

第26回腸内フローラシンポジウム
26th Symposium on Intestinal Flora

腸内フローラの形成と疾患
～食・栄養・くすりがどのように関わるのか？～

Development of Intestinal Microbiota and Human Diseases
— How do diet, nutrition and drugs affect them? —

講演要旨集
Abstracts

日 時 平成29年10月27日（金） 午前10時～午後5時30分
Date : Friday, October 27, 2017 10:00a.m.～5:30p.m.
場 所 ヤクルトホール（東京・新橋）
Venue : Yakult Hall (Shimbashi, Minato-ku, Tokyo)
主 催 公益財団法人 ヤクルト・バイオサイエンス研究財団
Sponsor : Yakult Bio-Science Foundation
後 援 文 部 科 学 省
Support : Ministry of Education, Culture, Sports, Science and
Technology – Japan

プ ロ グ ラ ム

午 前 の 部 10:00~12:00

主 催 者 挨 拶 澤 田 治 司 (ヤクルト・バイオサイエンス研究財団 理事長)

来 賓 挨 拶 永 井 雅 規 (文部科学省研究振興局ライフサイエンス課 課長)

は じ め に 神 谷 茂 (杏林大学 医学部 総合座長)

[座 長: 神 谷 茂 (杏林大学)]

特別講演 1 「先天性外科疾患患児における腸内細菌叢形成異常と
シンバイオティクス療法による腸内細菌叢コントロールの効果」…………… 3
金 森 豊 (国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部 外科)

特別講演 2 「腸内フローラの変化と慢性疾患の世界的な流行」…………… 9
Martin J. Blaser (ニューヨーク大学ランゴンメディカルセンター 米国)

午 後 の 部 13:15~17:30

[座 長: 八 村 敏 志 (東京大学)]

講 演 1 「特定の乳酸菌がマウスの生後成長ダイナミクスおよび
低栄養下における成長ホルモン軸形成に与える影響」…………… 15
Martin Schwarzer (チェコ科学アカデミー微生物研究所 チェコ共和国)

[座 長: 五十君 静 信 (東京農業大学)]

講 演 2 「ヒトミルクオリゴ糖とその分解酵素から考える母乳栄養児と
ビフィズス菌の共生・共進化」…………… 20
片 山 高 嶺 (京都大学大学院 生命科学研究科)

講 演 3 「乳児腸内フローラの形成に影響を与えるビフィズス菌の
遺伝特性と定着意義」…………… 25
松 木 隆 広 (ヤクルト本社中央研究所)

一 休 憩 15:10~15:30

[座 長: 大 草 敏 史 (順天堂大学)]

講 演 4 「アジア マイクロビオーム プロジェクト: アジア人の食と健康の
インターフェースとしての腸内フローラの理解に向けて」…………… 32
中 山 二 郎 (九州大学大学院農学研究院 生命機能科学部門)

講 演 5 「非感染症におけるプロバイオティクスの効果」…………… 40
Erika Isolauri (トゥルク大学医学部 フィンランド)

総 合 討 論 [座 長: 神 谷 茂 (杏林大学)]

P R O G R A M

10 : 00 ~ 12 : 00

Welcome Address : Haruji Sawada (President, Yakult Bio-science Foundation)

Guest Address : Masanori Nagai (Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology-Japan)

Introduction : Shigeru Kamiya (Kyorin University School of Medicine, Japan)

Keynote Lecture :

[Chair : Shigeru Kamiya (Kyorin University)]

1. **“Abnormal development of intestinal microbiota and the effects of intestinal microbiota control after synbiotic therapy in pediatric patients with congenital diseases requiring surgery”** 3
Yutaka Kanamori (Division of Surgery, Department of Surgical Specialties
National Center for Child Health and Development, Japan)
2. **“The theory of disappearing microbiota and the worldwide epidemics of chronic diseases”** 9
Martin J. Blaser (New York University Langone Medical Center, N.Y. USA)

13 : 15 ~ 17 : 30

Lecture :

[Chair : Satoshi Hachimura (The University of Tokyo)]

1. **“Selected lactobacilli strains restore mouse post-natal growth dynamics and somatotrophic axis activity upon undernutrition”** 15
Martin Schwarzer (Institute of Microbiology, Academy of Sciences of
the Czech Republic, Novy Hradek, The Czech Republic)
- [Chair : Shizunobu Igimi (Tokyo University of Agriculture)]
2. **“Symbiosis and co-evolution between breastfed infants and *Bifidobacterium* driven by human milk oligosaccharides and their degrading enzymes”** 20
Takane Katayama (Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Japan)
3. **“Key genetic factors of bifidobacteria that affect infant gut microbiota development”** 25
Takahiro Matsuki (Yakult Central Institute, Japan)

—15 : 10 ~ 15 : 30 Break—

[Chair : Toshifumi Ohkusa (Juntendo University School of Medicine)]

4. **“Asian Microbiome Project: To understand intestinal microbiota as an interface between food and host health in Asian people”** 32
Jiro Nakayama (Department of Bioscience & Biotechnology,
Faculty of Agriculture, Kyushu University, Japan)
5. **“The effect of probiotics in non-communicable diseases”** 40
Erika Isolauri (Department of Paediatrics and Adolescent Medicine, Turku University Hospital
and Department of Clinical Medicine, University of Turku, Finland)

Discussion

[Chair : Shigeru Kamiya (Kyorin University)]

先天性外科疾患患児における腸内細菌叢形成異常と シンバイオティクス療法による腸内細菌叢コントロールの効果

金森 豊

国立成育医療研究センター臓器・運動器病態外科部外科

略歴：1958年、神奈川県生まれ。1984年東京大学医学部医学科卒業、1996年東京大学大学院医学系研究科病因病理学専攻博士課程修了

1999年東京大学医学部小児外科講師

2007年東京大学大学院医学系研究科生殖発達加齢医学専攻小児医学講座小児外科学准教授

2011年国立成育医療研究センター臓器・運動器病態外科部外科医長

主な研究テーマ：消化管免疫学、小児外科学

要約：先天性外科疾患の中でも消化管異常と呼吸器異常の患児は重症なものが多く、生後長期にわたって治療が必要になる。手術侵襲、抗生物質投与、経口摂取制限、免疫低下状態などの悪条件のもと無菌状態で生まれた患児の腸内細菌叢は正常とは程遠いものになっていく。特に抗生物質耐性菌の異常増殖は患児の生命を脅かす重篤な感染症につながる。実際に我々の治療現場で生後すぐから長期入院となり治療を続けている患児では、多くの場合正常腸内細菌叢は形成されておらず、患児は腸管機能不全に伴う低栄養と重篤な感染症に悩まされてきた。

そこでこのような状態を打破すべく、1997年に我々は重症患児の腸内細菌叢をコントロールする治療として、新しいシンバイオティクス療法を開始した。この治療法は、プロバイオティクスとして、*Bifidobacterium breve* Yakult、*Lactobacillus casei* Shirotaの2種類の菌を使用し、プレバイオティクスとしてガラクトオリゴ糖を使用する方法で、異常な腸内細菌叢を有する患児に対して投与を開始した。腸内細菌叢はすぐには改善しないものの、次第に投与菌が優勢の菌叢が形成され、最終的には正常腸内細菌叢に近づくことが示された。それとともに、患児の腸管機能も改善し、栄養状態が回復することが明らかになった。この方法は、治療的シンバイオティクス療法と位置付けた。

次いで、2004年からは、重症患児に対して早期から上記プロバイオティクスを投与することで異常な細菌の生着を阻止する、予防的シンバイオティクス療法を開始した。これは、生後経口摂取が可能になるとまずプロバイオティクス投与を開始する療法で、プレバイオティクスとしては、可能な限り母乳を投与した。この方法では、異常な細菌の生着はほぼ抑制され、まずプロバイオティクスが腸管内に生着し、その後常在嫌気性菌が早期に生着することが確認された。

先天性消化管異常の中でも最も治療が困難で腸管機能不全症を呈する疾患に

は、短腸症と腸管蠕動不全症がある。これらの疾患群は腸管内に細菌が異常増殖して bacterial translocation を起こしたり、重症腸炎を起こしたりして救命ができない場合が多くあった。腸管内での細菌の異常増殖は腸管免疫装置の発育を阻害し、腸管壁での炎症反応を持続的に惹起する。そのために腸管感染症を容易に引き起こし、炎症による腸管蠕動細胞（カハール細胞）や腸管平滑筋に障害を与えて蠕動を阻害し、そのためにますます細菌の異常増殖が引き起こされるという悪循環を生む。腸内細菌叢のコントロールはこれらの悪循環を阻止する重要な核の治療と位置付けられる。

最近では、腸内細菌解析法は培養法から遺伝子解析法に移行しつつあるが、その結果新しい腸内細菌の形が見えてきている。しかしその複雑さゆえに病的状態における細菌叢異常の意義付けは難しい。我々も短腸症における腸内細菌叢の遺伝子解析を行ったが、治療的シンバイオティクス療法を行った患児では正常細菌叢と比較してかなり異なった菌叢であることが判明した。培養法から判断して正常腸内細菌叢に近づいたように見えたが、実は長期的に腸内細菌叢は異常な様相を呈しており、一度異常となった腸内細菌叢は簡単には正常に復さない可能性が示された。一方、予防的シンバイオティクス療法を施行した患児では、正常に近い腸内細菌叢が維持されているようで、生後早期からの腸内細菌叢コントロールが非常に重要であることが示唆された。

参考文献

- 1) Kanamori Y, Hashizume K, Sugiyama M, Morotomi M, Yuki N. : Combination therapy with *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei*, and galactooligosaccharides dramatically improved the intestinal function in a girl with short bowel syndrome A novel synbiotics therapy for intestinal failure. Dig Dis Sci 46 ; 2010-2016, 2001.
- 2) Kanamori Y, Hashizume K, Sugiyama M, Morotomi M, Yuki N, Tanaka R. : A novel synbiotic therapy dramatically improved the intestinal function of a pediatric patient with laryngotracheo-esophageal cleft (LTEC) in the intensive care unit. Clin Nutr 21 : 527-530, 2002.
- 3) Kanamori Y, Hashizume K, Kitano Y, Tanaka Y, Morotomi M, Yuki N, Tanaka R. : Anaerobic dominant flora was reconstructed by synbiotics in an infant with MRSA enteritis. Pediatr Int 45 : 359-362, 2003.
- 4) Kanamori Y, Sugiyama M, Hashizume K, Yuki N, Morotomi M, Tanaka R. : Experience of long-term synbiotic therapy in seven short bowel patients with refractory enterocolitis. J Pediatr Surg 39 : 1686-1692, 2004.
- 5) Kanamori Y, Sugiyama M, Goishi K, Kano H, Yuki N, Takahashi T,

Morotomi M, Tanaka R. : Abnormal intestinal microbiota in pediatric surgical patients and the effects of a newly designed synbiotic therapy. Int J Prob Preb 1 : 149-160, 2006.

- 6) Kanamori Y, Iwanaka T, Sugiyama M, Komura M, Takahashi T, Yuki N, Morotomi M, Tanaka R. : Early use of probiotics is an important therapy in infants with severe congenital anomaly. Pediatr Int 52 : 362-367, 2010.

Abnormal development of intestinal microbiota and the effects of intestinal microbiota control after synbiotic therapy in pediatric patients with congenital diseases requiring surgery

Yutaka Kanamori

Division of Surgery, Department of Surgical Specialties, National Center for Child Health and Development

Brief curriculum vitae : Born in Kanagawa in 1958. Graduated from Tokyo University in 1984, and received Ph.D. from Graduate School of Medicine, Tokyo University in 1996.

Senior Lecturer, Department of Pediatric Surgery, The University of Tokyo in 1999.

Associate Professor, Department of Pediatric Surgery, Pediatric Sciences, Graduate School of Medicine, the University of Tokyo in 2007.

Chief at Division of Surgery, Department of Surgical Specialties, National Center for Child Health and Development in 2011.

Major field studies : Intestinal Immunology, Pediatric Surgery

Abstract : Congenital complicated anomalies in intestinal tract and respiratory tract are very difficult to treat and often need long term care after birth. And in these cases intestinal microbiota become quite abnormal with surgical stress, repetitive antibiotic use, restriction of intestinal feeding and suppressed immune system. Especially the overgrowth of antibiotics-resistant bacteria in the intestine may cause fatal infection in some case. We have demonstrated that almost all pediatric infants who needed long term intensive cares after birth had quite abnormal intestinal microbiota and suffered from malnutrition and severe infection due to intestinal failure.

In order to resolve these troublesome problems, we planned a new synbiotic therapy to control the abnormal intestinal microbiota of the infants in our pediatric surgical ward in 1997. As probiotics we adopted two bacteria, *Bifodobacterium breve* Yakult and *Lactobacillus casei* Shirota. Galactooligosaccharide was used as prebiotic nutrition. After starting our new synbiotic therapy the patients gradually acquired the probiotics dominant intestinal microbiota and finally got the anaerobic bacteria dominant intestinal microbiota. Along with these change of the intestinal microbiota the function of the intestine improved and the patients recovered from malnutrition. We called this therapy as “therapeutic use of synbiotics”.

In 2004, we started a new protocol of synbiotic therapy for the infants with severe congenital anomalies. Treatment of probiotics was started as soon as possible for the infants who required surgical therapy once they could be tolerated with intestinal feeding. Mother milk was also administered as prebiotics. By this therapy pathogenic bacteria hardly resided in the intestine whereas probiotic bacteria resided in high number and worked as the effective inducer of anaerobic bacteria dominant intestinal microbiota. We call this therapy as “prophylactic use of synbiotics”.

Among the congenital intestinal anomalies short bowel syndrome and disorder of intestinal motility are two most severe and troublesome disorders to cause intestinal failure. These disorders often cause stasis of the intestinal luminal contents and result bacterial overgrowth in the intestine. Bacterial translocation and severe enterocolitis may cause septicemia and raise the mortality rate in these patients. Bacterial overgrowth in the intestinal lumen often disturbs the development of immune systems and causes continuous inflammation, which insults the functions of Kaji cells and intestinal smooth muscle. This vicious cycle could be stopped by our synbiotic therapy and we recognize this therapy is the most important core treatment for the pediatric patients with intestinal failure.

Recently the new strategy to analyze the intestinal microbiota using bacterial genes came out and we must change our concept for intestinal microbiota. The therapeutic use of synbiotics had seemed to restore the normal intestinal microbiota judging from the results of the culture method but by the genetic analysis of bacteria, intestinal microbiota of them was abnormal comparing to that of normal candidates. Conversely in the patients with prophylactic use of synbiotics the intestinal microbiota was well maintained to be similar to that of normal people. This result strongly suggested that the early control of intestinal microbiota is very important for the patients with severe congenital anomalies to maintain the functions of intestinal tracts.

References

- 1) Kanamori Y, Hashizume K, Sugiyama M, Morotomi M, Yuki N. : Combination therapy with *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei*, and galactooligosaccharides dramatically improved the intestinal function in a girl with short bowel syndrome A novel synbiotics therapy for intestinal failure. Dig Dis Sci 46 ; 2010-2016, 2001.

- 2) Kanamori Y, Hashizume K, Sugiyama M, Morotomi M, Yuki N, Tanaka R. : A novel synbiotic therapy dramatically improved the intestinal function of a pediatric patient with laryngotracheo-esophageal cleft (LTEC) in the intensive care unit. Clin Nutr 21 : 527-530, 2002.
- 3) Kanamori Y, Hashizume K, Kitano Y, Tanaka Y, Morotomi M, Yuki N, Tanaka R. : Anaerobic dominant flora was reconstructed by synbiotics in an infant with MRSA enteritis. Pediatr Int 45 : 359-362, 2003.
- 4) Kanamori Y, Sugiyama M, Hashizume K, Yuki N, Morotomi M, Tanaka R. : Experience of long-term synbiotic therapy in seven short bowel patients with refractory enterocolitis. J Pediatr Surg 39 : 1686-1692, 2004.
- 5) Kanamori Y, Sugiyama M, Goishi K, Kano H, Yuki N, Takahashi T, Morotomi M, Tanaka R. : Abnormal intestinal microbiota in pediatric surgical patients and the effects of a newly designed synbiotic therapy. Int J Prob Preb 1 : 149-160, 2006.
- 6) Kanamori Y, Iwanaka T, Sugiyama M, Komura M, Takahashi T, Yuki N, Morotomi M, Tanaka R. : Early use of probiotics is an important therapy in infants with severe congenital anomaly. Pediatr Int 52 : 362-367, 2010.

腸内フローラの変化と慢性疾患の世界的な流行

Martin J. Blaser 医学博士
ニューヨーク大学医学研究科
New York NY 10016 USA

略歴：1948年、ニューヨークに生まれる。1969年にペンシルベニア大学（学士）、1973年にニューヨーク大学医学研究科を卒業。その後、ヴァンダービルト大学感染症部門の部門長（1989年～2000年）、ニューヨーク大学医学研究科の研究科長（2000～2012年）を歴任。現在は、ニューヨーク大学医学研究科のトランスレーショナル・メディシン教授（Singer Professor of Medicine）および微生物学教授を務めるかたわら、同大学のヒト細菌叢プロジェクトを率いている。

主要研究分野：ヒト消化管内に持続定着するカンピロバクター菌やヘリコバクター・ピロリ菌をはじめとする病原菌との相互関係を解き明かすことを主要テーマとしている。また、これをモデルとして常在細菌叢と宿主との関係性についても追究をおこなっている。特に、ヒト細菌叢と健康、および喘息、肥満、糖尿病、アレルギーなどの重要疾患の間にある繋がりを解明すべく、精力的に研究を進めている。28件のアメリカ特許を保有し、550以上の原著論文を執筆。最近、一般読者を対象とした書籍「失われていく、我々の内なる細菌」を出版。**栄誉：**米国感染症学会会長。NCI（全米癌研究所）科学顧問委員会委員長。NIH（アメリカ国立衛生研究所）臨床研究諮問委員会委員長。米国医学研究所および米国芸術科学アカデミー会員に選出。癌疫学研究への功績につきAACR-ACS（米国癌学会－アメリカ癌協会）賞を受賞。IDSA（米国感染症学会）よりアレクサンダー・フレミング賞を受賞。

要約：近年の研究により、腸内細菌叢がヒトの免疫、代謝、認知機能などの健康に関与することが示唆されつつある。一方で我々は、なぜ肥満、喘息、若年性糖尿病、炎症性腸疾患、食物アレルギーなどの疾患が、第二次世界大戦以降、実質的に同じタイミングで拡大を続けている理由を理解する必要がある。こうした流行疾患の原因を紐解くためには、ヒト腸内細菌叢について3つの観点から考えることが重要である。1つ目は、細菌叢の主要な構成が数百年以上も前より垂直伝播を続けていること、2つ目は、腸内細菌叢が発達する最もダイナミックな時期が幼年期であること、そして3つ目は、腸内細菌叢と宿主間の相互作用がバランスの取れた形へと進化したことにより、細菌が数年もしくは数十年間にわたって腸内に持続定着する能力を得た可能性が高いということである。特に先の世界大戦以降、ヒトの健康管理法は根底から大きな変化を遂げた。私は、本変化に伴い、先祖代々伝播してきた持続定着能を有する細菌（通常は幼年期に獲得される）が数世代にわたって累積的に消失したことで、前述の流行疾患が促進されていると

考えている。なかでも、多世代にわたり利用の広まった抗生物質は、腸内細菌叢に選択的もしくは意図せぬ効果を及ぼし、その消失を促す最たる原因となっていると推察している。抗生物質の利用は、世界中の人々に影響を与えるのに十分なレベルにまで達しており、これに伴って腸内細菌叢の回復能が備わっていない小さな子供や、罹患体質者への暴露も高まっている。

数々の疫学試験により蓄積された観測データは、上述の仮説を裏付けている。本仮説をより深く検証するため、我々は、幼年期に抗生物質を投与もしくは投与しなかったマウスを用いた一連の実験をおこない、抗生物質が腸内細菌叢、代謝および免疫に及ぼす影響を評価した。肥満という視点からの主要な結果として、抗生物質の投与により腸内菌叢が攪乱され、これによって食事成分の生体への影響が増強される可能性があることが示された。また、成長発育の重要な時期である幼年期における本影響は、たとえ一過的であっても、その後の宿主の成長に長期的な影響をもたらすことが明らかとなった。これと並行もしくは関連して得られた試験結果は、更に、抗生物質への暴露に起因する腸内菌叢の攪乱が、正常な免疫系の発達に対しても必要十分に影響を及ぼすことを示していた。そして、こうした腸内菌叢および健康への影響は、次の世代へと垂直伝播していた。

以上の「失われていく腸内細菌叢」仮説は、未来の世代の健康改善、特に疾患予防のための、実現可能な対策作りへと繋がる。我々は、先祖代々受け継いできた腸内細菌叢がこれまで以上に破壊されることを防ぐ一方、失われてきた有益な腸内細菌を取り戻すための方法を講じていく必要がある。

参考文献

- 1) Blaser MJ. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports 2006 ; 7 : 956-960.
- 2) Blaser MJ, Falkow S. What are the consequences of the disappearing human microbiota? Nature Reviews Microbiology. 2009;7:887-894. [PMID: 19898491]
- 3) Cho I, Yamanishi S, Cox L, Methe BA, Zavadil J, Li K, Gao Z, Mahana D, Raju K, Teitler I, Li H, Alekseyenko AV, Blaser MJ. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. Nature 2012 ; 488 : 621-626. [PMID : 22914093]
- 4) Cox LM, Cho I, Young SA, Anderson WHK, Waters BJ, Hung SC, Gao Z, Mahana D, Bihan M, Alekseyenko AV, Methe B, Blaser MJ. The non-fermentable dietary fiber hydroxypropyl methylcellulose modulates intestinal

- microbiota. *FASEB J* 2013 ; 27 : 692-702. [PMID : 23154883]
- 5) Cox LM, Yamanishi S, Sohn J, Alekseyenko AV, Leung JM, Cho I, Kim S, Li H, Gao Z, Mahana D, Zarate Rodriguez JG, Rogers AB, Robine N, Loke P, Blaser MJ. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell* 2014 ; 158 : 705-721.
 - 6) Nobel YR, Cox LM, Kirigin FF, Bokulich NA, Yamanishi S, Teitler I, Chung J, Sohn J, Barber C, Goldfarb DS, Raju K, Abubucker S, Zhou Y, Ruiz VE, Li H, Mitreva M, Alekseyenko AV, Weinstock GM, Sodergren E, Blaser MJ. Metabolic and metagenomic outcomes from early-life pulsed antibiotic treatment. *Nature Communications* 2015 ; 6 : 7486. doi : 10.1038/ncomms8486.
 - 7) Mahana D, Trent CM, Kurtz Z, Bokulich NA, Battaglia T, Chung J, Muller CL, Li H, Bonneau RA, Blaser MJ. Antibiotic perturbation of the murine gut microbiome enhances the adiposity, insulin resistance, and liver disease associated with high-fat diet. *Genome Medicine* 2016 ; 8 : 48.
 - 8) Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, Henderson N, Jay M, Li H, Lieber A, Wu F, Perez-Perez GI, Chen Y, Schweizer W, Zheng X, Contreras M, Dominguez-Bello MG, Blaser MJ. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Science Translational Medicine* 2016 ; 8 (343) : 343ra82. doi : 10.1126/scitranslmed.aad7121.
 - 9) Livanos AE, Greiner TU, Vangay P, Pathmasiri W, Stewart D, McRitchie S, Li H, Chung J, Sohn J, Kim S, Gao Z, Barber C, Kim J, Ng S, Rogers AB, Sumner S, Zhang X-S, Cadwell K, Knights D, Alekseyenko A, Backhed F, Blaser MJ. Antibiotic-mediated gut microbiome perturbation accelerates development of type 1 diabetes in mice. *Nature Microbiology* 2016 ; 1 : 16140. doi : 10.1038/nmicrobiol.2016.140.
 - 10) Ruiz VE, Battaglia T, Kurtz ZD, Bijnsens L, Ou A, Engstrand I, Zheng X, Iizumi T, Mullins BJ, Müller CL, Cadwell K, Bonneau R, Perez Perez GI, Blaser MJ. A single early-in-life macrolide course has lasting effects on murine microbial network topology and immunity. *Nature Communications* 2017 ; in press.

The Theory of Disappearing Microbiota and the Worldwide Epidemics of Chronic Diseases

Martin J. Blaser, MD
New York University School of Medicine
New York NY 10016 USA

Brief curriculum vitae : Born in New York (1948) . Graduated from the University of Pennsylvania (BA, 1969), and NYU School of Medicine (1973). Served as Director, Division of Infectious Diseases, Vanderbilt University (1989-2000). Chair, Department of Medicine, NYU (2000-2012). Currently he serves as the Singer Professor of Medicine, Professor of Microbiology, and Director of the Human Microbiome Program at the NYU School of Medicine.

Major Fields of Studies : He has been studying the relationships we have with our persistently colonizing bacteria, including *Campylobacter* species and *Helicobacter pylori*, which also are model systems for understanding the interactions of residential bacteria with their hosts. He has been actively studying the relationship of the human microbiome with health and important diseases as asthma, obesity, diabetes, and allergies. He holds 28 U.S. patents, and has authored over 550 original articles. Recently, he wrote *Missing Microbes*, a book targeted to general audiences.

Honors : President of the Infectious Diseases Society of America, Chair of the Board of Scientific Counselors of the National Cancer Institute, and Chair of the Advisory Board for Clinical Research of the NIH, elected to the National Academy of Medicine and the American Academy for Arts and Sciences, AACR-ACS Award for Research Excellence In Cancer Epidemiology, Alexander Fleming Award from IDSA.

Abstract : Recent studies have implicated the intestinal microbiota in aspects of human health including immunity, metabolism, and cognition. However, we need to understand why there have been essentially parallel epidemics of obesity, asthma, juvenile diabetes, and inflammatory bowel disease, and food allergies among other disorders, since World War II ? To understand these epidemics, it is important to consider three concepts about the human microbiome : i. we have had vertical transmission of its major components for millions of years ; ii, the most dynamic period of microbiome development is early life ; iii, a model of co-evolved equilibrium interactions between microbiota and host best explain microbial persistence over years and decades. Because of fundamental changes in human health practices, especially since WW II , I have pos-

tulated that there has been a progressive and cumulative multi-generational disappearance of the ancestral and persistent human microbiota, usually acquired early in life, which is fueling these epidemics. As the single most important, I implicate the now multi-generational and widespread exposure of humans to antibiotics as being sufficient in terms of : their power to cause these changes due to their selective and unintended effects on the microbiota ; their cumulative and increasing distribution to affect populations throughout the world ; in conjunction with exposure of young children lacking resilience of microbial communities and in whom the disease diatheses are developing.

Substantial observational data from epidemiological studies support this hypothesis. To further test the hypotheses, we have performed a series of experimental studies in mice, exposed or not to early life antibiotics to assess the effects on microbiome, metabolism, and immunity. With regard to obesity, the major findings indicate that antibiotics are sufficient to perturb the microbiota, that the effects may synergize with dietary exposures, that perturbing the microbiota, even transiently, during a critical early life window of development can have long-term consequences. A parallel and synergistic body of evidence shows that the antibiotic-altered microbiota can affect normal immunological development, that the altered microbiota are both necessary and sufficient for the effects, and that the effects on both microbiota and disease can be passed vertically to the next generation.

The disappearing microbiota hypothesis leads to actionable steps to improve human health and to specifically prevent disease development in future human generations. We must take steps to avoid further destruction of the integrity of our ancestral microbiome, and to develop the means for restoring the key members of the beneficial microbiota that we have lost.

References

- 1) Blaser MJ. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports 2006 ; 7 : 956-960.
- 2) Blaser MJ, Falkow S. What are the consequences of the disappearing human microbiota? Nature Reviews Microbiology. 2009;7:887-894. [PMID: 19898491]
- 3) Cho I, Yamanishi S, Cox L, Methe BA, Zavadil J, Li K, Gao Z, Mahana D,

- Raju K, Teitler I, Li H, Alekseyenko AV, Blaser MJ. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature* 2012 ; 488 : 621-626. [PMID : 22914093]
- 4) Cox LM, Cho I, Young SA, Anderson WHK, Waters BJ, Hung SC, Gao Z, Mahana D, Bihan M, Alekseyenko AV, Methe B, Blaser MJ. The non-fermentable dietary fiber hydroxypropyl methylcellulose modulates intestinal microbiota. *FASEB J* 2013 ; 27 : 692-702. [PMID : 23154883]
 - 5) Cox LM, Yamanishi S, Sohn J, Alekseyenko AV, Leung JM, Cho I, Kim S, Li H, Gao Z, Mahana D, Zarate Rodriguez JG, Rogers AB, Robine N, Loke P, Blaser MJ. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell* 2014 ; 158 : 705-721.
 - 6) Nobel YR, Cox LM, Kirigin FF, Bokulich NA, Yamanishi S, Teitler I, Chung J, Sohn J, Barber C, Goldfarb DS, Raju K, Abubucker S, Zhou Y, Ruiz VE, Li H, Mitreva M, Alekseyenko AV, Weinstock GM, Sodergren E, Blaser MJ. Metabolic and metagenomic outcomes from early-life pulsed antibiotic treatment. *Nature Communications* 2015 ; 6 : 7486. doi : 10.1038/ncomms8486.
 - 7) Mahana D, Trent CM, Kurtz Z, Bokulich NA, Battaglia T, Chung J, Muller CL, Li H, Bonneau RA, Blaser MJ. Antibiotic perturbation of the murine gut microbiome enhances the adiposity, insulin resistance, and liver disease associated with high-fat diet. *Genome Medicine* 2016 ; 8 : 48.
 - 8) Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, Henderson N, Jay M, Li H, Lieber A, Wu F, Perez-Perez GI, Chen Y, Schweizer W, Zheng X, Contreras M, Dominguez-Bello MG, Blaser MJ. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Science Translational Medicine* 2016 ; 8 (343) : 343ra82. doi : 10.1126/scitranslmed.aad7121.
 - 9) Livanos AE, Greiner TU, Vangay P, Pathmasiri W, Stewart D, McRitchie S, Li H, Chung J, Sohn J, Kim S, Gao Z, Barber C, Kim J, Ng S, Rogers AB, Sumner S, Zhang X-S, Cadwell K, Knights D, Alekseyenko A, Backhed F, Blaser MJ. Antibiotic-mediated gut microbiome perturbation accelerates development of type 1 diabetes in mice. *Nature Microbiology* 2016 ; 1 : 16140. doi : 10.1038/nmicrobiol.2016.140.
 - 10) Ruiz VE, Battaglia T, Kurtz ZD, Bijmens L, Ou A, Engstrand I, Zheng X, Iizumi T, Mullins BJ, Müller CL, Cadwell K, Bonneau R, Perez Perez GI, Blaser MJ. A single early-in-life macrolide course has lasting effects on murine microbial network topology and immunity. *Nature Communications* 2017 ; in press.

特定の乳酸菌がマウスの生後成長ダイナミクスおよび 低栄養下における成長ホルモン軸形成に与える影響

Martin Schwarzer 博士

チェコ科学アカデミー微生物研究所 チェコ共和国

略歴：1980年チェコ共和国ノビチンで生まれる。2004年にブルノのマサリク大学にて分子生物学・遺伝学を専攻して卒業し、2013年にプラハのカレル大学にて博士号を取得した。2013～2017年までFunctional Genomics研究所（フランス・リヨン）のFrancois Leulier博士の研究グループにてノトバイオートのハエやマウスの統合生理学の研究にポスドクとして従事した。2017年よりチェコ科学アカデミー微生物研究所ノトバイオロジー研究室の研究員として従事している。

専攻分野：特にアレルゲン感作と若齢期生育に関連した、栄養環境と腸内細菌叢による宿主への生理学的な影響

受賞：第28回欧州アレルギー・臨床免疫学会（2009年ポーランド・ワルシャワ）にて最優良プレゼンテーション・ポスター賞、オーストリアアレルギー免疫学会年次総会（OGAI）（2010年オーストリア・ウィーン）にて最優良ポスター賞、チェコ共和国プロバイオティクス・プレバイオティクス学会（2011年）およびチェコ共和国免疫学会（2012、2013年）より最優秀論文賞、チェコ共和国アレルギー・臨床免疫学会（2014年）より最優秀論文賞、チェコ科学アカデミー微生物研究所より最優秀独創的科学論文賞の共同受賞（2017年）

要約：若齢期は体重や身体の大さの飛躍的な増加が特徴的である。これら2つの身体的特徴は、栄養摂取と生体ホルモンシグナルの相互作用に基づいて広範囲な表現型を示す。哺乳類では、出生後の成長は成長ホルモン軸の活性により制御されており、その成長ホルモン軸では成長ホルモンにより肝臓と末梢組織でのインシュリン様成長因子1 (IGF-1) の合成が指示され、器官や全身の成長が促進される¹⁾。カロリーやタンパク質摂取の不足による栄養失調は、一般的にタンパク質エネルギー栄養障害と呼ばれる。急性の場合、急速な体重減少あるいは正常な体重増加の不具合につながる²⁾。急性の栄養失調とは対照的に、慢性的な栄養失調は長期間の不十分な栄養摂取の結果である。慢性的な低栄養により成長ホルモン抵抗性³⁾ が惹起されることで成長ホルモン軸活性が変化する。これにより伸長に不具合が生じ、身長が低く、細くなる。この要因については未だに不明な点が多く⁴⁾、哺乳類におけるこうした状態における腸内細菌叢の役割については、最近まで全く知られてはいなかった⁵⁾。我々は、若齢マウスにおいて通常栄養状態および低栄養状態での体重増加や経時的な成長の維持に、腸内細菌叢が必要であ

ることを示した。無菌マウスの肝臓や末梢組織では成長ホルモン感受性が減少しているという特徴が認められたことから、腸内細菌叢が成長ホルモン軸活性を維持することが示唆された。先にStorelliらは、ノトバイオートショウジョウバエモデルで、*L. plantarum*が菌株特異的にタンパク質欠乏での若齢期の成長を促進することを示した⁶⁾。我々は、無菌マウスの単独定着モデルを用いて、ショウジョウバエの系で成長促進能が認められた*L. plantarum*株が成長や成長ホルモン軸活性に対する腸内細菌叢の影響を十分再現することを示した。我々の検討結果から、若齢期の成長における宿主の腸内細菌叢環境の必要なこと、ならびに慢性的な低栄養状態が若齢期の成長に及ぼす悪影響に対し特定の乳酸菌株が緩衝効果を示すことが明らかになった。

参考文献

- 1) Butler A. A. & Le Roith D. (2001) Control of Growth by the Somatotropic Axis : Growth Hormone and the Insulin-Like Growth Factors Have Related and Independent Roles. *Annu Rev Immunol* **63**, 141-164.
- 2) Ahmed T., Rahman S. and Cravioto A. (2009) Oedematous malnutrition. *Indian J Med Res* **130** (5) : 651-654.
- 3) Fazeli P. K. and Klibanski A. (2014) Determinants of GH resistance in malnutrition. *J Endocrinol* **220**, R57-65.
- 4) Gordon J. I., Dewey K. G., Mills D. A. and Medzhitov R. M. (2012) The human gut microbiota and undernutrition. *Sci Transl Med* **4** (137) : 137ps112.
- 5) Schwarzer M., Makki K., Storelli G., Machuca-Gayet I., Srutkova D., Hermanova P., Martino M. E., Balmand S., Hudcovic T., Heddi A., Rieusset J., Kozakova H., Vidal H. and Leulier F. (2016) *Lactobacillus plantarum* strain maintains growth of infant mice during chronic undernutrition. *Science* **351** (6275) : 854-857.
- 6) Storelli G., Defaye A., Erkosar B., Hols P., Royet J. and Leulier F. (2011) *Lactobacillus plantarum* promotes *Drosophila* systemic growth by modulating hormonal signals through TOR-dependent nutrient sensing. *Cell Metab* **14** (3) : 403-414.

Selected lactobacilli strains restore mouse post-natal growth dynamics and somatotrophic axis activity upon undernutrition

Martin Schwarzer, Ph.D.

Laboratory of gnotobiology

Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences,

549 22 Novy Hradek, Czech Republic

Brief curriculum vitae : Born in Novy Jicin (1980), Czech Republic. Graduated from Molecular biology and genetics at Masaryk University in Brno (2004) and finalized his Ph.D. at Charles University in Prague (2013). Post-doctoral training in Integrative physiology of gnotobiotic flies and mice at Institute of Functional Genomics in Lyon, France in the group of Dr. Francois Leulier (2014-2017). Researcher in the Laboratory of Gnotobiology at the Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences (2017~).

Major Fields of Studies : My research is focused on how the nutritional environment and intestinal microbial communities together affect mammalian host physiology, specifically in the context of allergen sensitization and the juvenile growth.

Prize awarded : Best presentation and poster prize, XXVIII Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Warszawa, Poland (2009) ; Best poster prize, Annual Meeting of the Austrian Society for Allergology and Immunology (ÖGAI), Vienna, Austria (2010) ; Best paper prize awarded by the Czech Society for Probiotics and Prebiotics (2011) and by the Czech Immunological Society (2012, 2013) ; Best paper prize awarded by the Czech Society for Allergology and Clinical Immunology (2014) ; Best original scientific paper in collaboration awarded by the Institute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences (2017).

Abstract : The juvenile period is marked by the exponential gain in body weight and size. These two physical traits can manifest large phenotypic range based on the interaction between nutritional input and the organism's hormonal cues. In mammals, post-natal growth is controlled by the activity of the somatotrophic axis, in which Growth Hormone instructs liver and peripheral tissues to produce Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1), to promote organ and systemic growth¹⁾. Malnutrition resulting from deficiencies in calorie or protein intake is generally called protein-energy malnutrition. In its acute form it leads to rapid weight loss or failure to gain weight normally²⁾. Contrary to the acute malnutrition, the chronic malnutrition is a result of inadequate nutrition over a long pe-

riod of time. Chronic undernutrition alters the somatotrophic axis activity by triggering a state of GH-resistance³⁾ which leads to the failure of linear growth and, as a result, to short and thin individuals. Its causative factors are still poorly understood⁴⁾ and until recently, nothing was known about the role of the microbiota in this condition in mammals⁵⁾. In juvenile mice we have shown that microbiota is necessary to sustain both weight gain and longitudinal growth upon normal- and under-nutrition. We found that the liver and peripheral tissues of germ-free (GF) mice bear hallmarks of reduced GH sensitivity indicating that the intestinal microbiota sustains somatotrophic axis activity. Previously, using a gnotobiotic *Drosophila* model, Storelli *et al.* has shown that *L. plantarum* is able to promote juvenile growth upon protein scarcity in a strain dependent manner⁶⁾. Upon monoassociation of GF mice we showed that strain of *L. plantarum* previously qualified for its growth promoting ability in the *Drosophila* system is sufficient to fully recapitulate the microbiota effect on growth and the somatotrophic axis activity in mice. Our findings reveal the necessity of the host's microbial environment in supporting juvenile growth and the sufficiency of selected lactobacilli strains to buffer the adverse effects of chronic undernutrition on post-natal growth.

References

- 1) Butler A. A. & Le Roith D. (2001) Control of Growth by the Somatotrophic Axis : Growth Hormone and the Insulin-Like Growth Factors Have Related and Independent Roles. *Annu Rev Immunol* **63**, 141-164.
- 2) Ahmed T., Rahman S. and Cravioto A. (2009) Oedematous malnutrition. *Indian J Med Res* **130** (5) : 651-654.
- 3) Fazeli P. K. and Klibanski A. (2014) Determinants of GH resistance in malnutrition. *J Endocrinol* **220**, R57-65.
- 4) Gordon J. I., Dewey K. G., Mills D. A. and Medzhitov R. M. (2012) The human gut microbiota and undernutrition. *Sci Transl Med* **4** (137) : 137ps112.
- 5) Schwarzer M., Makki K., Storelli G., Machuca-Gayet I., Srutkova D., Hermanova P., Martino M. E., Balmand S., Hudcovic T., Heddi A., Rieusset J., Kozakova H., Vidal H. and Leulier F. (2016) *Lactobacillus plantarum* strain maintains growth of infant mice during chronic undernutrition. *Science* **351** (6275) : 854-857.
- 6) Storelli G., Defaye A., Erkosar B., Hols P., Royet J. and Leulier F. (2011)

Lactobacillus plantarum promotes *Drosophila* systemic growth by modulating hormonal signals through TOR-dependent nutrient sensing. Cell Metab 14 (3) : 403-414.

ヒトミルクオリゴ糖とその分解酵素から考える母乳栄養児と ビフィズス菌の共生・共進化

片山高嶺

京都大学大学院生命科学研究科

略歴：1970年、愛知県生まれ。1994年 京都大学農学部卒業後、1999年 同大学院博士課程修了。1999年 京都大学大学院農学研究科リサーチアソシエイト。2002年 京都大学大学院生命科学研究科助手。2005年 石川県立大学講師。2008年 同准教授。2013年 同特任教授。2015年 京都大学大学院生命科学研究科教授。

主な研究テーマ：低分子化合物を介した腸内細菌と宿主の共生・共進化。

要約：近年の研究によって、腸内細菌が宿主の健康に大きな影響を与えていることが明らかとなってきた¹⁾。特に乳児期における菌叢の形成は成長後にも影響を与えることが知られているため²⁾、その形成機構を解明することは重要な課題である。パスツール研究所のティシエがビフィズス菌を単離して以来、母乳栄養児の腸管では授乳開始直後からビフィズス菌が速やかに増殖し、いわゆるビフィズスフローラが形成されることが広く知られていた。このビフィズスフローラは離乳と共に消失すること、また人乳を培地に加えるとビフィズス菌の増殖が促進されることから、人乳中にはビフィズス菌を特異的に増殖させる因子（ビフィズス因子）があると推察されていたが、つい最近までその実体は明らかでなかった。

我々は約10年前に、ビフィズス菌がヒト母乳オリゴ糖に作用する特異的分解経路を有していることを世界に先駆けて発見し、その経路上の酵素群の構造機能解析を行ってきた³⁾。ヒト母乳オリゴ糖は人乳中に3番目に多く含まれる固形成分でありながら（10～20g/L）、ヒトの消化酵素に耐性であるために乳児の栄養とはならない⁴⁾。それにも関わらず母親は乳腺において多大なエネルギーを消費して母乳オリゴ糖を合成し、児に与えている。

人乳は1型糖鎖構造（Gal β 1-3GlcNAc β -OR）を有するオリゴ糖を多量に含む。これはヒト母乳オリゴ糖の特徴であり、類人猿を含む他の霊長類の乳オリゴ糖は2型糖鎖構造（Gal β 1-4GlcNAc β -OR）の割合が高く、1型糖鎖構造は検出されないか、あったとしても微量であることが知られている⁴⁾。興味深いことに、1型母乳オリゴ糖に作用する酵素はヒト乳児に生息するビフィズス菌のみが有しており、他のビフィズス菌や腸内細菌には殆ど存在していない⁵⁾。1型糖鎖構造に作用する *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* (*B. longum*) 由来の酵素ラクト-N-ビオシダーゼ (*lnbX*) に着目して完全母乳栄養児の糞便解析を行ったところ、*B. longum* の存在率と *lnbX* の存在率との間に正の相関が見られることが明

らかとなった。しかしながら混合乳（母乳および人工乳）栄養児の糞便中では両者に相関は全く見られなかった。これらのことは、1型糖鎖構造を有するヒト母乳オリゴ糖が選択圧となりビフィズスフローラ形成に寄与していることを示唆すると共に、ビフィズス菌がヒトと共進化してきたことを暗示している⁶⁾。これらの成果以外に最近、*Bifidobacterium bifidum* (*B. bifidum*) によって分解された母乳オリゴ糖の一部が他のビフィズス菌種に分配されている可能性も明らかとなってきた。一般に、ビフィズスフローラにおける種レベルでの *B. bifidum* の割合は高くはないが、ビフィズスフローラ全体の形成に貢献している可能性がある。本講演では、ビフィズス菌とヒト母乳オリゴ糖に関する研究の歴史的な背景を振り返りながら、これまでの我々の研究を紹介する。

参考文献

- 1) Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, *et al.* : Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature* 474 : 327-336, 2011
- 2) Olszak T, An D, Zeissig S, *et al.* : Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 336 : 489-493, 2012
- 3) Katayama T. : Host-derived glycans serve as selected nutrients for the gut microbe : Human milk oligosaccharides and bifidobacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 80 : 621-632, 2016
- 4) Urashima T, Asakuma S, Leo F, *et al.* : The predominance of type I oligosaccharides is a feature specific to human breast milk. *Adv Nutr* 3 : 473S-82S, 2012
- 5) Asakuma S, Hatakeyama E, Urashima T, *et al.* : Physiology of consumption of human milk oligosaccharides by infant-gut associated bifidobacteria. *J Biol Chem* 286 : 34583-34592, 2011
- 6) Yamada C, Gotoh A, Sakanaka M, *et al.* : Molecular insight into evolution of symbiosis between breast-fed infants and a member of the human gut microbiome *Bifidobacterium longum*. *Cell Chem Biol* 24 : 515-524, 2017

Symbiosis and co-evolution between breastfed infants
and *Bifidobacterium* driven by human milk oligosaccharides
and their degrading enzymes

Takane Katayama

Graduate School of Biostudies, Kyoto University

Brief curriculum vitae : Born in Aichi prefecture, Japan in 1970. Graduated from Faculty of Agriculture, Kyoto University in 1994. Completed doctoral program, Graduate School of Agriculture, Kyoto University in 1999. Research Associate at Graduate School of Agriculture, Kyoto University in 1999. Assistant Professor at Kyoto University in 2002. Senior Lecturer at Ishikawa Prefectural University (IPU) in 2005. Associate Professor at IPU in 2008. Professor at IPU in 2013. Professor at Kyoto University in 2015.

Major field studies : Small compound-based understanding of symbiosis and co-evolution between gut microbes and the host.

Abstract : The mammalian gastrointestinal tract is inhabited by a vast and diverse community of microbes and their metabolic activity significantly influences the host's health¹⁾. Especially, because gut microbial composition in early life is shown to have long-lasting effects on human health²⁾, elucidating the mechanism of how gut microbial composition is shaped in infancy is of great importance. *Bifidobacterium* sp. was isolated in 1899 from the stools of breast-fed infants by H. Tissier at the Pasteur Institute. Gut microbiota of breast-fed infants is generally dominated by bifidobacteria, but this bifidobacteria-rich microbiota disappears soon after weaning. This fact and the finding that bifidobacteria showed enhanced growth on media supplemented with human, but not cow, milk strongly suggested that human milk contains bifidogenic compounds. However, until relatively recently, there have been no reports to link human milk compound (s) with bifidobacterial physiology.

During the last decade, we have revealed that bifidobacteria have species-specific pathways for assimilation of human milk oligosaccharides (HMOs) and genetically and biochemically characterized the enzymes on the pathways³⁾. HMOs are the third most abundant solid component contained in human milk (10-20g/L). But they have no nutritional value for infants, because they are resistant to intestinal digestive enzymes⁴⁾. Nonetheless, mothers produce the oligosaccharides in mammary glands at the great expense of energy, and feed

them to neonates.

HMOs are known to be rich in type-1 chain (Gal β 1-3GlcNAc β -OR), while milk oligosaccharides of other primates including anthropoids are rich in type-2 chain (Gal β 1-4GlcNAc β -OR) and the amount of type-1 chain is very low if it is included. Thus, predominance of type-1 structure is a human-specific feature. Interestingly, the enzymes acting on HMOs with type-1 chain are exclusively found in infant gut-associated bifidobacteria among gut microbes⁵⁾. Accordingly, as an example, we focused on type-1 chain-specific enzyme lacto-*N*-biosidase (*lnbX*) from *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* (*B. longum*), and found a positive correlation between the abundance of *B. longum* and the abundance of *lnbX* in the stools of breast-fed infants. However, no correlation was detected between the two in the stools of mix-fed (breast-and formula-fed) infants. These results indicate HMOs with type-1 chain serve as a selective pressure for shaping bifidobacteria-dominant gut microbial composition in breast-fed infants. Moreover, the results imply co-evolution between bifidobacteria and humans. Apart from type-1 chain-mediated symbiosis and evolution, we have recently obtained the data indicating that *Bifidobacterium bifidum* can share HMOs degradants with the other bifidobacterial species, thereby enhancing the formation of bifidobacteria-rich microbiota. In this talk, I will present overview of our research related to HMOs and the degrading enzymes of bifidobacteria with the historic context.

References

- 1) Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, *et al.* : Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature* 474 : 327-336, 2011
- 2) Olszak T, An D, Zeissig S, *et al.* : Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 336 : 489-493, 2012
- 3) Katayama T. : Host-derived glycans serve as selected nutrients for the gut microbe : Human milk oligosaccharides and bifidobacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 80 : 621-632, 2016
- 4) Urashima T, Asakuma S, Leo F, *et al.* : The predominance of type I oligosaccharides is a feature specific to human breast milk. *Adv Nutr* 3 : 473S-82S, 2012
- 5) Asakuma S, Hatakeyama E, Urashima T, *et al.* : Physiology of consumption of human milk oligosaccharides by infant-gut associated bifidobacteria. *J*

Biol Chem 286 : 34583-34592, 2011

- 6) Yamada C, Gotoh A, Sakanaka M, *et al.* : Molecular insight into evolution of symbiosis between breast-fed infants and a member of the human gut microbiome *Bifidobacterium longum*. *Cell Chem Biol* 24 : 515-524, 2017

乳児腸内フローラの形成に影響を与える ビフィズス菌の遺伝特性と定着意義

松木隆広

ヤクルト本社中央研究所基盤研究所

略歴：1970年 東京都国立市生まれ。1993年 東京工業大学理学部卒業、1995年 同大学院生命理学研究科修士課程修了。1995年 ヤクルト本社入社。1996～99年 東京大学農学生命科学研究科受託研究生（出向）。2005年 東京大学農学生命科学研究科にて学位取得（農学）。2008～10年 パスツール研究所博士研究員（出向）。2010年 ヤクルト中央研究所基礎研究一部共生微生物研究室室長、2015年～ 基盤研究所共生システム研究室室長。

受賞：2007年 日本細菌学会黒屋奨学賞「ヒト腸内フローラ構成菌の定量的PCR検出法の確立および菌属・菌種分布の解析」。

主な研究テーマ：腸内フローラの微生物生態学、細菌学、ゲノム微生物学

要約：

研究の背景：ヒトの腸管内には多種多様な細菌が在住し、複雑な微生物生態系（腸内フローラ）が形成されている。この腸内フローラは様々な生理活性を有し、それゆえに宿主の健康と密接な関係がある。乳児の腸内フローラは誕生直後に形成が始まり、短期間のうちにその構成は大きく変化する¹⁾。乳児の腸内フローラは成人とは異なること、出産様式や摂取ミルクの影響を受けること、個人差が大きいこと、ビフィズス菌が優勢菌種であることが以前より報告されている²⁻⁵⁾。また、近年乳児期の腸内フローラの形成は、乳児の健康だけではなく、成長後の宿主の生理にも影響していることが明らかになってきた⁶⁻⁸⁾。しかし、腸内フローラ形成の法則性や個人差の程度、腸内の代謝産物との関連性は、ほとんどわかっていない。本研究では、27名の乳児から提供された217の便サンプルの菌叢構成と代謝産物を測定し、腸内フローラの構成パターンと代謝産物の関連性を考察した。さらにビフィズス菌に注目し、その表現型と遺伝的特性を調べ、乳児と腸内フローラ構成菌の関連性について考察した。

乳児腸内フローラ形成の法則性：誕生後1か月間の乳児腸内フローラの形成過程の法則性と個人差の程度を調べるため、12名の乳児から提供された202サンプルの16S rRNA 遺伝子のV1-V2領域の配列を調べた。その結果、生後1か月間の乳児の腸内菌叢は、Staphylococcaceae、Enterobacteriaceae、Bifidobacteriaceaeのいずれかが最優勢であることを特徴とする3つの群にクラスター分けできること、徐々にBifidobacteriaceae優勢の菌叢に移行すること、その移行時期は

乳児により異なることを見出した⁹⁾。これは、乳児の腸内環境に最も適応した菌群は Bifidobacteriaceae であり、Enterobacteriaceae、Staphylococcaceae がそれに続くことを示唆するものと考えられた。

腸内フローラ構成と腸内代謝産物の関連性：引き続き、27名の生後1か月目の便サンプルについて、その菌叢構成と有機酸濃度とpHを測定し、相互の関連性を調べたところ、ビフィズス菌が定着した乳児では、腸管内容物の有機酸濃度の上昇とそれに伴うpHの低下、および残存の母乳オリゴ糖の減少が観察された。これはビフィズス菌の定着によって、乳児腸内に存在する母乳オリゴ糖が利用されるようになり、その結果、酢酸が産生されてpHが低下しているためであるとの仮説を立てた。しかし、一部の乳児ではビフィズス菌が定着しているにもかかわらず、便中の母乳オリゴ糖の濃度が高いことが分かった。そこで、乳児便から29株のビフィズス菌を分離してその表現型を調べたところ、菌株間で母乳中に含まれるオリゴ糖（HMO）の主成分、フコシルラクトース（FL）に違いがあることが分かった。

乳児ビフィズス菌のHMO利用機構の解明：乳児ビフィズス菌のFL利用性が菌株間で異なる理由を明らかにするため、乳児便から分離されたビフィズス菌29株のドラフトゲノム解析を行った。次にフコシルラクトースをフコースとラクトースに分解するフコシダーゼの有無を確認したところ、すべてのFL利用株はフコシダーゼ遺伝子を持っていることが確認されたが、FL非利用株の一部もこの遺伝子を持っていることがわかった。そこで、更に各菌株がもつ遺伝子を詳細に解析したところ、基質未同定のABC輸送体がFLを利用できる菌株にのみ存在することがわかった。このABC輸送体遺伝子を相同組換えにより欠損させたビフィズス菌株を作製したところ、FLを利用できなくなり、このABC輸送体がFL利用の中心的な働きを担っていることが確認された。

FLを効率よく利用できるビフィズス菌は腸内環境に影響を与える：乳児から分離されるビフィズス菌の間にFL利用性の違いが観察されたことから、生後1か月の乳児27名をFL利用ビフィズス菌が優勢の乳児とFL非利用ビフィズス菌が優勢の乳児、大腸菌群が優勢の乳児に群分けして、腸内フローラ構成と腸内環境を比較した。その結果、FL利用ビフィズス菌が定着した乳児では、他の2群に比べて Bifidobacteriaceae の占有率が高く大腸菌群の占有率が低いこと、および腸内の酢酸濃度が高く、pHと残存の母乳オリゴ糖濃度が低いことが確認された。

結語：HMOの利用性はビフィズス菌の菌株間で異なること、HMOの主成分のFL利用には、新規のABC輸送体が重要な役割を果たしていること、このABC輸送体は、乳児の腸内の酢酸濃度とpHを規定する重要な因子であることを示すことができた。FL利用ビフィズス菌の定着による腸内環境の変化は、宿主にとって有益であることが数多く報告されていることから^{10, 11)}、今後乳児の腸内フローラを標的とした疾病予防法やプロバイオティクスの開発において、ビフィズス菌のこのような特性を考慮する必要があると考えられる。

参考文献

- 1) Mitsuoka, T. : Establishment of intestinal bacteriology. Biosci Microbiota Food Health 33 : 99-116, 2014.
- 2) Palmer, C., Bik, E. M., DiGiulio, D. B., Relman, D. A. & Brown, P. O. : Development of the human infant intestinal microbiota. PLoS Biol. 5 : e177, 2007.
- 3) Tsuji, H. et al. : Molecular monitoring of the development of intestinal microbiota in Japanese infants. Benef Microbes 3 : 113-25, 2012.
- 4) Dogra, S. et al. : Dynamics of infant gut microbiota are influenced by delivery mode and gestational duration and are associated with subsequent adiposity. MBio 6 : e02419-e02414, 2015.
- 5) Backhed, F. et al. : The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101 : 15718-23, 2004.
- 6) Heijtz, R. D. et al. : Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 108 : 3047-52, 2011.
- 7) Cox, L. M. et al. : Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. Cell 158 : 705-21, 2014.
- 8) Kostic, A. D. et al. : The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. Cell Host Microbe 17 : 260-73, 2015.
- 9) Matsuki, T. et al. : A key genetic factor for fucosyllactose utilization affects infant gut microbiota development. Nat Commun 7 : 11939, 2016.
- 10) Fukuda, S. et al. : Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. Nature 469 : 543-7, 2011.
- 11) Samuel, B. S. et al. : Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 105 : 16767-72, 2008.

Key genetic factors of bifidobacteria that affect infant gut microbiota development

Takahiro Matsuki

Yakult Central Institute, Basic Research Department

Brief curriculum vitae : Born in Tokyo, 1970. Graduated from Faculty of Science, Tokyo Institute of Technology in 1992. Completed master's course at Tokyo Institute of Technology in 1995. 1995 to Present, Yakult Central Institute. Visiting Scientist at the University of Tokyo from 1996 to 1999. PhD at the University of Tokyo in 2005. Visiting Scientist at Institute Pasteur from 2008 to 2010.

Prize : Kuroya Prize awarded by Japanese Society for Bacteriology.

Major field studies : Molecular ecology of human gut microbiota, Bacteriology, Genome microbiology.

Abstract :

Background : It is becoming increasingly apparent that the bacterial ecosystem in our gut has a profound influence on human health and disease. Initial gut microbe colonization begins immediately after birth, and bacterial ecosystems develop within the first few days¹⁾. Previous studies have reported that environmental factors including the mode of delivery and feeding affect the gut microbiota assemblage and that the process is not random²⁻⁵⁾. Furthermore, it has been indicated that the gut microbiota development during infancy can have long-lasting effects on the individual's future health⁶⁻⁸⁾. However, little is known about their pattern of progression, factors that drive the assembly of infant gut microbiota, and how these factors affect metabolite profiles. Here we investigated gut microbiota compositions and metabolic profiles for 217 stool samples obtained from 27 infants during their first month of life. The dynamics and equilibria of the development of microbiota were investigated, and their associations with metabolites were evaluated to identify key factors mediating symbiotic relationships between infants and the microbiota.

Early development of gut microbiota : To investigate the dynamics of gut microbiota immediately after birth, we analyzed the sequences of the V1-V2 region of the 16S rRNA genes of 202 samples obtained from 12 infants born by normal delivery. Overall, the composition of the infant's microbiota was rela-

tively simple, being predominated by either Staphylococcaceae, Enterobacteriaceae, or Bifidobacteriaceae. We also observed directional transitions to Bifidobacteriaceae-dominant microbiota, and individual variations in the pace of progression. The results suggest that the best-adapted bacterial family in the infant gut may be Bifidobacteriaceae, followed by Enterobacteriaceae and Staphylococcaceae.

Bacterial lineage and gut environments : We then investigated fecal metabolite profiles and assessed the correlation between the metabolite profiles and bacterial lineages. We found that increased Bifidobacteriaceae abundance positively correlated with organic acid concentrations and total bacterial counts but negatively correlated with pH. Therefore, we hypothesized that bifidobacteria consume the remaining oligosaccharides in the infant gut, causing elevated acetate and lactate concentrations and decreased pH. However, some infants showed high fecal oligosaccharide concentrations despite the presence of Bifidobacteriaceae. We therefore isolated 29 bifidobacterial strains, investigated the HMO utilizing phenotype, and found that there were considerable differences in the utilization of fucosyllactose (FL, the main component of HMO).

ABC transporter play essential role in FL utilization : To gain insight into how the strains showed differences in FL utilization, we determined the draft genomes of all 29 strains. OrthoMCL clustering analysis clarified that the presence of a substrate-binding protein (SBP) of ABC transporter system corresponded with the FL-utilization phenotype in most strains. We further developed the knock-out strain of the ABC transporter SBP by homologous recombination. We confirmed that FL was not utilized by the FL-SBP gene-knock-out strain, demonstrating that the FL-SBP is responsible for FL utilization.

HMO-utilizing bifidobacteria affect gut ecosystems : Having identified the differences in FL utilization among bifidobacteria, we subdivided the Bifidobacteriaceae-dominated microbiota into those dominated by FL-utilizing bifidobacteria, non-FL-utilizing bifidobacteria and Enterobacteriaceae. Furthermore, we compared the microbiota compositions and faecal metabolite profiles. We discovered that infant with FL-utilizing bifidobacteria-dominated microbiota showed significantly higher Bifidobacteriaceae and lower Enterobacteriaceae abundances, as well as higher acetate concentrations and lower pH and residual oligosaccharide

concentrations.

Conclusion : Given the importance of infant gut microbiota for the long-term health of the individual, the FL-utilizing properties of bifidobacteria and related molecular mechanisms may ultimately have implications in therapeutic approaches or preventive medicine. Changes in metabolite profiles and microbiota compositions caused by FL-utilizing bifidobacteria have been suggested to have a variety of beneficial effects on the host^{10, 11)}. Therefore, our findings suggest that the presence of FL in breast milk and its utilization by bifidobacteria help fostering the mutually beneficial relationship between humans and the main constituents of the infant gut microbiota.

References

- 1) Mitsuoka, T. : Establishment of intestinal bacteriology. Biosci Microbiota Food Health 33 : 99-116, 2014.
- 2) Palmer, C., Bik, E. M., DiGiulio, D. B., Relman, D. A. & Brown, P. O. : Development of the human infant intestinal microbiota. PLoS Biol. 5 : e177, 2007.
- 3) Tsuji, H. et al. : Molecular monitoring of the development of intestinal microbiota in Japanese infants. Benef Microbes 3 : 113-25, 2012.
- 4) Dogra, S. et al. : Dynamics of infant gut microbiota are influenced by delivery mode and gestational duration and are associated with subsequent adiposity. MBio 6 : e02419-e02414, 2015.
- 5) Backhed, F. et al. : The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101 : 15718-23, 2004.
- 6) Heijtz, R. D. et al. : Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 108 : 3047-52, 2011.
- 7) Cox, L. M. et al. : Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. Cell 158 : 705-21, 2014.
- 8) Kostic, A. D. et al. : The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. Cell Host Microbe 17 : 260-73, 2015.
- 9) Matsuki, T. et al. : A key genetic factor for fucosyllactose utilization affects infant gut microbiota development. Nat Commun 7 : 11939, 2016.
- 10) Fukuda, S. et al. : Bifidobacteria can protect from enteropathogenic

infection through production of acetate. *Nature* 469 : 543-7, 2011.

- 11) Samuel, B. S. et al. : Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105 : 16767-72, 2008.

アジア マイクロビオーム プロジェクト：
アジア人の食と健康のインターフェースとしての
腸内フローラの理解に向けて

中山二郎

九州大学大学院農学研究院 生命機能科学部門

略歴：1965年、広島県生まれ。1987年 東京大学農学部卒業後、1989年 同大学大学院農学系研究科修士課程修了。1989年 東京大学農学部助手着任。1998年～1999年 オランダ・ワッゲニンゲン大学博士研究員として出向。2001年 九州大学大学院農学研究院助教授、2007年 同大学院准教授、現在に至る。

主な研究テーマ：①ヒト腸内フローラの多様性に関する研究、②グラム陽性細菌のクオラムセンシングを標的とした抗感染症剤の開発に関する研究。

主な受賞：1999年農芸化学奨励賞「腸球菌の性フェロモンシグナリングに関する生物有機化学的・分子生物学的研究」

要約：

はじめに：Asian Microbiome Project (AMP) とは

腸内フローラが食と健康のインターフェースとして重要な働きをしていることが分かってきた今日において、アジアは「食と体と健康」の疫学フィールドとして注目される。そこで、我々はアジア乳酸菌学会連合 (Asian Federation of Society for Lactic Acid Bacteria) のもとに、Asian Microbiome Project (AMP) を組織し、アジア人の腸内フローラの調査を行っている。まず、第一期調査として、各国食文化を反映する食習慣のもとに安定したフローラを構築していると期待される小学児童を対象に、糞便細菌叢を解析した。第二期調査では、アジア人の腸内細菌叢の基盤データベースを構築することを目的として調査国を10か国に増やし、また調査対象の年齢層を、第一期調査の小学児童に加えて、乳幼児、成人、高齢者も対象として、同様に糞便細菌叢解析を行った。第三期調査では、食と腸内細菌の関連性をより詳細に解析することを目的として、調査対象を特定の地域に限定して調査している。

1. 第一期調査：アジア5か国10都市の小学児童303名の腸内細菌叢¹⁾

各国食文化を反映する食習慣を維持していると期待される、小学児童（7歳から11歳）を対象に、糞便細菌叢の解析を行った。調査国は日本、中国、台湾、タイ、インドネシアの5か国で、各国から都会と地方の2都市を選び、各都市25名から45名、計303名の健常児童を対象に、糞便をサンプリングし、その細菌

叢解析を行った。各児童の菌種レベルの組成データを用いて、教師あり機械学習プログラムであるランダムフォレスト解析を行ったところ、興味深いことに、日本と中国とインドネシアの児童の腸内細菌叢は高い確率で判別可能なほどに固有の傾向を示した。一方、台湾の児童は中国と日本、タイの児童は中国とインドネシアの中間の特徴を有する傾向にあることが示された。

一方、菌科レベルで主成分分析を行ったところ、大きな二つの特徴が見られた。日本の福岡と東京、台湾の台北と台中、中国の北京と蘭州、タイのバンコクの児童には *Bacteroidaceae* 科や *Bifidobacteriaceae* 科の細菌が多いのに対し、インドネシアのジョグジャカルタとバリ、タイのコンケンの児童には *Prevotellaceae* 科の細菌が多く存在していた。さらにこの主成分分析上でクラスタリング解析を行った結果、*Prevotellaceae* を多く含む細菌叢 (Pタイプ) と、*Bifidobacteriaceae* と *Bacteroidaceae* を多く含む細菌叢 (BBタイプ) の2つのクラスターに分かれた。日本の子どもにおいては、調査した児童84名のうち83名がBBタイプであった。また興味深いことに、日本の児童は α 多様性 (各サンプルに含まれる菌の多様性) および β 多様性 (サンプル間の菌叢の多様性) とともに低く、個人間で似通った細菌叢を有していることが示された。日本の児童には、このように似通ったBBタイプの細菌叢を導く何らかの強い要因が存在していることが示唆される。

さらに各タイプの細菌叢の機能面についての特徴を知るために仮想メタゲノム解析である PICRUSt 解析を行った。その結果Pタイプには α -アミラーゼがより豊富に存在し、BBタイプはオリゴ糖の分解に携わる α -グルコシダーゼが豊富であった。また、BBタイプは胆汁酸の脱抱合にかかわる *choloylglycine hydrolase* の遺伝子量がPタイプに比べて豊富であり、BBタイプの細菌叢において胆汁酸代謝が活発になっていることが予測された。一方、Pタイプに豊富に存在する *Prevotella* は胆汁酸感受性であることが示されている。また、*choloylglycine hydrolase* の遺伝子量と各サンプルから検出された OTU 数は負に相関しており、抗菌活性も有する胆汁酸量の代謝が盛んなBBタイプの腸管では、一部の細菌種が生存できなくなっていることが示唆される。

PタイプとBBタイプといった菌組成的にも機能的にも異なる2つの腸内細菌叢タイプが生まれてきた要因には大変興味を持たれる。食因子、特に主食やその摂取法、あるいは副食を含む全体的な食習慣は、このようなグローバルな細菌叢タイプの決定に強く関わっていると考えられる。

2. 第二期調査：アジア人腸内細菌叢の基盤データベース構築

新生児から高齢者までを対象に腸内細菌叢を網羅的に解析し、アジア人の腸内フローラの基盤データベースを構築することを目指している。乳幼児については、これまでにインドネシアの0歳から4歳までの118糞便サンプルと日本人の

0歳から1歳までの202糞便サンプルの16S rRNA解析を終えている。小学児童から高齢者までの解析は、第一期調査の5か国に加えて、韓国およびモンゴルも加えてサンプリングを行い16S rRNA解析を行った。小学児童から高齢者までの500を超える菌叢データを用いて、各国ごとに年齢との相関を調べた。その結果、各国で共通して、年齢に相関して、*Bifidobacterium*が減少し、*Enterobacteriaceae*が増加する傾向が見られた。この二つの菌グループの年齢による変化は、他の多くの研究から報告があるが、アジア諸外国で共通してこの腸内細菌叢変化が確認されたことは大変興味深い。

3. 第三期調査：フィリピンレイテ島小学児童の食と腸内細菌叢の調査²⁾

第三期調査では、食と腸内細菌叢の関連性を詳細に調べることを目的に、特定の地域に焦点を当て、腸内細菌叢調査と同時に詳細な食事調査を行っている。フィリピンレイテ島は、フィリピンで第8位の面積を有する島で、発展途上にある。調査したOrmocとBaybayはわずか60kmほどの距離にあるが、オルモックは近代化が進んでいるのに対し、バイバイはまだそれほど近代化が進んでいない。AMPでは、オルモックおよびバイバイに住む児童（7歳～9歳）それぞれ19名と24名を対象に糞便サンプルを回収し、第一期同様に細菌組成の解析を行った。同時に、137項目の食品の摂取頻度を問うアンケートによる食事調査を行った。糞便細菌叢解析の結果から、バイバイの児童はPタイプ（24人中21人）、Ormocの児童はBBタイプの細菌叢（19人中15人）が主体であった。食習慣のアンケート調査ではOrmocの児童はファストフードや肉、菓子類をバイバイの児童より多く消費しており、欧米的な食文化が浸透していることが伺えた。Baybayの児童は脂質の摂取量が全エネルギー摂取量の18.1%であるのに対し、Ormocの児童は27.2%であった。WHOの指針では脂質摂取は全食エネルギーの30%以下を推奨しているが、それを上回る児童も多く、肥満児も多く含まれていた。脂質摂取量はFirmicutes/Bacteroidetes (F/B) に正の相関を示し、*Prevotella*属は負の相関を示した。PICRUSt解析を行った結果、BBタイプには、脂質の吸収を援助する胆汁酸の代謝関連遺伝子がPタイプに比べてより集積されていることが示された。これはBBタイプの子どもの腸内に、より多くの脂質が供給されていることを間接的に示しており、先の食調査のデータに矛盾しない。一方、Pタイプにはアミラーゼに関連する遺伝子が、BBタイプに比べてより多く集積されていることが示された。穀類を多く摂取するアジアにおいては、デンプンの分解は腸管内においても重要な機能の一つであり、その機能がPタイプの細菌コミュニティにより集積されているというシミュレーションの結果は注目すべき点である。

おわりに

以上、アジア人の腸内には、菌組成が大きく異なる2つの細菌叢タイプが存在することが示された。日本や中国、台湾はBBタイプ、インドネシアはPタイプが主流であった。一方、同じ国でも、地域や食習慣によってPタイプとBBタイプの分布が異なっていた。タイでは大都市バンコクの児童はBBタイプが多いのに対し、地方都市のコンケンの児童はPタイプが主流であった。またバンコクでも、ベジタリアンはPタイプが圧倒的に主流であることが報告されている³⁾。フィリピンでは、同じレイテ島内の2都市のバイバイとオルモックにて児童の腸内細菌叢タイプがBBタイプとPタイプに傾向が分かれた。以上のことから、近代化がもたらす食習慣の変化がPタイプからBBタイプへの大きな変化のドライビングフォースとなっていることは間違いないと考えられる。実際、このような腸内細菌叢の変化は、アジアに限らず、アフリカ人と欧米人との腸内細菌叢比較研究でも同様の傾向が示されている^{4, 5)}。

以上、我々 Asian Microbiome Project の調査結果は、アジア人の腸内細菌叢が現在大きな岐路に立っていることを暗示している。食の近代化が進む中、食習慣の変更を余儀なく迫られる今日のアジアにおいて、我々がどのように現代食と向き合っていくか、腸内細菌学も含めた健康医学を慎重に展開していくことが重要であると考えられる。

参考文献

- 1) Nakayama J, *et al.* : Diversity in gut bacterial community of school-age children in Asia. *Sci Rep.*, 5, 8397 (2015)
- 2) Nakayama J, *et al.* : Impact of Westernized Diet on Gut Microbiota in Children on Leyte Island., *Front Microbiol.*, 8, 197 (2017)
- 3) Ruengsomwong *et al.* : Microbial community of healthy Thai vegetarians and non-vegetarians, their core gut microbiota and pathogens risk., *J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 1723-1735 (2016)
- 4) Filippo C. De, *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. USA*, 107, 14691-14696 (2010)
- 5) Yatsuneneko T. *et al.* : Human gut microbiome viewed across age and geography., *Nature* 486, 222-227 (2012)

Asian Microbiome Project : To understand intestinal microbiota as an interface between food and host health in Asian people

Jiro Nakayama

Department of Bioscience & Biotechnology, Faculty of Agriculture,
Kyushu University

Brief curriculum vitae : Born in Hiroshima, 1965. Graduated from Faculty of Agriculture in the University of Tokyo in 1987. Completed Master's Course, Graduate School of Faculty of Agriculture in the University of Tokyo in 1989. Assistant Professor in Faculty of Agriculture, the University of Tokyo from 1989 to 2001. Visiting researcher at Wageningen University from 1998 to 1999. Associate Professor in Faculty of Agriculture, Graduate School, Kyushu University from 2001 to present.

Abstract :

INTRODUCTION :

Asia differs substantially among and within its regions populated by diverse ethnic groups, which maintain their own respective cultures and dietary habits. On the other hand, Oriental and Western cultures are now merging at many sites in Asia and affecting our life style, especially daily diets. To inquire into diversity in gut microbiota of Asian people, which must respond to daily diets and link to host health, Asian Microbiome Project (AMP) was established in 2009. AMP aims to build a basal microbiome database of Asians covering entire region and age group and gain an insight into the link between life style and gut microbiota. By sharing information and gained knowledge obtained in this project, we hope to promote health of Asian people. To begin this project, Phase I study was performed as a pilot study, in which we collected the data of gut microbiota of school-age children, whose dietary habits essentially reflects those of their country. Following to Phase I, we are conducting Phase II study to build a basal microbiome database of Asians covering entire ages from newborn to elderly. Then, we perform Phase III study focusing on more specific populations to gain a more definite insight into the link between life style and gut microbiota.

1. Phase I : Gut microbiota profiles of 303 Asian children from 10 cities in 5 countries¹⁾.

As a result of Phase I, we characterized the bacterial community in fecal samples obtained from 303 school-age children living in urban and rural regions from China, Japan, Taiwan, Thailand, and Indonesia. The microbiota profiled for the 303 subjects were classified into two enterotype-like clusters, each driven by *Prevotella* (P-type) or *Bifidobacterium/Bacteroides* (BB-type), respectively. Majority in China, Japan and Taiwan harbored BB-type, whereas those from Indonesia and Khon Kaen in Thailand mainly harbored P-type. The P-type microbiota was characterized by a more conserved bacterial community sharing a greater number of type-specific phylotypes. Predictive metagenomics suggests higher and lower activity of carbohydrate digestion and bile acid biosynthesis, respectively, in P-type subjects, reflecting their high intake of diets rich in resistant starch. Random-forest analysis classified their fecal species community as mirroring location of resident country, suggesting eco-geographical factors shaping gut microbiota. In particular, children living in Japan harbored a less diversified microbiota with high abundance of *Bifidobacterium* and less number of potentially pathogenic bacteria, which may reflect their living environment and unique diet.

2. Phase II : Building a basal microbiota database of Asians.

To build a basal microbiota database of Asians, AMP is collecting a stool samples from newborns to elderlies. So far, we have gained 16S rRNA profiles of 118 stool samples from Indonesian infants and 202 stool samples from Japanese. For the data of school-age children to elderlies, AMP has recruited two new countries, namely Korea and Mongolia and analyzed 16S rRNA profiles of more than 500 samples. Then, we examined correlation between changes in microbiota and aging. We found that *Bifidobacterium* increased and *Enterobacteriaceae* decreased with age, as have been observed in some previous studies. These changes were commonly observed in each country. Here the question arises how these two bacteria groups shift in response to aging.

3. Phase III : Correlation between dietary habit and gut microbiota in children on Leyte island of Philippines²⁾.

As a cohort study in Phase III, we compared fecal microbiota of 7 to 9-year-old children from rural Baybay city (n=24) and urban Ormoc city (n=19), and

assessed the correlation between bacterial composition and diet. A dietary survey indicated that Ormoc children consumed fast food frequently and more meat and confectionary than Baybay children, suggesting modernization/westernization of dietary habits. Fat intake accounted for 27.2% of the total energy intake in Ormoc children ; this was remarkably higher than in their Baybay counterparts (18.1 %) and close to the upper limit (30 %) recommended by the World Health Organization. Their microbiota were classified into P-type and BB-type as observed in the Phase I study, in which Baybay and Ormoc children mainly harbored P-type and BB-type, respectively. Redundancy analysis showed that P-type favored carbohydrates whereas BB-type preferred fats. Fat intake correlated positively with the Firmicutes-to-Bacteroidetes (F/B) ratio and negatively with the relative abundance of the family Prevotellaceae/genus *Prevotella*. Predicted metagenomics suggests that BB-type microbiota is well nourished and metabolically more active with simple sugars, amino acids, and lipids, while P-type community is more involved in digestion of complex carbohydrates. Overweight and obese children living in Ormoc, who consumed a high-fat diet, harbored microbiota with higher F/B ratio and low abundance of *Prevotella*. The altered gut microbiota may be a sign of a modern diet-associated obesity among children in developing areas.

Concluding remarks : Thus far, we have demonstrated that two enterotype-like gut microbial communities in Asians' gut. In developed countries, gut microbiota mostly belong to BB-type while two types are mixed in developing countries. In Thailand, children in Bangkok harbor either P- or BB-type while those in Khon Kaen mostly harbor P-type. It is also known that vegetarians in Bangkok mostly harbor P-type³⁾. In Leyte island in Philippines, gut microbiota of children differed into two types depending on dietary fat mainly included in Westernized foods. These results suggest that modernization of dietary habit is driving a shift from P-type to BB-type, as observed in the other comparative studies between Western and African gut microbiota^{4, 5)}. Taken together, it is suggested that gut microbiota of Asians are facing crisis at present and AMP is obliged to suggest a way to face the dietary modernization in terms of intestinal microbiology.

References

- 1) Nakayama J, *et al.* : Diversity in gut bacterial community of school-age

- children in Asia. *Sci Rep.*, 5, 8397 (2015).
- 2) Nakayama J, *et al.* : Impact of Westernized Diet on Gut Microbiota in Children on Leyte Island., *Front Microbiol.*, 8, 197 (2017).
 - 3) Ruengsomwong *et al.* : Microbial community of healthy Thai vegetarians and non-vegetarians, their core gut microbiota and pathogens risk., *J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 1723-1735 (2016).
 - 4) Filippo C. De, *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. USA*, 107, 14691-14696 (2010).
 - 5) Yatsunenko T. *et al.* : Human gut microbiome viewed across age and geography., *Nature* 486, 222-227 (2012).

非感染性におけるプロバイオティクスの効果

Erika Isolauri

トゥルク大学医学部 フィンランド

略歴：Isolauri 博士は、フィンランドのトゥルク大学の小児科教授であり、トゥルク大学病院の小児科および青年期医学科の医長ならびにトゥルク大学医学部臨床医学科の科長である。

これまでに、428の科学出版物、256の原著出版物、108のレビュー記事および書籍の章、64のフィンランド語による科学記事を発表している。加えて、国際学会において168回の招待講演を行っている。H指数は80（2017年5月）。

また、ヘルシンキ大学とタンペレ大学（フィンランド）、パリ第11大学（フランス）、カロリンスカ研究所（スウェーデン）およびヴァーヘニンゲン大学（オランダ）で24人の博士論文（PhD）を監督し、審査官を担当した。

受賞歴：

1986年：博士号取得（タンペレ大学）

1989年：ジョン・ハリス賞（欧州小児消化器病・栄養学会）

1992年：ニコ・ホールマン賞（小児研究財団）

1993年：カンディア協会（フランス）

1995年：タンペレ大学病院－食物アレルギーの臨床診断法の開発

1998年：マーヴィン・L・ディクソン記念講演（ハーバード大学共同プログラム－小児消化器栄養部、小児病院およびマサチューセッツ総合病院）

2000年：栄養の最新知見に関する国際賞（スイス中央栄養協会）

2000年：マーティン・ローゼンヘッド賞および受賞講演（アレルギー研究財団、英国王立医学学会）

2001年：ナンナ・シュヴァルツ記念講演（スウェーデン カロリンスカ病院）

2002年：ティシエ賞および受賞講演（日本ビフィズス菌センター）

2010年：IDF エリー・メチニコフ賞－栄養と健康分野（国際酪農連盟（IDF）、パスツール研究所、国際プロバイオティクス・プレバイオティクス科学協会）Seppo Salminen 教授と共同受賞

2016年：マッティ・エイレペーエ賞（フィンランド医学会 ドゥオデシウム）

主要な研究領域：消化器、食物アレルギー（栄養と免疫）

新生児期曝露、有害事象、粘膜免疫および腸内細菌叢（Neonatal exposures, Adverse outcomes, Mucosal immunology and Intestinal microbiota；NAMI）研究プログラムの代表を務めている。

要約：我々にとって最大の健康面の課題は、非感染性疾患（NCDs）*の増加を抑制することである。最近の疫学、実証および臨床研究は、出生初期の腸内細菌叢の組成とNCDsのリスクが関連していることを示している。腸内細菌叢の組成は、罹患した子供と健康な子供とで異なり、その差異は疾患の臨床的な兆候および症状に先行する可能性がある。実証研究および臨床研究に基づく最近の知見によれば、腸内細菌叢は体重およびエネルギー代謝の制御にも関与し、肥満の2つの主要な要因、すなわち、エネルギー獲得や貯蔵、ならびに肥満の特徴であるインスリン抵抗性と炎症状態に影響する。このため、特定のプロバイオティクスによる腸内細菌叢の改変は、NCDsのリスク低減に繋がる可能性がある。腸内のマイクロ生態系への影響以上に、プロバイオティクスの効果は、亢進した腸管透過性の正常化、腸管の免疫学的バリア機能の改善、腸管の炎症反応の緩和ならびに局所および全身の炎症に特徴的な炎症性サイトカインの生成量の低下に繋がると考えられる。乳児期初期に投与された特定のプロバイオティクスは、健康な免疫系の成熟に寄与し、アトピー高リスク乳児の湿疹およびアトピー性感受作のリスクを低下させる可能性がある。また、その効果は妊娠中に母親が摂取を開始した場合に最も高くなることを示唆するデータがある。さらに、長期間にわたる追跡調査の結果、周産期に*Lactobacillus rhamnosus*を摂取した母親から生まれた小児は、アレルギー罹患率が低下する傾向が示された。

母親による、妊娠第1期（妊娠1～3ヶ月）から完全母乳育児の終了期に渡るプロバイオティクス2菌株（*Lactobacillus rhamnosus*および*Bifidobacterium lactis*）の摂取は、産後12ヶ月までの母体の肥満リスクおよび妊娠糖尿病のリスクを顕著に低減させた。母体の肥満や耐糖能異常は、子供の過体重および肥満のリスク因子として知られており、この報告ののち、後の肥満につながる幼少期の急激な体重増加が周産期のプロバイオティクス介入により緩和されることが示された。

妊娠中、周産期および出生初期のプロバイオティクス介入の安全性は、母子ともに有害事象がなく妊娠期間も正常であること、出生前または後の子供の成長率に非介入群と顕著な差が無いことから保証されている。さらに、周産期のプロバイオティクスによる介入は十分に容認されており、腸内細菌叢の組成や量への長期的な影響は報告されていない。前向き臨床研究でも、長期間のフォローアップで周産期のプロバイオティクス介入は安全であることが証明された。

プロバイオティクスの各菌株は、他の菌株とは本質的に異なっており、例えば系統的に非常に類縁の菌株であっても同様の健康効果は期待できないことを認識する必要がある。このため、臨床研究ではプロバイオティクスを株レベルで特定すること、文書化された特性によって菌株を選択することが必要である。

※糖尿病、心疾患、脳卒中、がんおよび慢性呼吸器疾患といった、非感染性の慢性疾患のこと。

年間に世界で3,600万人（全死亡数の約6割）がNCDsによって死亡しているという報告書を2008年に世界保健機関（WHO）がまとめた。

参考文献

- 1) Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr* 2008 ; **88** : 894-9.
- 2) Kalliomäki M, Carmen Collado M, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr* 2008 ; **87** : 534-8.
- 3) Luoto R, Kalliomäki M, Laitinen K, Isolauri E. The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity : follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obesit* 2010 ; **34** : 1531-7.
- 4) Rautava S, Luoto R, Salminen S, Isolauri E. Perinatal microbial contact and the origins of human disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2012 ; **9** : 565-76.
- 5) Endo A, Pärtty A, Kalliomäki M, Isolauri E, Salminen S. Long-term monitoring of human intestinal microbiota from the 2nd week to 13 years of age. *Anaerobe* 2014 ; **28** : 149-56.
- 6) Lundelin K, Poussa T, Salminen S, Isolauri E. Long-term safety and efficacy of perinatal probiotic intervention : evidence from a follow-up study of four randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Pediatr Allerg Immunol* 2017 ; **28** : 170-75.

The Effect of Probiotics in Non-Communicable Diseases

Erika Isolauri

University of Turku and Turku University Hospital, Finland

Brief curriculum vitae : Dr Isolauri is Professor of Pediatrics at the University of Turku, and Chief Physician of Department of Pediatrics and Adolescent Medicine at Turku University Hospital and Head of the Department of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, University of Turku, Finland.

Author of 428 scientific publications, she has written 256 original publications, 108 Review articles/ Chapters in books and 64 Scientific articles in Finnish. In addition she has 168 Invited Lectures in International Academic Meetings. H-index 80 (May, 2017) .

She has supervised 24 doctoral theses (PhD) and acted as Opponent at the University of Helsinki and the University of Tampere, Finland ; Université Paris XI, France, Karolinska Institutet, Sweden and Wageningen University, The Netherlands.

Prizes awarded :

University of Tampere 1986 (the Doctoral Thesis)

John Harris price in 1989 (European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition)

Niilo Hallman price 1992 (Foundation for Paediatric Research)

Institut Candia 1993 (France)

Tampere University Hospital : Development of clinical diagnostics of food allergy, 1995
Marvin L. Dixon Memorial Lecture, Harvard Combined Program in Pediatric GI&Nutrition Unit, Children's Hospital, Massachusetts General Hospital, 1998

International Award for Modern Nutrition, Swiss Central Nutrition Association, 2000

Martin Rosenhead Lecture and Award 2000 (The Foundation of Allergy Research), Royal Society of Medicine, London, United Kingdom

Nanna Svartz Lecture 2001. November 22, 2001. Karolinska Hospital, Stockholm, Sweden

Tissier Price and Lecture 2002. The Japan Bifidus Foundation

The IDF Elie Metchnikoff Prize 2010, category Nutrition and Health (together with Professor Seppo Salminen) The International Dairy Federation (IDF), Institut Pasteur Paris and the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP)

Matti Äyräpää Award 2016. The Finnish Medical Society Duodecim

Research interests : Her Major Research Interests are : Gastroenterology, food allergy ; Nutrition and Immunology.

She is the leader of the Neonatal exposures, Adverse outcomes, Mucosal immunology and Intestinal microbiota (NAMI) research programme.

Abstract : The greatest health challenge of our time is reversing the increase of non-communicable diseases (NCDs) . Recent epidemiologic, experimental and clinical studies demonstrate that gut microbiota composition early in life is relevant to the risk of NCD. Gut microbiota composition can discriminate between affected and healthy children, and the distinction may precede clinical signs and symptoms of disease. Recent evidence from experimental and clinical studies indicates that the gut microbiota is also involved in the control of body weight and energy metabolism, affecting the two main causes of obesity : energy acquisition and storage, and contributing to insulin resistance and the inflammatory state characterizing obesity. Consequently, the modification of the gut microbiota by specific probiotics may provide an opportunity to reduce the risk of NCDs. Above the impact on gut microecology, probiotic effects have been attributed to restoration to normal of increased intestinal permeability, improvement of the intestine's immunological barrier functions, alleviation of the intestinal inflammatory response, and reduced generation of proinflammatory cytokines characteristic of local and systemic inflammation. There are data to suggest that specific probiotics administered in early infancy may enhance healthy immune maturation and reduce the risk of eczema and atopic sensitization in high-risk infants, and the intervention appears to be most effective if commenced already during pregnancy. Moreover, children receiving *Lactobacillus rhamnosus* perinatally tended to have decreased allergy prevalence in long-term follow-up.

Maternal supplementation with the combination of the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* from the first trimester of pregnancy to the end of exclusive breastfeeding resulted in a significant reduction of gestational diabetes mellitus as well as the risk of maternal central adiposity over the 12-month postpartum period. Maternal obesity and glucose intolerance are known risk factors for overweight and obesity in the offspring and, consistently, perinatal probiotic intervention was shown to moderate early excessive weight gain among children who later became overweight.

The safety of the probiotic approach during pregnancy, perinatal period and early infancy has been attested by normal duration of pregnancies with no adverse events in mothers or children, with no significant divergences in prenatal or postnatal growth rates. Furthermore, perinatal probiotic interven-

tion has been well tolerated and no interference with long-term composition or quantity of gut microbiota has been reported. In a prospective clinical study, the perinatal probiotic intervention proved safe in long-term follow-up.

It needs to be acknowledged that each probiotic strain is inherently different from others and similar health effects cannot therefore be expected even from closely related strains. Therefore, in clinical studies, it is mandatory to characterize each probiotic to strain level and to select strains with documented properties.

References

- 1) Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr* 2008 ; 88 : 894-9.
- 2) Kalliomäki M, Carmen Collado M, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr* 2008 ; 87 : 534-8.
- 3) Luoto R, Kalliomäki M, Laitinen K, Isolauri E. The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity : follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obesit* 2010 ; 34 : 1531-7.
- 4) Rautava S, Luoto R, Salminen S, Isolauri E. Perinatal microbial contact and the origins of human disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2012 ; 9 : 565-76.
- 5) Endo A, Pärtty A, Kalliomäki M, Isolauri E, Salminen S. Long-term monitoring of human intestinal microbiota from the 2nd week to 13 years of age. *Anaerobe* 2014 ; 28 : 149-56.
- 6) Lundelin K, Poussa T, Salminen S, Isolauri E. Long-term safety and efficacy of perinatal probiotic intervention : evidence from a follow-up study of four randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Pediatr Allerg Immunol* 2017 ; 28 : 170-75.