

腸内フローラ研究のトレンド

長島 浩二

ヒトの腸管内にはおおよそ、100兆個、数百種の細菌が常在しており、重量的にも糞便固形分の3分の1が細菌といわれている。これらの細菌は複雑な共同体を形成しており、この共同体は腸内細菌叢あるいは腸内フローラと呼ばれる。腸内フローラは各人固有のもので、通常は比較的安定しているが、疾患、生理状態、食物、薬物およびストレスなどで変動し、その構成は腸内代謝や免疫刺激に反映され、宿主にさまざまな影響を及ぼすと考えられている。

従来、腸内を含めた環境中のフローラ解析は培養法によって行われてきたが、この方法は熟練と労力を要することや環境中では難培養微生物が大半を占めることから、最近では培養を必要としない分子生物学手法が用いられるようになってきている。この手法は16SリボソームRNA遺伝子(16S rDNA)の塩基配列が細菌種によって異なるということに基づいたものであり、いくつかの技術がある¹⁾。分子生物学手法の導入によって、腸内フローラ研究は急速に進展し、宿主との関連について興味深い知見が蓄積されつつある²⁾。ここでは、当該手法を用いてアプローチした、「腸内フローラと肥満あるいは腸疾患」に関するヒトを対象とした研究例を紹介し、腸内フローラ研究のトレンドを見てみたい。

Leyら³⁾は12名の肥満者に低カロリー食を1年間喫食してもらい、試験前および試験開始後12、26、52週目にそれぞれの被験者から糞便を採取するとともに、対照として2名の適正体重者からも2回採便し、その中に含まれる細菌16S rDNAの塩基配列(各試料当たり数百配列、全体で18,348配列)をクローンライブラリー法^{*1)}により解析した。その結果、試験前には肥満者は、適性体重者に比べてバクテロイデス門の割合が低く、フィルミキテス門の割合が高かったが、試験期間を通してバクテロイデス門の割合が増加し、適性体重者のフローラに近くなること、また、試験後の体重の減少率が大きい者ほどバクテロイデス門の割合が高くなること示された。

「腸内フローラと肥満」に関する研究は、この他にもヒトやマウスで数多く行われおり、腸内フローラの変化が肥満の原因なのか、あるいは結果なのかははまだ良く解っていないが、両者に何らかの関連性があると考えられている。

炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease, IBD)は、主として消化管に原因不明の炎症をおこす慢性疾患の総

称で、潰瘍性大腸炎(UC)とクローン病(CD)がその代表的ものである。2009年度の日本における患者数は両疾患で約13万人であり、年々増加している。

安藤ら⁴⁾はUCおよびCDの患者、それぞれ31名と健康者30名についてT-RFLP法^{*2)}により糞便フローラを解析し、そのプロファイルのクラスタリングを行った。その結果、健康者および寛解期UC患者のプロファイルは活動期UC患者および寛解期・活動期CD患者のプロファイルとほぼ区別されること、また、活動期UC患者と寛解期・活動期CD患者においては、ある種のクロストリジウム(terminal restriction fragment length polymorphism)の割合が健康者に比べて減少していることが示された。ちなみに最近、マウスにおいてある種のクロストリジウムが制御性T細胞の誘導を介して大腸炎を抑制することが示されている⁶⁾。

このようにIBDの発症や増悪に腸内細菌が重要な因子として関与していることが明らかにされてきており、腸内フローラをコントロールすることによる新たな治療法の開発が期待されている。

ここで紹介したような研究では、多数の試料を扱う必要があることから、試料処理能力の高い技術が常に求められている。最近では、ヒトゲノムに相当する遺伝情報を数日で解析することが可能な比較的安価なDNAシーケンサーが上市されており、腸内フローラ研究も益々加速するものと思われる。

- 1) 松木ら: 腸内細菌学雑誌, **20**, 25 (2006).
- 2) 本田: 実験医学, **29**, 2932 (2011).
- 3) Ley, R. E. et al.: *Nature*, **444**, 1022 (2006).
- 4) Ando, A. et al.: *J. Gastroenterol.*, **46**, 479 (2011).
- 5) Nagashima, K. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 1251 (2003).
- 6) Atarashi, K. et al.: *Science*, **331**, 337 (2011).

*1 クローンライブラリー法: 試料から抽出した全DNAを鋳型として、PCRにより細菌16S rDNAを増幅し、これを大腸菌を用いてクローニングした後、その塩基配列を決定することでフローラを解析する方法。

*2 T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism) 法: 末端蛍光標識されたPCRプライマーを用いて16S rDNAを増幅し、この増幅産物を制限酵素で処理して生じた蛍光標識末端DNA断片をDNAシーケンサーにより分画後、DNA断片のサイズから菌種を、蛍光強度からその存在割合を導き出すことでフローラを解析する方法。