

腸管各部位の“生きた”腸内細菌叢構成および 回腸末端部でのプロバイオティクスの動態

小穴 康介

株式会社ヤクルト本社中央研究所

略歴

出生地・年：1988年 東京都生まれ

最終学歴：2016年 東京大学大学院 総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系 博士課程修了

主な職歴：2013年 日本学術振興会 特別研究員 (DC1)

2016年 株式会社ヤクルト本社中央研究所

主な研究テーマ：

プロバイオティクスや腸内細菌が宿主細胞に与える影響

要約

ヤクルト本社中央研究所は2014年から弘前大学大学院医学研究科 消化器血液免疫内科学講座と共に内視鏡技術を用いた腸内細菌叢研究を実施している。本講演では、これまでに我々が明らかにした大腸各部位の“生きた”腸内細菌叢の空間的分布および飲用したプロバイオティクスの回腸末端部での動態について紹介する。

1. 大腸各部位の“生きた”腸内細菌叢の空間的分布

ヒトの大腸では、右側と左側で血管支配や神経分布、生理機能が異なるため、腸内細菌叢およびそれらが産生する代謝産物組成が異なることが予測される。代謝産物生成能は“生きた”細菌群が保有する特性であると考えられるが、大腸各部位での“生きた”腸内細菌叢の動態に関する知見は乏しい。本研究では、健常成人の上行結腸・下行結腸・直腸より内視鏡的に腸管内容物および粘膜擦過物を採取し、生菌と死菌を区別しない従来のメタ16S腸内細菌叢解析に加えて、細胞膜透過性を示すPMA (Propidium monoazide)を用いた生菌特異的なメタ16S腸内細菌叢解析を実施した。腸管内容物を用いた腸内細菌叢解析の結果、生菌と死菌を含めた解析では腸管の部位間差が認められなかったが、生菌のみで解析した場合、上行結腸から下部に移行するにしたがい *Lachnospiraceae* の割合が減少していた。粘膜関連細菌叢を反映していると考えられる粘膜擦過物を用いた解析では、他の部位に比べて直腸における *Enterobacteriaceae* の占有が高く、特に生菌のみの解析で顕著だった。腸内細菌による胆汁酸代謝について解析した結果、一次胆汁酸の脱抱合化はすべての被験者で上行結腸にてほぼ完了しており、大腸の下部に至るほど二次胆汁酸の割合が高くなっていた。二次胆汁酸への変換を担う7 α 脱水酸化酵素の遺伝子クラスターを有する腸内細菌が生菌特異的な腸内細菌叢解析にて検出された試料では、検出されなかった試料と比較して二次胆汁酸の割合が有意に高かった。このように代謝産物情報を反映する“生きた”腸内細菌叢を解析することは、腸内細菌叢とヒトの健康あるいは病態との関係を理解する上で有益であることが示唆された。

2. プロバイオティクスの回腸末端部での動態

プロバイオティクスの腸管内での動態を理解することは、腸内細菌叢および宿主への生理的影響を解明する上で重要である。これまで、糞便を用いて様々な知見が蓄積されてきたが、消化管内での動態には未だ不明な点が多い。特に、プロバイオティクスが小腸の腸内細菌叢に与える影響や小腸通過時の生残性などを検証した例は少ない。本研究では、内視鏡的逆行性腸管挿入法（Endoscopic Retrograde Bowel Insertion method: ERBI法）を用いて、バルーン付き二重管チューブを回腸末端部へ留置後、プロバイオティクス製品を飲用後の回腸液を持続的に採取し、その動態を解析した。プロバイオティクス製品には、ラクチカゼイバチルス パラカゼイ シロタ株（LcS*）またはビフィドバクテリウム ブレーベ ヤクルト株（BbrY）を含む発酵乳を使用した。その結果、摂取した LcS および BbrY は飲用後約 2 時間で回腸末端部へ到達し、数時間にわたり細菌叢の 90% 以上を占有することが判明した。さらに、回腸末端部に到達した菌体のうち、およそ 10 億個はコロニー形成能を有していることが分かった。本研究により、プロバイオティクスの一部は生きてまま回腸末端まで到達し、宿主細胞を継続的に刺激する可能性が示された。

* 旧名称：ラクトバチルス カゼイ シロタ株

参考文献

1. Chinda D, Takada T, Mikami T, Shimizu K, Oana K, Arai T, Akitaya K, Sakuraba H, Katto M, Nagara Y, Makino H, Fujii D, Oishi K, Fukuda S. 2022. Spatial distribution of live gut microbiota and bile acid metabolism in various parts of human large intestine. *Sci Rep* 12:3593.
2. Takada T, Chinda D, Mikami T, Shimizu K, Oana K, Hayamizu S, Miyazawa K, Arai T, Katto M, Nagara Y, Makino H, Kushiro A, Oishi K, Fukuda S. 2020. Dynamic analysis of human small intestinal microbiota after an ingestion of fermented milk by small-intestinal fluid perfusion using an endoscopic retrograde bowel insertion technique. *Gut Microbes* 11:1662-1676.

Spatial distribution of “live” gut microbiota and the dynamics of probiotics at the terminal ileum

Kosuke Oana
Yakult Central Institute

Brief curriculum vitae

Birthplace and Year:

Born in 1988, Tokyo, Japan

Education:

Ph.D. in Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, 2016

Professional Experience:

2013-2016: Research Fellowship for Young Scientists (DC1), Japan Society for the Promotion of Science

2016-present: Researcher, Yakult Central Institute, Yakult Honsha Co., Ltd

Research Focus:

Impact of probiotics and gut microbiota on host cells

Abstract

Since 2014, Yakult Central Institute, in collaboration with Hirosaki University, Graduate School of Medicine, Department of Gastroenterology, Hematology and Clinical Immunology, has been engaged in the study of gut microbiota using endoscopic methods. In this presentation, we will discuss our findings on the spatial distribution of “live” gut microbiota in different regions of the colon, as well as the dynamics of probiotics in the terminal ileum.

1. Spatial distribution of “live” gut microbiota in various parts of human large intestine

Considering that the right and left sides of the human large intestine exhibit differences in vascular regulation, neural distribution, and physiological function, it is expected that the gut microbiota and their metabolite composition will also differ. Although metabolites are produced by “live” bacteria, there is limited information on the “live” gut microbiota in each region of the colon. In this study, intestinal contents and mucosal swabs were collected endoscopically from the ascending colon, descending colon, and rectum of healthy adults. In addition to conventional meta-16S gut microbiota analysis, which does not differentiate between live and dead bacteria, a cell membrane-permeable agent, propidium monoazide (PMA), was used for live bacteria-specific meta-16S gut microbiota analysis. The results of gut microbiota analysis using luminal contents, including live and dead bacteria, showed no significant

differences between sites in the colon. However, when focusing on live bacteria, the percentage of *Lachnospiraceae* decreased from the ascending colon toward the rectum. In the mucosal swab analysis, reflecting mucosa-associated microbiota composition, the percentage of *Enterobacteriaceae* was higher in the rectum than in other sites, which was particularly among in the live bacteria. Analysis of bile acid metabolism by gut bacteria showed that deconjugation of primary bile acids was almost completed in the ascending colon in all subjects. The conversion rate to secondary bile acids increased toward the lower colon. The percentage of secondary bile acids was significantly higher in samples where the live-specific gut microbiota analysis detected bacteria carrying the gene cluster for 7 α -dehydroxylase, responsible for converting secondary bile acids. Thus, the “live” gut microbiota is associated with metabolites, suggesting its potential utility in understanding the relationship between the gut microbiota and human health or disease states.

2. The dynamics of probiotics at the terminal ileum

Understanding the dynamics of probiotics in the gastrointestinal tract is crucial for elucidating their physiological effects on the gut microbiota and the host. Despite various findings from previous studies using fecal samples, many aspects of probiotic dynamics in the gastrointestinal tract remain unknown. In particular, the impacts of probiotics on the gut microbiota in the small intestine and their viability during passage through this region have not been fully investigated. In this study, the Endoscopic Retrograde Bowel Insertion (ERBI) method was used to evaluate the dynamics of probiotics in the terminal ileum by implanting a double-walled tube with a balloon into the terminal ileum and continuously collecting ileal fluid after the ingestion of probiotic products. Fermented milk containing *Lactocaseibacillus paracasei* strain Shirota (LcS*) or *Bifidobacterium breve* strain Yakult (BbrY) was used as the probiotic product. The results showed that the ingested LcS and BbrY reached the terminal ileum approximately two hours after ingestion and constituted more than 90% of the bacterial flora for several hours. In addition, of the bacteria that reached the terminal ileum, approximately one billion were found to be capable of colony formation. This study suggests that certain probiotics can reach the terminal ileum alive and continuously stimulate host cells.

* Formerly *Lactobacillus casei* strain Shirota

References

1. Chinda D, Takada T, Mikami T, Shimizu K, Oana K, Arai T, Akitaya K, Sakuraba H, Katto M, Nagara Y, Makino H, Fujii D, Oishi K, Fukuda S. 2022. Spatial distribution of live gut microbiota and bile acid metabolism in various parts of human large intestine. *Sci Rep* 12:3593.
2. Takada T, Chinda D, Mikami T, Shimizu K, Oana K, Hayamizu S, Miyazawa K, Arai T, Katto

M, Nagara Y, Makino H, Kushiro A, Oishi K, Fukuda S. 2020. Dynamic analysis of human small intestinal microbiota after an ingestion of fermented milk by small-intestinal fluid perfusion using an endoscopic retrograde bowel insertion technique. *Gut Microbes* 11:1662-1676.