究は多くの方々との共同で行われたものであり記して謝意を表したい．

## シンポジウム 1-1

## 腸内菌の分類と構成

藤澤 倫彦

日本獣医生命科学大学応用生命科学部

嫌気性細菌の培養技術の確立や分子生物学、免疫学などの研究が進展し、腸内に存在する細菌が宿主の健康の維持増進に重要な役割を果たしていることが徐々に明らかにされつつある。腸内細菌叢の生態や機能の解明には腸内に存在する細菌の種類や数を正確に把握することおよび各腸内菌の性状を知ることが基本となる。そのためには腸内菌の分類学的検討およびそこから得られる情報は重要な基礎的事項である。これまで、より精度の高い情報を得ることを目指して、腸内菌の分類情報を基に多くの腸内菌検索に関する手技の検討がなされ、多くの成果が得られている。選択分離培地や菌種・菌群特異的検出用プライマーの開発などはその例である。細菌の分類手法は年代を重ねるごとに進展し、現在は 16S rRNA 遺伝子の塩基配列の比較による系統分類が主流となっている。16S rRNA 遺伝子の解析を中心とする新しい分類手法を用いての新菌属、新菌種などの提案、属名および種名の変更、抹消、メタゲノム解析を中心とする分子生物学的手法を用いた腸内細菌叢の生態学的研究による目新しい菌属、菌種の報告など、腸内菌の分類、生態を取り巻く事情はここ数年のうちに著しく変貌している。現在、ドメイン *Bacteria* には 30 門が存在するが、このうち、ヒト常在細菌叢を構成する細菌種の 99% 以上が *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* および *Proteobacteria* の 4 門で占められるとされており、その他として *Verrucomicrobia* や *Fusobacteria* などの門も検出される。さらに、自然界には培養株は存在しないが 16S rRNA 遺伝子クローンとして検出される多くの門が存在するとされており、今後、多くの新門が提案される可能性がある。他方、今日まで腸内菌の分離培養手法に関して種々の方法が開発され、それを用いた研究により多くの重要な情報が得られている。*Bifidobacterium* や *Lactobacillus* が宿主にとって有用であることを確認した研究の多くの部分は培養法によるものであることは周知の事実である。ヒトの腸内には 1,000 種以上の細菌が生息、存在することが近年における分子生物学的手法を用いた生態学的研究により明らかにされているが、同時に消化管内で培養可能な細菌の全体に対する割合は、10~50% であるともいわれており、分子生物学的研究で報告している腸内菌の多くは分離培養が困難な細菌であることが示されている。腸内に存在する細菌がどのような機能を有するのか、とりわけ宿主と細菌との関係や細菌同士の相互作用など、腸内細菌叢の全体像をより一層理解するうえで基礎となる性状を調べるためには生きた細菌の分離が不可欠である。そのためには既存の培養法のみでは限界があり、これら難培養、難検出細菌をも含めた分離培養法の開発が急務であると考えられる。

本講演ではこれまで培養法および分子生物学的手法により示された腸内構成細菌について最新の分類情報を取り入れながら触れてみる。

## シンポジウム 1-2

# ヒト腸内マイクロバイオームのメタゲノム解析

服部 正平

早稲田大学理工学術院先進理工学研究科

人体の消化管や口腔、皮膚などには‘常在菌’と称される一群の微生物が生息している。常在菌は、一過的に体内に侵入して感染症を起こす‘病原菌’と区別される。一人の個人に生息する常在菌は約1,000種類、その数は数百兆個と見積もられている。これら常在菌はそれぞれの生息部位によって菌種組成や菌数が異なった特徴的な細菌集団（常在菌叢、フローラまたはマイクロバイオータ）を形成する。これらフローラは以前からヒトの健康と病気に関係することが示唆されていたが、構成菌種があまりにも多いことや、その多くが培養困難な細菌（難培養性細菌）であることなどが理由で、生態学的にも機能的にもその全体像は長く不明となっていた。しかしながら、近年におけるメタゲノム技術や次世代シーケンシング（NGS）技術の進歩により、それらを用いた常在菌叢の総体ゲノムであるマイクロバイオームの網羅的解析が可能となり、大量の細菌種や遺伝子データが今日収集・蓄積されるようになった。また並行して、ヒトから分離培養された個々の常在菌株のゲノム情報のデータベース化も進められている。とくに、腸内フローラの包括的な解明がこの5～6年間に著しく進み、現在では、それがヒトゲノムを遥かに凌駕する多様で多種類の遺伝子を有することや疾患を含む様々な全身的なヒト生理と密接に関係していることなどが明らかになってきている。本講演では、メタゲノムおよびNGS技術を用いた日本人の腸内マイクロバイオームの菌種組成と遺伝子組成の全体像、並びに外国人データとの比較解析から浮かび上がってきた日本人腸内マイクロバイオームの特徴などについて紹介する。

### 関連総説

1. 服部正平（監修）：細胞工学 特集「体内の細菌が作るもう一つの世界マイクロバイオームの驚異」、秀潤社、2013.
2. 大野博司・服部正平（編集）：実験医学 増刊「常在細菌叢が操るヒトの健康と疾患」、羊土社、2014.

## シンポジウム 1-3

### 栄養—腸内フローラネットワークを介した免疫制御と疾患

國澤 純

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所ワクチンマテリアルプロジェクト

近年、腸管に存在する免疫システム（腸管免疫システム）が、健康維持を担う重要な生体システムとして注目されています。腸管免疫システムは免疫の基本機能である病原微生物に対する生体防御機構としてだけでなく、腸内細菌や食事成分、環境因子などに対する過剰な免疫反応を抑え、恒常性を維持するためのシステムとして機能しています。腸管免疫システムの生体防御機能を応用した飲むワクチンは、近年、日本国内においても実用化されつつあります。また腸管免疫システムの有する恒常性維持機構の破綻は食物アレルギーや炎症性腸疾患などといった免疫疾患の発症につながります。

このような重要な役割を担う腸管免疫システムの制御において、腸内細菌や食事成分が関わっていることが知られていますが、近年の分析技術の発展もあり、その実体が分子・細胞・個体レベルで分かってきました。本講演においては、腸内細菌を介した免疫制御に加え、ビタミンや脂質などの食事成分が有する免疫機能について、腸内細菌と栄養成分の相互作用といった観点も含め、我々が現在得ている最新の知見を紹介したいと思います。さらにはこれら基礎的な研究を発展させながら進めているワクチン、創薬、機能性食品の開発についても紹介したいと思います。

#### 参考文献

1. Kunisawa J, *et al.*: Front Nutrition (in press) .
2. Kunisawa J: Encyclopedia of Immunology (in press) .
3. Goto Y, *et al.*: Sci Rep, 5: 15918, 2015.
4. Kunisawa J, *et al.*: Cell Rep, 13: 122–131, 2015.
5. Suzuki H *et al.*: PLoS One, 10: e0126352, 2015.
6. Kunisawa J, *et al.*: Sci Rep, 5: 9750, 2015.
7. Goto Y, *et al.*: Science, 345: 1254009, 2014.
8. Kunisawa J, *et al.*: J Immunol, 193: 1666–1671, 2014.
9. Kurashima Y, *et al.*: Immunity, 40: 530–541, 2014.
10. Kunisawa J, *et al.*: Nat Commun, 4: 1772, 2013.
11. Obata T and Shibata N, *et al.*: J Immunol, 191: 942–948, 2013.
12. Lamichhane A, *et al.*: J Gastroenterol Hepatol, 28: 18–24, 2013.
13. Kurashima Y, *et al.*: Nat Commun, 3: 1034, 2012.
14. Sonnenberg GF, *et al.*: Science, 336: 1321, 2012.
15. Kunisawa J, *et al.*: Front in Immunol 3: 1–5, 2012.
16. Obata T, *et al.*: PNAS, 107: 7419–7424, 2010.

シンポジウム 1-4
------------

## 統合オミクス手法による腸内 microbiota 解析

大野 博司

国立研究開発法人理化学研究所統合生命医科学研究センター

われわれの腸内には膨大な数の共生細菌群が棲息している。この腸内細菌叢は 500~1,000 菌種からなるとされ、その数は 100 兆個以上と、約 40 兆個とされるヒトの体細胞数の数倍にも達する。さらにその遺伝子数は一人の腸内に数十万と、ヒト自身の遺伝子数 2 万強をはるかに凌駕している。この多種多様な菌同士が相互作用し、われわれ宿主には存在しないような複雑な代謝系を形成するとともに、宿主との相互作用により、「腸エコシステム」と呼ばれるユニークな環境系を構築している。このような観点からノーベル賞学者 Lederberg 博士は、われわれの身体は「われわれ自身の真核細胞と微生物の融合体として機能する“超生命体 (superorganism)”」と考えるべきである」と提唱した。すなわち、ヒトの生理・病理の総合的な理解には、超生命体の本質とも言える腸エコシステムの理解が必要である。しかし、膨大な数の細菌群と宿主が複雑に相互作用する腸エコシステムを個体レベルで解析する良い手法はなかった。そこで演者らは、ゲノム (DNA レベル)、トランスクリプトーム (RNA レベル)、メタボローム (代謝産物レベル) など異なるレベルの網羅的解析法を組み合わせた統合オミクス手法を提唱し、その有用性を示してきた。

本講演では、統合オミクス統合解析法を適用することで得られた成果として、1) ビフィズス菌が産生する酢酸による大腸上皮細胞保護作用に基づくマウスの O157 感染死予防のメカニズム、ならびに、2) 腸内細菌叢が産生する酪酸による、エピゲノム制御を介した大腸制御性 T 細胞の分化誘導メカニズム、について概説する。これらの結果は、統合オミクス手法が腸エコシステムに適した手法であることを示しており、網羅的解析手法の今後のさらなる進歩・改良に伴い、無侵襲あるいは軽度の侵襲で採取できる唾液、尿、糞便、血液などのサンプルを対象としたヒト統合オミクス解析手法が確立されれば、疾患発症マーカーとして特定の菌群やその代謝物が同定され、それらを対象とした発症予防法や治療法の開発に結びつく可能性も秘めている。



シンポジウム 2-1 : 海外特別講演 2
-----------------------

## Probiotic health benefits: What is documented for lactic acid bacteria and bifidobacteria?

Seppo Salminen

Functional Foods Forum, Faculty of Medicine,  
University of Turku, Turku, Finland

*Background:* According to the recently revised definition probiotics are “live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host” (Hill *et al.* 2014). The use of probiotics in medicine requires evidence based guidelines and treatment paths, but probiotics are also included in nutrition guidelines for common consumer in many countries (Rautava *et al.* 2012, Isolauri *et al.* 2015). In addition, health claims may be attempted in European Union, but the acceptance is based on proved benefits to normal healthy EU consumers.

*Purpose:* The purpose of this discussion is to assess the available evidence for benefits of probiotics in general and of specific strains in particular in case of different deviations in intestinal microbiota. The focus is on current benefits and uses in foods and foreseen future perspectives.

*Method:* Available evidence, meta-analyses and comprehensive reviews suggested health benefits were assessed. Also future directions of research and probiotic use were evaluated.

*Results:* Dysbiosis of the intestinal microbiota is often a cause of various diseases in humans. There is compelling evidence of reversing the dysbiosis and normalizing health by reducing the risk of specific diseases. Many probiotic clearly demonstrate the benefits of specific probiotics (including *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri* and *Saccharomyces boulardii*) in reducing the duration of diarrhea (rotavirus, nosocomial infections, reducing and shortening antibiotic associated side-effects and prevention of allergic diseases). There is also evidence on the potential of probiotics to assist in reducing the risk of allergic disease and in Turku we continue the long-term follow up. Preliminary results reflect the differences in the type of deviations and specific probiotics. Evidence based guidelines are discussed concerning especially diarrheal diseases and side-effects caused by antibiotics in the form of altered or delayed reporting of the microbial results. Animal studies have demonstrated numerous potential benefits ranging from autism and other neurobehavioral health benefits (Rautava *et al.* 2012, Collado *et al.* 2015).

*Conclusion:* Several health benefits have been documented for specific probiotics and these are acknowledged in health messages, specific nutrition guidelines and especially in recommendations of professional medical organisations. Future research should still involve more human studies to further verify the benefits of specific probiotics and their application in both management and risk reduction of specific diseases.

1. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014; 11: 506–514.
2. Isolauri E, Rautava S, Collado MC, Salminen S. Role of probiotics in reducing the risk of gestational diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2015; 17: 713–719.
3. Collado MC, Rautava S, Isolauri E, Salminen S. Gut microbiota: a source of novel tools to reduce the risk of human disease? *Pediatr Res.* 2015; 77: 182–188.
4. Rautava S, Luoto R, Salminen S, Isolauri E. Microbial contact during pregnancy, intestinal colonization and human disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012; 9: 565–576.

## シンポジウム 2-2

### シンバイオティクスによる感染制御

朝原 崇

株式会社ヤクルト本社中央研究所

周術期や重症病態、がん化学療法施行中の患者において、腸管は侵襲の重要な標的臓器であり、腸内細菌叢のバランスの破綻 (dysbiosis) と生体内への腸内細菌の侵入 (Bacterial translocation, BT) からなる腸内細菌による感染症が、患者の予後を左右する最も大きな問題であることが指摘されている。そのような患者の腸管感染症の予防・治療に抗菌薬は欠かすことができないが、有用性が高い反面、多用による耐性菌感染症の問題が深刻化している。

臨床ではプロバイオティクスとプレバイオティクスの選択的な機能・増殖促進因子であるプレバイオティクスを併用する、シンバイオティクスという概念が定着してきており、感染症を制御する手段として近年注目されている。

消化器外科領域において、胆道がん手術患者におけるシンバイオティクスによる感染性合併症の予防効果が無作為化比較試験 (RCT) にて検証されている。手術後のシンバイオティクス (*Bifidobacterium breve* ヤクルト株, *Lactobacillus casei* シロタ株, ガラクトオリゴ糖) 投与 (21 名) により、非投与群 (23 名) に認められる dysbiosis が改善され (内在性 *Bifidobacterium* や *Lactobacillus* の増加)、術後感染症起因菌となりうる *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, および *Candida* の腸内における異常増殖が強く抑制されることが示された。腸内の pH や有機酸濃度といった腸管環境についても、シンバイオティクスによる改善が明らかであった。非投与群において術後感染性合併症の発症率は 52% であったが、シンバイオティクス投与群では 19% と有意に低かった。さらに術後の入院期間や抗菌薬使用期間の減少といった患者の Quality of life の改善作用も認められた。本研究に引き続き、胆道がん患者への術前からのシンバイオティクス投与 (41 名) により、術後のみシンバイオティクスを投与 (40 名) した条件に比べて、dysbiosis および感染性合併症に対する予防作用がより強められることも明らかにされている。臨床における本シンバイオティクスの有用性は、大腸がんや食道がん、高齢消化器手術など複数の消化器外科手術、救命救急領域および小児外科領域の患者でも同様に認められている。また近年ではがん化学療法施行下の低免疫条件のがん患者において発熱性好中球減少症や重篤な下痢といった有害事象に対する軽減作用が報告されている。以上のシンバイオティクスによる感染性合併症の予防効果の作用メカニズムとして、実験動物モデルや臨床研究の結果から、腸内の dysbiosis および腸内環境の改善による腸内有害菌の異常増殖の抑制、ならびに腸管上皮のバリア機能 (タイトジャンクション) の改善からなる BT の抑制が重要であると考えられる。

医学領域においては、EBM (evidence-based medicine) が重要視されており、プロバイオティクス、シンバイオティクスについても、臨床的な有用性の証拠の蓄積が重要である。また、近年は、シンバイオティクス臨床研究のメタアナリシス論文が認められるようになり、その有用性を明確にするといった点について注目されてきている。特定のプロバイオティクス菌株とプレバイオティクスを用いたシンバイオティクスについては再現性のある臨床的有効性の証拠が蓄積されており、今後、さらなる臨床研究データの蓄積と系統化により、ヒトにおけるプロバイオティクス、シンバイオティクスの信頼性が向上し、利用範囲が拡大するものと考えられる。

## シンポジウム 2-3

*Lactobacillus gasseri* SBT2055 株の内臓脂肪低減作用

門岡 幸男

雪印メグミルク株式会社ミルクサイエンス研究所

*Lactobacillus gasseri* SBT2055 株 (LG2055) は整腸作用, 脂質代謝改善作用および感染防御作用等, 生体に有益な作用をもたらすプロバイオティクスである. その健康機能性についてさらに研究を進め, 内臓脂肪の低減作用に注目した. 内臓脂肪の過剰な蓄積はメタボリックシンドロームの原因となり, 高血糖, 脂質代謝異常あるいは高血圧等の発症リスクを高める. そのリスク低下にはいくつかの乳成分の関与も報告されている中, 我々はプロバイオティクスの関与の一端を明らかにすることを試みた.

肥満傾向にある健常成人 210 名を対象に二重盲検無作為化プラセボ対照試験を実施した. 被験者は, LG2055 ( $10^6 \sim 10^7$  cfu/g) を含む発酵乳 (試験発酵乳) または LG2055 を含まない発酵乳 (対照発酵乳) を 1 日 200 g, 12 週間摂取し, 主要評価項目として内臓脂肪面積を腹部 CT によって計測した. 内臓脂肪面積の初期値からの変化率 (%) は, 対照発酵乳摂取群に比べて試験発酵乳摂取群で減少の程度が有意に大きかった. BMI やウェスト等の身体指標に関しても試験発酵乳摂取群での有意な減少が認められた<sup>1)</sup>.

LG2055 は *in vitro* でコレステロール吸着や胆汁酸脱抱合作用を示すことから, 作用機序の一つとして考えられる脂肪排泄促進作用を検証した. 健常成人 30 名が, まず統一食を 7 日間摂取し (前観察期), その後 LG2055 ( $10^7$  cfu/g) を含む試験発酵乳または対照発酵乳を 1 日 100 g, 統一食とともに 7 日間摂取した (試験期). 前観察期および試験期それぞれの最終 3 日間分の糞便を採取し脂肪含量を測定した結果, 試験発酵乳摂取群では試験期の脂肪排泄量が前観察期に比べて有意に増加した<sup>2)</sup>.

内臓脂肪の肥大化は脂肪組織の慢性炎症によっても引き起こされることから, マクロファージの浸潤を誘導し慢性炎症に関与するケモカイン MCP-1 の発現を調べた. LG2055 菌体 ( $10^8$  cfu/g) を含む高脂肪飼料で C57BL/6 マウスを 24 週間飼育したところ, 脂肪組織の MCP-1 発現の上昇が有意に抑制された<sup>3)</sup>. さらに, LG2055 菌体 ( $10^9$  cfu/g) 含有高脂肪飼料を C57BL/6 マウスに 12 週間摂取させ, 脂肪組織へ流入したマクロファージのタイプをフローサイトメトリーで解析した結果, LG2055 の摂取によって, 高脂肪摂取に伴う炎症促進的な M1 タイプマクロファージの増加が有意に抑制された<sup>4)</sup>.

## 参考文献

1. Kadooka *et al.*: Br J Nutr 110: 1696, 2013.
2. Ogawa *et al.*: Lipids Health Dis 14: 20, 2015.
3. Miyoshi *et al.*: Eur J Nutr 53: 599, 2014.
4. Ukibe *et al.*: Br J Nutr 114: 1180, 2015.

## シンポジウム 2-4

### 微生物・脳腸相関：ガセリ菌 CP2305 株を用いた検討

藤原 茂

アサヒグループホールディングス株式会社発酵応用研究所

#### 〔背景および目的〕

消化管内に存在する微生物は hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA 軸) の応答性の制御に影響を与えると共に、一生涯にわたり宿主のストレス関連疾患の発症やその症状の程度に影響を及ぼす重要な因子であると考えられている。脳と消化管との双方向性の情報伝達は「脳腸相関」としてよく知られているが、消化管に存在する微生物が一体どのように中枢神経系や情報伝達システムに影響を及ぼしているのかについてはほとんど理解されていない。

我々は、ヒトの消化管に対する親和性が高い *Lactobacillus gasseri* CP2305 株 (CP2305) を選抜してきた。本株の経口摂取が健常人の消化管への働きかけを通してストレス状態に影響を及ぼす可能性について検証し、その作用機作を検討する手始めとして、ラット HPA 軸の組織における遺伝子発現の変化や自律神経活動に対する影響に関する検討をすすめることにした。

#### 〔方法〕

CP2305 株の摂取が健常成人の排便習慣、睡眠の質、ストレス状態、抹消血白血球におけるストレス関連遺伝子の発現について二重盲検法によって検証した。さらに、脳血流のパターンに与える影響についても検証することにした。動物実験においては、行動評価、自律神経活動、血漿中のストレスホルモン濃度、消化管におけるイオン輸送、および各種臓器中のストレス関連遺伝子の発現に及ぼす影響について評価した。

#### 〔結果と考察〕

ヒト試験において、継続した CP2305 株の摂取により、生菌・殺菌両条件下においても、有意な排便習慣の改善に加え、ストレス状態の改善が認められた。睡眠の質の改善や脳血流パターンの変化も観察され中枢神経系への影響が示唆された。健常者に加え、過敏性腸症候群患者の症状および QOL の改善も明らかとなっている。

ラットへの単回経口投与においては、迷走神経求心枝の活動の有意な亢進に加え、副腎交感神経活動の有意な抑制が認められた。CP2305 株の 3 週間にわたる事前摂取により、生菌・殺菌両条件下において、CRF の静脈投与によって抑制される骨盤神経活動が、部分的ではあるが緩和されることも明らかとなった。また、CRF の腹腔内投与によって誘導される急性下痢症状もまた、有意に改善されることが示唆された。

CRF 投与は海馬、副腎、および遠位結腸における炎症関連遺伝子の発現を著しく亢進させるのに対し、3 週間にわたる CP2305 株の事前摂取によってこれらの炎症性変化を抑制することが明らかとなった。

#### 〔結論〕

CP2305 株は脳腸相関を修飾し、ストレス関連の症状を緩和しているものと考えられた。

## シンポジウム 2-5

発酵乳の健康および抗加齢効果  
—腸管バリア機能維持を中心に—

浅見 幸夫

株式会社明治研究本部食機能科学研究所乳酸菌研究部

発酵乳（ヨーグルト）は数千年前より食されてきた食品の一つであるが、健康長寿に与える効果については、今から100年ほど前にメチニコフが注目したのがきっかけと考えられている。発酵乳にはプロバイオティクスとしての各種乳酸菌が含まれるだけでなく、発酵過程で生じる代謝産物によるバイオジェニクスとしての効果も期待できる。我々は加齢によって起きる生体機能の恒常性の低下を、乳酸菌あるいは乳酸菌を用いた発酵乳が消化管を介した作用により抑制すると考えている。そしてこの仮説の科学的検証を目的として、自然加齢させたマウスに対する発酵乳投与の効果を従来の解析法に加え、オミックス技術や次世代シーケンサーなどを利用した包括的な検討を行っている。

マウスに28ヵ月齢まで試験試料を与え、その間に糞便、血液や尿を採取し、最終的に各組織を採取した。試験終了後まず結腸をはじめとする10組織のトランスクリプトーム解析、糞便と血漿のメタボローム解析および腸内菌叢解析等を実施し、加齢による各組織の遺伝子発現、代謝産物と腸内菌叢の変化に関するデータの集積を行うとともに、それらの変化に対する発酵乳投与の効果について検討した。今回の発表ではこれらの検討で得られた知見の中で、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 2038 (2038株) および *Streptococcus thermophilus* 1131 (1131株) を用いた発酵乳の投与により、加齢に伴って起きる消化管での抗菌ペプチド Reg3  $\beta$  および Reg3  $\gamma$  の発現低下が抑制されたことを中心に、期待される健康効果と推定される発現低下抑制のメカニズムについて紹介したい。加齢による抗菌ペプチドの発現の減少は、消化管内の病原性細菌の増加を伴う腸内菌叢の変化や腸管バリア機能の低下、さらにそれらに起因した感染リスクの上昇、消化管粘膜免疫系の活性化と全身における慢性的な炎症を誘導すると推定される。実際マウスの加齢に伴い腸内菌叢の変化や炎症性サイトカインの上昇が観察され、全身での慢性的な炎症状態とその結果としての老化の促進や疾病のリスクの上昇が起きていることが予想された。このような推測を裏付ける例として、血中のIL-6濃度が上昇するとマウスが死亡するリスクが高まっており、寿命とIL-6の間に何らかの関係があることが示唆された。対して発酵乳を投与したマウスではIL-1  $\beta$  の上昇が有意に抑えられており、加齢による慢性炎症の発症が遅延されることで健康な状態が維持される期間が長くなっている可能性が考えられた。また発酵乳の授与により、マウス小腸細菌叢の構成比において、*Clostridiales* の減少と *Lactobacillales* の増加が観察された。さらに Reg3  $\beta$  および  $\gamma$  の発現誘導にはTLR-2刺激や3型自然リンパ球 (ILC3) からのIL-22産生が関与していると考えられているため、2038株と1131株自体にそれらの活性が存在するか検討した結果についても紹介したい。

## シンポジウム 2-6

## プロバイオティクス摂取の疫学

清水（肖）金忠

森永乳業株式会社基礎研究所

プロバイオティクスには整腸作用や感染防御作用、アレルギー予防作用、脂質代謝改善作用、抗腫瘍作用など様々な働きが示されており、最近では脳機能への影響も注目されている。一方、通常、これらプロバイオティクスの作用は菌株ごとに介入による群間比較試験等にて確認することが一般的であることから、疫学的な調査報告は多くない。本講演では本邦で行ったプロバイオティクス含有食品の摂取とアレルギー疾患などの健康状態に関する疫学研究結果を中心に紹介する。

## 1) アレルギー疾患の有病率と乳酸菌摂取との関連、ビフィズス菌介入による予防効果

平成19年11月から約3年半に亘って和歌山県内で健診（4, 10, 18, 36ヵ月）を受診した乳幼児を対象に、各種アレルギー疾患の有無および背景因子の調査を行った。総数6,545人のデータから、有病率の最も高かった湿疹・アトピー性皮膚炎について、男女、家族のアレルギー歴、ペット飼育および乳幼児の乳酸菌製品摂取の有無によって有意な違いが認められた。特に乳幼児の乳酸菌製品摂取に注目し、各種背景因子で調節した多重ロジスティック回帰分析においても、摂取群の有病率が有意に低かった。そこで、プロバイオティクス摂取によるアレルギー発症予防への影響を検証するために、妊婦および乳児にビフィズス菌を投与する試験を実施した。ビフィズス菌摂取群（n=130）では妊婦に出産予定日の約4週間前から分娩まで、生まれた乳児には6ヵ月齢になるまでビフィズス粉末を摂取させた。その結果、非摂取群（n=36）と比較して、摂取群では乳幼児10ヵ月および18ヵ月における湿疹・アトピー性皮膚炎の有病率が有意に低かった。以上から、乳幼児の乳酸菌製品摂取はアレルギー疾患の発症率の低下に寄与すること、ならびに妊婦および乳児へのビフィズス菌投与が、乳幼児におけるアレルギー発症の初期予防に対して有効であることが示唆された。

## 2) 「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

ビフィズス菌を含む乳製品乳酸菌飲料を中長期に摂取している中高年（50代～80代）男女を対象としてアンケート調査を実施し、当該飲料の摂取と健康状態の関連について調査した。2013年12月から2014年3月までの期間中に、当該飲料を宅配している世帯を中心に全国でアンケートを92,110部配布し、有効回答数として23,188部を得た。有効回答から当該飲料の摂取有無により2群（摂取群:3年以上、週4本以上摂取、n=7,156）；非摂取群:摂取経験なし（n=5,025）を抽出し、生活習慣や各種疾患の罹患経験率などを性別および年代を層別因子として群間比較した結果、非摂取群と比べて摂取群ではa) 便秘傾向者が有意に少ない、b) 普段の生活の中の「物忘れがはげしい」と感じるリスクが男女ともに有意に少ない、c) 男性では「大腸ポリープ」「胆石」などに罹患したことのある方が有意に少ない、およびd) 10年以上継続摂取した女性では過去5年間の骨折リスクが有意に低いなどの結果が得られた。以上から、「ビフィズス菌配合カルシウム強化ミルク」の継続摂取は中高年男女の健康維持に寄与する可能性が示された。