

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 社会医療総合医学教育研究分野 氏名 棟方 理
<p>(論文題目)</p> <p>弘前市の一般住民における腸内細菌の種多様性と加齢との関係</p>	
<p>Effects of advancing age on the species-diversity of gut microbiota in the residents of Hirosaki city</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>【背景・目的】</p> <p>近年、分子遺伝学的解析法の進歩により腸内細菌叢の網羅的解析が可能となり、様々な疾患において腸内細菌叢の異常が、その発症に関与している可能性が報告されている。疾患との関連に関する研究が進む一方で、腸内細菌叢が健康維持、疾患の発症予防および治療において重要な役割を果たす可能性も合わせて指摘されている。</p> <p>16S リボソーム RNA (16S rRNA) を標的とした解析法により、成人ヒト消化管には約 1000 種類、10^{14} 個に及ぶ腸内細菌が存在することが示されている。その菌種構成は個人ごとに異なり、安定しているが、一方で変化しうることも明らかにされている。すなわち、ヒトにより腸内保有菌種の構成は様々であり、さらに保有菌種の共通性も高くない可能性が考えられている。しかし、現時点で健常成人における腸内細菌叢の正常構成および腸内細菌種の保有状況の詳細は明らかにされていない。</p> <p>今回我々は、青森県弘前市の一般住民を対象として、次世代シーケンサーを用いた腸内細菌叢の網羅的解析により、健常人における共通した腸内細菌群を同定し、加齢と腸内細菌叢の関係を男女別に調査し、腸年齢モデル作成を目的とする検討を行った。</p> <p>【対象および方法】</p> <p>2015 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一般住民 1113 名のうち、調査項目に欠損項目がある者、下剤・抗生剤の内服している者および既往に消化器悪性疾患・がん・脳血管障害・心疾患のある被験者、腸内細菌叢測定を実施出来なかった 47 名を除いた 950 名 (男性 386 名、女性 564 名) を対象とした。</p> <p>腸内細菌の解析は、回収した便検体より核酸を抽出し、16S rDNA における V3-V4 領域をターゲットとしたユニバーサルプライマーを用いて PCR 増幅し作成した DNA ライブラリーを、次世代シーケンサーを用いてシーケンスし、得られたリードを参照配列にマッピングし菌種を同定する解析法を用いた。塩基配列の識別は、97 % 以上の相対率が得られたものの中で最上位の菌種を近縁種として推定し、本研究では細菌属 (genus) レベルでの解析を行った。個々の細菌属が一人の対象者の腸管内で占める割合を“占有率”、全対象者 950 名の中で当該細菌属を保有している対象者の割合を“保有率”と定義した。保有率・占有率は、シーケンスで得られたリード数から算出した。保有率 90% 以上の細菌属を“共通細菌”と定義し解析を行った。</p> <p>統計解析は、男女別に行い、同定された各共通細菌属の占有率と年齢の相関関係を重回帰分析により評価した。重回帰分析において年齢と有意な相関関係を認めた共通細菌</p>	

属の占有率を用いて、共通細菌属の組み合わせより年齢を推定する重回帰モデルを作成した。

【結果】

共通細菌は、男女ともに同じ 13 属が同定された。本研究で同定可能な全 420 属中、男性 291 属 (69.3%)、女性 288 属 (68.6%) が、対象者の 5%未満でのみ検出された。男女ともに保有率が高い腸内細菌で占有率も高い傾向を認めた。男女ともに共通細菌 13 属中 8 属の占有率において、年齢と有意な相関関係が認められた。男性においては、年齢が高いほど *Roseburia* および *Streptococcus* の占有率が高く ($p < 0.01$)、*Anaerostipes*、*Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Blautia*、*Fusicatenibacter*、*Parabacteroides* の占有率が低かった ($p < 0.01$)。一方、女性においては、年齢が高いほど *Roseburia*、*Ruminococcus*、*Streptococcus* の占有率が高く ($p < 0.05$)、*Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Blautia*、*Fusicatenibacter*、*Parabacteroides* の占有率が低かった ($p < 0.05$)。

【考察】

健常成人における腸内細菌叢に関する研究の成果が、国際共同プロジェクトも含めて複数報告されているが、いずれも小規模な研究である。本研究は、次世代シーケンサーを用いた腸内細菌の網羅的解析により、健常成人の腸内細菌叢の細菌構成を明らかにした初めての大規模研究である。

本研究で定義した共通細菌は、男女ともに 13 属のみ同定され、全対象者が保有する腸内細菌は、*Bacteroides*、*Blautia* の 2 属のみであった。さらに、男女ともに約 7 割の腸内細菌属は、対象者の 5%未満のみで検出された。すなわち、腸内細菌叢の構成菌は個人により異なり、共通する腸内細菌は極めて少なく、種多様性が極めて高いと考えられた。

一方、今回同定された共通細菌は、腸内細菌叢における占有率が高い傾向であることも合わせて示めされた。さらに、共通細菌 13 属全体で、男女ともに腸内細菌叢において約 6 割を占めていた。すなわち、本研究で同定された腸内細菌属は、共通細菌であると同時に腸内細菌叢の主要構成菌群であることが推測された。同定された共通細菌 13 属の中で男女ともに 8 属において、年齢変化に応じて有意に占有率の変化が認められ、7 属は男女共通であった。本研究の結果からは、年齢に応じて共通細菌の占有率は変化しうるようになったが、共通細菌自体に男女差はなく、加齢に伴う変化に関しても男女差は限定的であると考えられた。

この大規模研究から得られた成果は、健常日本人における腸内細菌叢の種多様性を示す信頼性の高い基礎的なデータとなり得ると考えられた。