●Analyses of Intestinal Bacterial Metabolites and the Lifespan Extension Induced by the Probiotic Modulation of Bacterial Metabolite

腸内常在菌の代謝産物の解析とプロバイオティクスを用いた腸管内代謝産物コントロールによる寿命伸長効果

協同乳業㈱ 研究所技術開発グループ 主任研究員 **松本 光晴**

はじめに

ヒト大腸内に棲息する腸内常在菌は1,000種類以上、糞便1gあたり約10^{12}個存在し、宿主の健康に強く関与していると考えられている。腸内常在菌と健康の関連性を調べるにあたり、長年、菌種構成を調べるアプローチが盛んに行われて来た。特に、1990年代後半より盛んに実施されている16S rRNA遺伝子を用いた系統分類学的解析は腸内常在菌の構造的複雑性（大部分を占める難培養性細菌の存在と個体差の大きさ）を明らかにし、それまで一般的であった“善玉菌”vs.“悪玉菌”、“腸内菌叢の改善=*Bifidobacterium*の増加”という図式を描くことさえ困難にした。さらに近年、次世代型シーケンサーが導入され、それによる16S rRNA遺伝子解析の結果は、これまで優勢菌の存在で検出できなかったマイナー菌種の存在を明らかにしたが、腸内常在菌の構造的複雑性をさらに深堀した形で再確認させられているのが現状である。

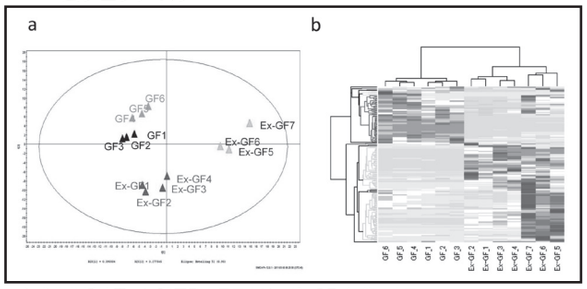
一方、腸管内には腸内常在菌の産生する代謝産物も存在し、その重要性は多くの研究者が認識しているものの殆ど研究されていない。腸上皮細胞上には粘液層があり、これが腸内常在菌や未消化食餌成分の生体内への侵入を防いでいることを考慮すれば、粘液層を通過し腸上皮細胞へ直接作用する、あるいは吸収され血流に乗って全身へ運ばれる可能性がある低分子の代謝産物は、生体への影響も大きいと考えられる。本稿では、できるだけ多くの代謝産物を一斉に調べるために、腸内常在菌の全代謝産物（メタボローム）の網羅的解析（メタボロミクス）を実施した結果と、腸内常在菌が産生する生理活性物質ポリアミンに着目し得られた保健効果について寿命伸長効果を中心に紹介する。

腸内常在菌の代謝産物の解析[1)]

腸内常在菌の代謝産物の検出たのための分析機器類の選択は重要である。筆者らは、できるだけ多くの代謝産物を一斉に分析するため、キャピラリー電気泳動（CE）と飛行時間型質量分析装置（TOFMS）を組み合わせたメタボローム解析を実施した。CE-TOFMSは、腸管内に多量に存在すると考えられた水溶性・イオン性の高い代謝分子の測定において高い分離能と定量性を持ち、これら分子の測定に比較的相性の悪いLC-MSやGC-MSより適しており、また、NMRと比べるとより高感度な測定が可能である。

同腹の無菌（GE：germ-free）マウスと生後4週目に人為的に菌叢を定着させた（Ex-GF）マウスを比較することで腸内常在菌の代謝産物を広範囲に調べた。それぞれの群で2匹の母胎から得られた雄個体（6～7匹）を無菌環境下で飼育し、7週目に開腹して得られた大腸内容物を試料として用いた。その結果、大腸内容物抽出液から179個の候補化合物をもつピークを検出した。この中には、アミノ酸、有機酸、核酸、短鎖脂肪酸、糖誘導体、ペプチドなど多様な代謝産物が含まれており、一般的なマウス及び微生物の代謝経路上にはないものも含まれていた。大腸内容物抽出液における代謝プロファイルを比較すると（**図1**）、GF群とEx-GF群で大きく異なるパターンであることが確認された。GF群での検出量が多かった（GF＞Ex-GF）46成分は、腸内常在菌が吸収・消費する、あるいは腸内常在菌の作用で生体への吸収が促進されるものであり、この中には一部のアミノ酸とペプチドが多く含まれていた。反対にEx-GF群での検出量が多かった（GF＜Ex-GF）77成分は、腸内常在菌により産生されている可能性が高い成分であり、従来から腸内常在菌により産生されることが知られている短鎖脂肪酸の他にアミン類が含まれていた。これらはヒトの体内でも重要な役割を担うことが知られており、例えばGABAは神経伝達物質として知られている（ポリアミンの機能は後述する）。興味深いことに、これらアミン類の前駆体の多くはGF群とEx-GF群で差は認められず、腸内常在の脱炭酸作用により産生されていることが判明した（**図2**）。残り56成分はグループ間での差が認められず、腸内常在菌があまり関与せず飼料由来のものと考えられる。これらの成分にはアミノ酸の多くが含まれ、アミノ酸と腸内常在菌の関連性は再考すべきかもしれない。また、この解析にて結腸内での存在が初めて確認された成分が多量に存在

図1 無菌マウスと通常菌叢定着マウスの大腸内容物メタボロームプロファイル



a.主成分分析結果 b.階層型クラスタリング，GF：無菌マウス
ExGF：通常菌叢定着マウス