

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	総合医療・健康科学領域 スポーツ健康科学教育研究分野 氏名 甲斐 知彦
(論文題目) 弘前市の一般住民における加齢が腸内常在菌に及ぼす影響 Effects of gut microbiota on the advance in aging in the residents, Hirosaki.	
(内容の要旨) 【背景・目的】 近年、Clostridium の増加が大腸がんのリスクとなり、また Bifidobacterium の増加が慢性炎症を亢進させるなど、腸内細菌と健康の関連が明らかになってきている。しかし、腸内常在菌の構成およびその総量は加齢により変化する可能性が推測されており、腸内常在菌の加齢変化の早期解明が求められている。 腸内常在菌の加齢変化を正確にとらえるためには、腸内常在菌全体の構成比の評価が必要と考えられる。しかし、これまでの測定法ではそれを評価できなかった。なぜなら、これまで用いられてきた培養法では、腸内細菌のうち 60% から 80% が培養できなかったからである。 しかし、2001 年になって、腸内常在菌の評価に分子生物学的手法の一つである T-RFLP 法が導入され、これと 16SrDNA クローンライブラリー法を組み合わせた Nagashima 法により、未知の微生物を含めた菌群の科～属レベルで腸内常在菌全体の構成比が短時間多検体で評価できるようになった。 本研究では、30 歳以上の一般住民 933 名を対象に年齢と腸内常在菌の関係を疫学的に調査・検討した。腸内常在菌の評価は、Nagashima 法を用いて、腸内常在菌全体に対する各菌の割合を測定した。上記解析の際、肥満、喫煙習慣、飲酒習慣、運動習慣で調整を行った。 【対象及び方法】 1. 検査対象とする被験者 対象は、2006 年度の岩木健康増進プロジェクト、プロジェクト健診に参加した 30 歳以上の被験者 933 名のうち、調査項目に欠損項目があるもの及び下剤の使用者、既往歴に消化器悪性疾患のある被験者を除いた 798 名(30-82 歳、男性 292 名、女性 506 名)であった。 2. 腸内細菌解析 回収した便検体を T-RFLP 解析(Nagashima 法)で分析した。この方法では腸内細菌の各菌種を OTU(Operational Taxonomic Units)で表現する。OTU は解析において切断された細菌の DNA 断片の断片長が近似した集団である。この OUT を用いて、腸内細菌の各系統分類群の相対比を表すことができる。本研究では、得られた各 OTU に所属すると推定される菌によって解析を行った。	

### 3. 統計解析

解析は、対象を男女別に分け、各菌の比率と年齢の相関関係を重回帰分析により評価した。さらに、年齢により対象を 30 歳から 10 歳ごとに 5 群に分けて、年齢群ごとの菌の比率を共分散分析法により比較した。共分散分析後の多重比較には、ボンフェローニ法を用いた。

さらに、上記解析で、年齢と有意な関連を認めた菌群においては、各菌群間の相関関係をピアソンの相関係数により検定後、菌群の各種組み合わせによる年齢の予測式（回帰モデル）を検討した。

#### 【結果・考察】

重回帰分析の結果、男女とも加齢に伴い、Clostridium および Bifidobacterium については減少傾向が、Lactobacillales および Prevotella については増加傾向が有意に認められた。さらに、本研究では 10 歳刻みの年代間で各菌群の存在比率を比較し、その詳細な関係を調査した。

男女とも、Lactobacillales の比率は 50 歳代から 60 歳代に移行する時期に増加する傾向がみられた。Clostridium の比率もまた男女とも 50 歳代から 60 歳代に移行する時期に低下する傾向がみられた。一方、Bifidobacterium の比率は 60 歳以降に、女性でのみ有意な低下がみられた。また、Prevotella の比率は 50 歳代から 70 歳代に移行する時期に、女性でのみ増加する傾向がみられた。すなわち、加齢に伴う腸内常在菌の変化は男女ともに 60 歳前後で生じやすいと考えられた。腸内常在菌は長期間の食生活などの生活習慣で形成されと考えられる。したがって、腸内常在菌の加齢変化に伴う疾病予防のためには、この時期に向けた若い時期からの生活習慣の管理が重要であると推測された。

また、我々は腸内常在菌から年齢を推定する回帰式を策定するために年齢を目的変数とし、多重共線性を引き起こす可能性が低かった Lactobacillales と Prevotella、Lactobacillales と Bifidobacterium の組み合わせを説明変数とする重回帰分析を行った。しかし、この回帰式の精度は高いとはいえず、腸内常在菌を属のレベルより下の種のレベルまで解析していくことが必要であると考えられた。

以上の結果より、腸内常在菌は加齢変化を示し、とくに 60 歳付近での変化が著しいことが明らかになった。