

## 総説（教授就任記念講演）

### ヒトの健康保持における腸内菌の役割

片岡佳子

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部微生物・遺伝子解析学分野

（平成26年11月5日受付）（平成26年11月10日受理）

#### 1. はじめに

ヒトは無菌の状態で生まれてくるが、生後すぐに母親や環境に由来するさまざまな微生物が体の各所に住み着き始める。常在微生物の定着が宿主にもたらす影響は、無菌動物に特定の腸内菌のみを定着させた場合に起こる宿主側の変化を調べることによって、腸管の組織の形態形成から、代謝能力の刺激、粘膜面の粘液成分やIgAの産生などの防御機構にまで関わっていることが明らかにされている<sup>1)</sup>。特に常在菌の量が多い腸管では腸内菌の定着の影響は大きく、ヒトの健康に及ぼす影響が注目されている。出生後すぐに定着するのは産道内や周辺環境中の大腸菌や腸球菌などであるが、哺乳期間中は *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* が優勢菌となる。離乳期を経て大人と同じ食生活をするようになると、大人と同様にヒト細胞の総数を超える多種多様な細菌が常在菌叢を形成する。これらの菌叢を構成する菌の多くは培養困難な菌種だが、近年の解析技術の進歩により、腸内菌叢を構成している菌種の解析が容易になり、菌叢の相違や腸内菌の持つ機能の変化がヒトの健康や疾患感受性に深く関わっていることが次第に明らかにされてきている。ここでは、動物モデルおよびヒト臨床研究で、食品成分が腸内菌叢に及ぼす影響を調べてきた研究結果を菌叢解析の手法とあわせて紹介し、ヒトの健康保持における腸内菌の役割について概説し、今後の研究の展望について述べたい。

#### 2. 腸内菌の解析方法

これまでに解析に利用した方法の手順は以下のとおり

である。

##### （1）培養法

光岡の方法<sup>2)</sup>に従って、BL寒天、EG寒天に各種の選択培地（Rogosa SL agar, Bacteroides 培地, DHL寒天, KF streptococcal agar など）を組み合わせる便サンプルの希釈液を塗布、嫌気または好気培養後の集落の形状やグラム染色性、生化学性状などを照合して菌属または菌種を決め、集落数からその腸内菌の生菌数/gサンプルを求めた。サンプル採取後すぐに培養を行う必要があり、集落の形状等の観察には熟練が必要で、使用する培地の組成や培養条件の影響による誤差も入りやすい。しかしながら、選択培地を用いることで腸管内に少数しか存在しない菌の存在量を測定することができる。また、重要な働きをしている可能性のある菌種の機能を明らかにする目的でノトバイオト等を作製したい場合には分離培養する必要がある。分離培養が困難な非常に酸素感受性の *Clostridium* 属菌の選択の場合、クロロホルム処理による他の菌種の除去など<sup>3)</sup>を行う。

##### （2）培養によらない方法

私たちは主に Terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) 法<sup>4)</sup>と菌種特異的リアルタイムPCRによって菌叢の解析を行ってきた。用いたプライマーは表1のとおりである<sup>4-9)</sup>。便からのDNA抽出は森田らの方法<sup>10)</sup>に従った。便（約50mg）を10mM Tris-HCl-50mM EDTA (pH8.0) で洗浄し、PCR反応を阻害する胆汁酸や食物由来成分などを除く。洗浄後の便はペレットの状態でも凍凍保存可能である。便をアクロモペプチダーゼおよびリゾチーム、プロテイナーゼで処理後SDSを加えて完全に溶菌させ、フェノール法によってDNAを抽出する。溶菌処理の前後にグラム染色を行っ

表1 T-RFLP 法およびリアルタイム PCR 法に用いたプライマー

解析方法/対象菌	プライマー名	塩基配列	参考文献
T-RFLP	27F-FAM 1492R	6FAM-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG GGTTACCTTGTTACGACTT	4
Bifidobacteria	Bif164F Bif662R	CATCCGGCATTACCACCC CCACCGTTACACCGGGAA	5
Sulfate reducing bacteria	Des-f Des-r	CCGTAGATATCTGGAGGAACATCAG ACATCTAGCATCCATCGTTTACAGC	6
Enterococci	Enc-F Enc-R	CCCTTATTGTTAGTTGCCATCATT ACTCGTTGTA CTCCATTGT	7
<i>Clostridium</i> subcluster I	CI-F1 CI-R2	TACCHRAGGAGGAAGCCAC GTTCTTCTAATCTCTACGCAT	8
<i>Clostridium</i> subcluster XI	CXI-F1 CXI-R2	ACGCTACTTGAGGAGGA GAGCCGTAGCCTTTCCT	
<i>Clostridium</i> subcluster XIVab	CXIV-F1 CXIV-R2	GAWGAAGTATYTCGGTATGT CTACGCWCCCTTTACAC	
<i>Clostridium</i> common probe	Clostridium probe	6FAM-GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG-TAMRA	
Bacteroides	AllBac296F AllBac412R AllBac375Probe	GAGAGGAAGGTCCCCAC CGTACTTGGCTGGTTCAG 6FAM-CCATTGACCAATATTCCTCACTGCTGCCT-TAMRA	9

て、サンプル中の腸内菌が完全に溶菌していることを毎回確認している。

T-RFLP 法の手順は図1のとおりである。便から抽出した DNA 中の細菌由来16S rRNA 遺伝子をユニバーサルプライマー (5'-FAM 蛍光標識入り27F プライマーおよび1492R プライマー) を用いて PCR 増幅する。約 1500bp の増幅産物を 1 箇所 で切断する制限酵素 *Hha* I

または *Msp* I で処理する。菌種により 16S rDNA の塩基配列が異なるため、5' FAM 標識された切断 DNA 断片の長さは菌種によってさまざまである。この DNA 断片を Genetic analyzer にかき、DNA 断片の長さ とピーク の大きさの多型を比較することによって、菌叢の経時的な変化や個体間での相違を解析する。サンプルの冷凍保存が可能であるので、多数のサンプルの解析を同時に行

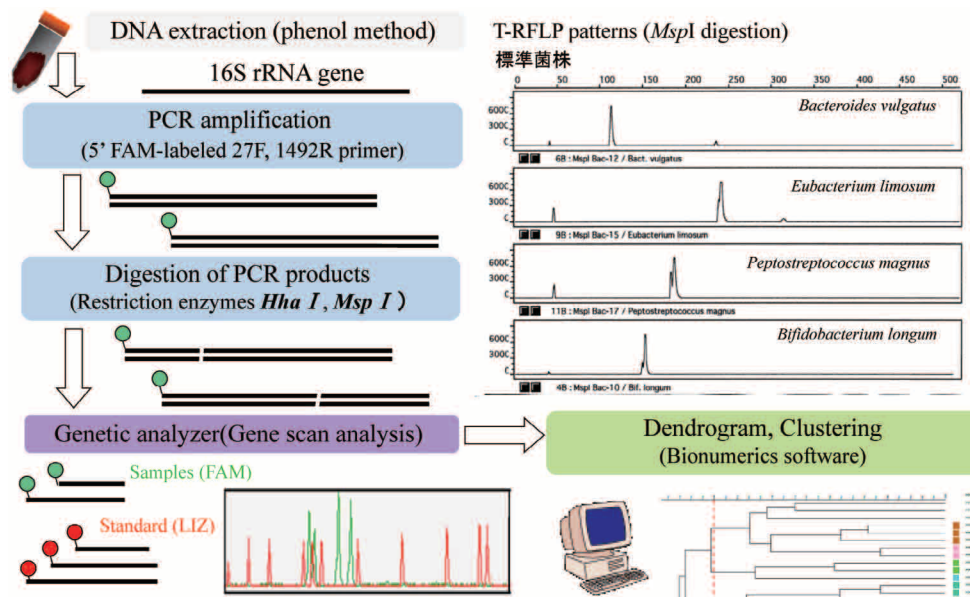


図1 Terminal-RFLP 法による腸内菌叢の解析の概略

うことが可能であり、菌叢のパターンをクラスタリングして個体ごとの食事の内容や疾病の有無その他のさまざまな情報との関連を探索することも可能である。個々の T-RF ピークの由来菌種についてはこの方法では決定できないが、断片サイズから菌種を予測することができ、その菌種に特異的なプライマーを用いたリアルタイム PCR と組み合わせることにより定量できる。菌叢全体の比較およびクラスタリングを行った後に、クラスター間で相違がみられる T-RF のサイズから予測される菌種について、リアルタイム PCR を行う。遺伝子のコピー数まで算出する場合には、各種腸内菌の標準菌株から 16 S rDNA をクローニングしたプラスミドを標準物質として用いた<sup>11,12)</sup>。

(3) 腸内菌による代謝産物の分析

難消化性食物繊維や腸管粘膜由来の粘液成分の代謝は下部腸管の腸内菌の機能として重要である。主に発酵によって代謝され、酢酸、プロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸が生成する。これらは、吸収されて大腸粘膜のエネルギーとなり、また粘膜上皮細胞の増殖・分化を刺激し、ムチンの産生を促進して粘膜表面の物理的防御を強化することが知られている。私たちは、サンプル中のこれら短鎖脂肪酸をガスクロマトグラフにより定量した。糞便中から滅菌水で抽出し、酸性条件下でエーテル抽出したもの（揮発性短鎖脂肪酸）をガスクロマトグラフに注入し、濃度既知の標準液を同様に処理したものをを用いて、サンプル中の脂肪酸量を算出した。残った水層中の

非揮発性有機酸（乳酸、コハク酸など）はメチルエステル化後にクロロホルムで抽出し、ガスクロマトグラフで分析した。

3. ラットの腸内菌叢に対する食品成分の影響

食物繊維を豊富に含む発酵食品（FBRA）の摂取が腸内菌叢に及ぼす影響を培養法および T-RFLP 法により検討した。培養法では extremely-oxygen sensitive *Clostridium* などは分離できなかったが、培養可能な菌種のうち *Lactobacillus* 属が試験食品 FBRA の10%混餌投与によって有意に増加していた。T-RFLP 法による16S rDNA由来のフラグメントの出現パターンをその類似性によってクラスターに分けてみると、図2に示すように菌叢に大きな影響を与えていることがわかった<sup>13)</sup>。図2(a)中に矢印で示した T-RF ピークはその比率が10%FBRA 投与によって有意に増加していた。このピークはその断片サイズから *Lactobacillus acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. intestinalis* と予測された。試験に用いた FBRA にも *Lactobacillus* が含まれていたため、ラットの便から分離した *Lactobacillus* 属と食品から分離した *Lactobacillus* 属を randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) 解析により鑑別した。10塩基のランダムプライマーによる PCR 反応を行った後の増幅産物の電気泳動パターンは食品由来菌とラット便由来菌とは異なっていた。したがって、発酵食品 FBRA がもともとラット腸内に常

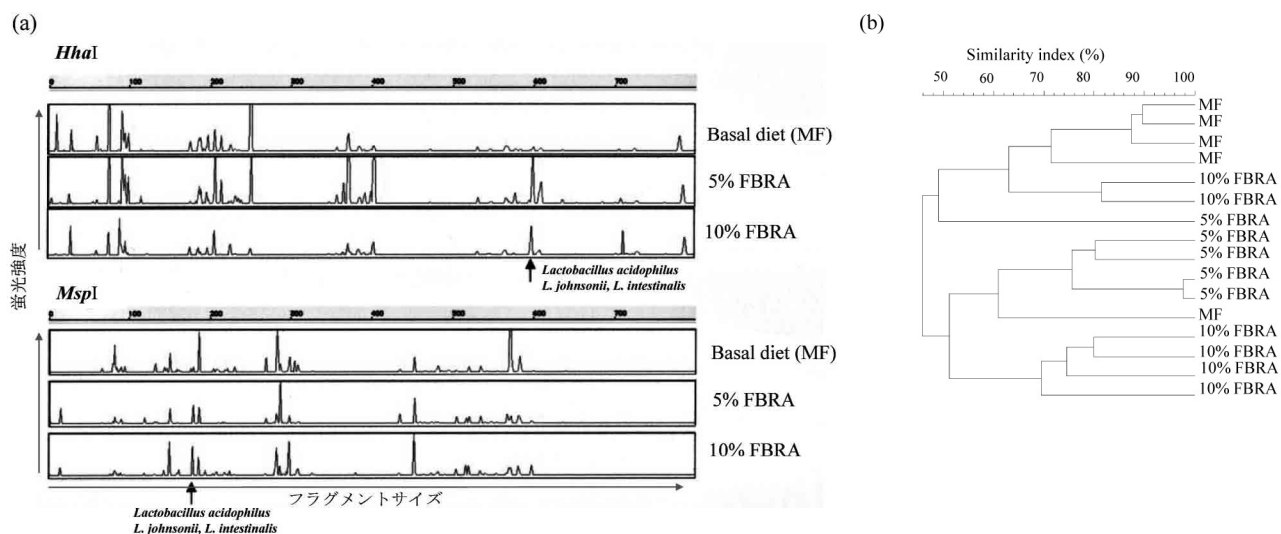


図2 Terminal-RFLP 法によるラット腸内菌叢の解析(a)とクラスタリング (b)

在していた *Lactobacillus* 属菌を増加させたものと考えられる。

ラットにデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) の 5% 水溶液を自由摂取させると組織学的にヒトの潰瘍性大腸炎と類似した大腸炎が起こる。このモデルに上記の発酵食品をあらかじめ 5, 10% 混餌投与しておく、DSS 投与による *Lactobacillus* 数の減少が抑制され、大腸炎による潰瘍部分の面積および好中球の浸潤レベルが有意に減少した<sup>14)</sup>。FBRA は *Lactobacillus* が炭素源として利用可能な  $\beta$ -glucan や arabinoxylan を大量に含んでいるため *Lactobacillus* 菌数の減少を抑制できたものと思われる。そのことがどのように大腸炎の抑制に結びつくのか詳細は明らかにできていないが、*Lactobacillus* 属の菌株の中には過剰な免疫を抑制する作用を持つ制御性 T 細胞を誘導するものや腸管上皮細胞のバリア機能を強固にする作用を持つものがある<sup>15, 16)</sup>。また、*Lactobacillus* 属によって産生される乳酸は腸内菌叢構成菌の間で Metabolic cross feeding によって酪酸などの有機酸へ変換される<sup>17)</sup>が、酪酸は抗炎症作用を持つことが知られている<sup>18)</sup>。

#### 4. ヒト腸内菌叢に対する食品成分の影響に関する臨床研究

ラットを用いた研究で、被験食品が腸内菌叢中の乳酸桿菌を増加させること<sup>13)</sup>、またヒトの潰瘍性大腸炎と病理組織像が類似している DSS 誘導性大腸炎に対して抑制効果があった<sup>14)</sup>ことから、ヒトでの有用性の有無を評価するため、上記の発酵食品が健康成人 (便秘のあるヒトを含めて) の腸内環境に及ぼす影響、および潰瘍性大腸炎患者の症状の抑制や寛解の維持などの効果の有無を評価する臨床研究を行った。徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会により承認を受けたのちに被験者を募り、試験の詳細を説明して文書による同意を取得した。

「玄米酵素の摂取がヒト腸内フローラに与える影響」では、被験者は研究計画書のプロトコールに従って無作為に 2 群に割付けられ、試験食品またはコントロール食品を 2 週間摂取し、12 週間の休食期間をおいた後にコントロール食または試験食を 2 週間摂取した。この 2 週間の前後に計 4 回自然排便を被験者自身に採取してもらい、すぐに嫌気状態を保てる専用袋 (酸素を除去するため

の試薬入り) に密封して冷蔵保存状態で提出してもらった。試験期間中の食生活の内容については食物摂取頻度調査票を用いて調査し、試験食摂取前後で大きな変動がないことを確認した。便の性状や便通の頻度についてはアンケート調査を行った。22~67 歳の被験者 36 名について、試験前半のデータをもとに発酵食品の摂取が便通の回数や便性状に及ぼす影響を比較した。試験前の食物繊維の摂取量には差はなかったが、発酵食品の摂取 (食物繊維量にして 5.06g/日、コントロール食では 0.42g/日) による有意な影響は見られなかった。腸内菌叢を T-RFLP 法で調べた結果でも、試験食摂取の前後で菌叢の大きな変化があったのは少数の被験者のみであった。しかしながら、便と上記発酵食品を *in vitro* で混合保温すると有機酸の産生が増加し、T-RFLP 解析では個人差はあるが *Clostridium* subcluster XIVab や *Bifidobacterium* などの菌種の増加がみられた<sup>11)</sup>。健康成人では容易に摂取可能な量の試験食を摂取した場合に菌叢の変動は少なく、個人間の差を超えるような大きな変化が起こったのは一部のヒトだけであり、成人の腸内菌叢は非常に安定であることが示唆された。

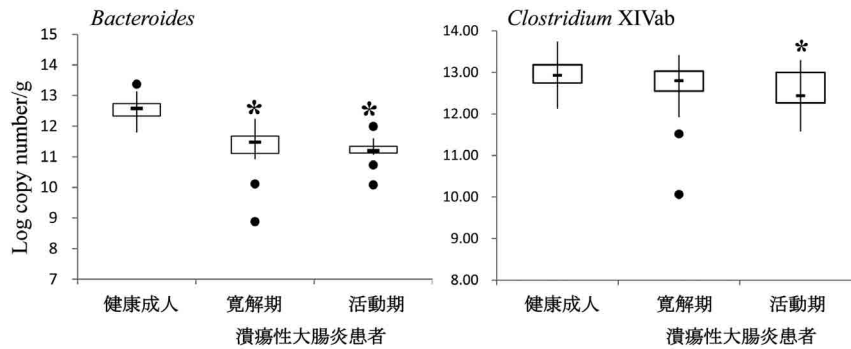
「潰瘍性大腸炎患者における FBRA の有効性評価のための臨床研究」では京都府立医科大学の共同研究者が被験患者の募集、同意取得、潰瘍性大腸炎の診察、内視鏡検査等を担当し、他大学所属の統計の専門家がデータ管理および倫理モニタリングを担当、徳島大学では便の解析に同意した被験患者 48 名から送られた便を用いて腸内菌叢の解析と腸内菌由来の代謝産物の分析を行った。今回の摂取量の発酵食品を 3 ヶ月継続したことによる炎症症状の抑制傾向はみられたが、効果には個人差があった。現在服用期間を長期にした試験で引き続き効果の検討が行われている。

#### 5. 健康成人と潰瘍性大腸炎患者の腸内菌叢比較解析

健康成人と潰瘍性大腸炎患者における発酵食品の影響を評価する試験は並行して行ったので、試験開始前の腸内菌叢を健康成人と潰瘍性大腸炎患者 (UC) の間で比較解析した<sup>12)</sup>。UC 患者の便の T-RFLP のパターンでは主要な T-RF ピークの大きさが減少する傾向がみられた (図 3)。寛解期の UC 患者ではピーク数は平均 41.0 (interquartile range (IQR) : 35.5-49.0) であり、健康



(a) リアルタイムPCR法による腸内菌の定量



(b) 便中の総有機酸濃度

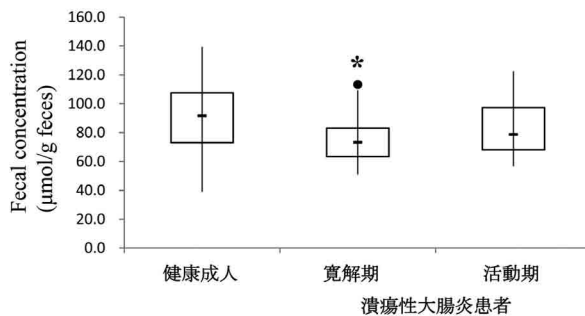


図5 潰瘍性大腸炎患者における優勢菌の減少と有機酸濃度の変化。(a) *Bacteroides* および *Clostridium* subcluster XIVab 特異的リアルタイム PCR による定量値。(b) 便中の総有機酸濃度の比較。箱ひげ図中の\*は Man-whitney U-test による健康成人との比較で  $p < 0.05$  を示す。

は、腸粘膜表面への病原菌の接着を競合的に阻害し、また腸管上皮細胞におけるムチン、抗菌ペプチド、分泌型 IgA の産生を促進している<sup>1, 25, 26</sup>。さらに、ヒトが上部消化管で消化できなかった難消化性の食物繊維や腸管粘膜成分を分解し、発酵により代謝して酢酸、プロピオン酸、酪酸、乳酸などの有機酸を合成している<sup>17-20</sup>。これらの有機酸は大腸上皮細胞に吸収されてエネルギー源として利用され、上皮細胞の増殖や分化を促し、ムチンや抗菌物質の産生を促すなどバリア機能を高めている<sup>18</sup>。腸内優勢菌のうち *Bacteroides* やプロバイオティクスとして利用される *Bifidobacterium* など数種類の腸内菌については、定着によって腸管上皮における抗菌物質や細胞間接着分子の産生を促進して腸管バリアを強化する作用と炎症性シグナルの伝達の修飾や制御性 T リンパ球の誘導による炎症抑制作用が報告されている<sup>16</sup>。もうひとつのヒトにおける優勢菌である *Clostridium* についても、過剰な免疫応答を抑制する制御性 T 細胞の誘導に関係すること、そこには有機酸（酪酸など）が関係して

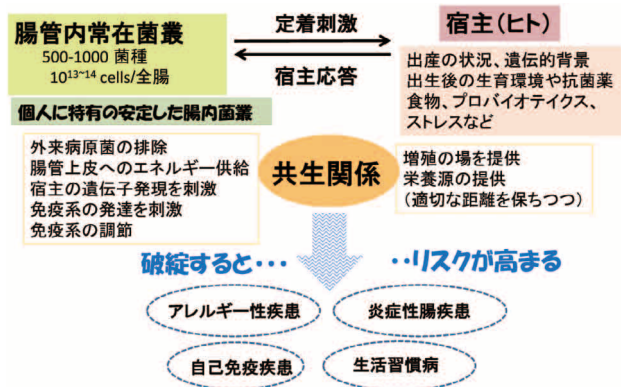


図6 腸内菌とヒトの健康

いることが最近報告された<sup>27, 28</sup>。常在菌とヒトは定着による刺激とそれに対する応答を行いながら絶妙なバランスを保って共生関係を結んでいる (図6)。宿主であるヒトは定着の場と栄養源を提供し、常在菌は外来病原菌の侵入を退けつつ、ヒトの防御機構の発達を刺激し、免疫系の調整にも関わっている。ヒトとの間に絶妙な距離



をとることによって共生関係を結んでいるのである。この絶妙な距離を保てなくなってしまう場合（物理的・化学的バリア機能が破綻した場合）に侵入してきた常在菌に対して免疫細胞が過剰に応答してしまい、慢性的に炎症が継続する。

慢性炎症性疾患の発症要因となる遺伝的要因として、クローン病ではNOD2, ATG16L1, TLR5などがあげられている<sup>29,31)</sup>。NOD2は細胞内において細菌のセンサーとして働く分子、TLR5は細菌の鞭毛タンパクを認識して抗菌物質や自然免疫を誘導する分子である。ATG16L1は細胞内に侵入した細菌の分解や抗菌物質の貯蔵に関わる顆粒形成の遺伝子である。これらの分子の異常または機能不全があると腸管の防御機能が低下して腸内菌とヒト細胞との間に適切な距離を保つことができなくなり、腸内菌に対する免疫応答が起これ腸炎を発症する。潰瘍性大腸炎では粘液を産生する杯細胞の消失が起こっているが、疾患感受性に関わる遺伝子はまだはっきりと特定はされていない。遺伝的要因による防御バリアの脆弱さに加えて、過労、ストレス、感染症などにより防御機構が破たんしてしまった時に腸内菌を標的とした免疫応答が引き起こされ、常在菌の減少によりさらに免疫調整機構や腸管粘膜の修復能が低下し、炎症が持続すると考えられている。そこで腸内菌を移植する治療法が提案され、治療効果が上がったという事例も報告されている<sup>32)</sup>。

## 7. おわりに

この数十年で食事内容を含めて生活スタイルが大きく変化したが、ほぼ平行して炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、アレルギー疾患、糖尿病や動脈硬化などの生活習慣病が増加している。これらの疾患の発症リスクに腸内菌叢の変化が影響していることが明らかになりつつある。腸内菌叢の構成は、母親から受け継ぐ菌種に加えて、出生以降の生育環境、食事、運動、ストレス、抗菌薬の使用、プロバイオティクスの摂取、加齢などさまざまな要因により影響を受ける<sup>33)</sup>。腸内菌叢は、離乳期から大人と同様の食事を取るようになる時期に大きく変化するが、その時期の生活環境や食事、抗菌薬治療などは、その後の腸内環境に大きな影響を与え、腸管免疫系のバランスにも影響し、さまざまな疾患に対する感受性に影響を及ぼすと考えられている<sup>34-36)</sup>。次世代シーケンサーを利用

した解析手法が実用化され、複雑な腸内菌叢をより短い時間で解析することが可能になってきている。16S rRNA遺伝子を対象にして菌種の構成を比較する場合には疾患とは関連のない個人ごとの菌種の多様性が見られるが、メタゲノム解析法により細菌叢の持つ遺伝子をランダムにシーケンスして遺伝子の機能についての情報を比較すると疾患に特異的な遺伝子機能の相違を知ることができる<sup>37)</sup>。生後のどの時期にどのような腸内菌叢を持っていることが重要なのか、それは疾患によって違うのだろうか、遺伝学的な発症素因を持つヒトはプロバイオティクスやプレバイオティクスを利用して腸内環境を良好にすれば発症を抑制できるのだろうか、大規模なメタゲノム解析によってヒトの腸内菌叢と疾患との関係が次第に明らかになってきており、今後急速に研究は進展していくと予想される。

## 文 献

- 1) Smith, K., McCoy, K. D., Macpherson, A. J.: Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota. *Semin. Immunol.*, 19 : 59-69, 2007
- 2) Mitsuoka, T., Segi, T., Yamamoto, S.: Improved methodology of qualitative and quantitative analysis of the intestinal flora of man and animals. *Zentralbl. Bakteriolog. Orig.*, 195 : 455-69, 1965
- 3) Momose, Y., Maruyama, A., Iwasaki, T., Itoh, K.: 16S rRNA gene sequence-based analysis of clostridia related to conversion of germfree mice to the normal state. *J. Appl. Microbiol.*, 107 : 2088-2097, 2009
- 4) Sakamoto, M., Hayashi, H., Benno, Y.: Terminal-restriction fragment length polymorphism analysis for human fecal microbiota and its application for analysis of complex bifidobacterial communities. *Microbiol. Immunol.*, 47 : 133-142, 2003
- 5) Matsuki, T., Watanabe, K., Fujimoto, J., *et al.*: Development of 16S rRNA-gene-targeted group-specific primers for the detection and identification of predominant bacteria in human feces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68 : 5445-5451, 2002
- 6) Fite, A., Macfarlane, G. T., Cummings, J. H., *et al.*:

- Identification and quantification of mucosal and faecal desulfovibrios using real time polymerase chain reaction. *Gut*, **53** : 523-529, 2004
- 7) Rinttila, T., Kassinen, A., Malinen, E., *et al.* : Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR. *J. Appl. Microbiol.*, **97** : 1166-1177, 2004
- 8) Song, Y., Liu, C., Finegold, S. M. : Real-time PCR quantification of clostridia in feces of autistic children. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70** : 6459-6465, 2004
- 9) Layton, A., McKay, L., Williams, D., *et al.* : Development of *Bacteroides* 16S rRNA gene TaqMan-based real-time PCR assays for estimation of total, human, and bovine fecal pollution in water. *Appl. Environ. Microbiol.*, **72** : 4214-4224, 2006
- 10) Morita, H., Kuwahara, T., Ohshima, K., *et al.* : An improved DNA isolation method for metagenomic analysis of the microbial flora of the human intestine. *Microb. Environ.*, **22** : 214-222, 2007
- 11) Nemoto, H., Ikata, K., Arimochi, H., Iwasaki, T., *et al.* : Effects of fermented brown rice on the intestinal environments in healthy adult. *J. Med. Invest.*, **58** : 235-245, 2011
- 12) Nemoto, H., Kataoka, K., Ishikawa, H., Ikata, K., *et al.* : Reduced diversity and imbalance of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Dig. Dis. Sci.*, **57** : 2955-2964, 2012
- 13) Kataoka, K., Kibe, R., Kuwahara, T., *et al.* : Modifying effects of fermented brown rice on fecal microbiota in rats. *Anaerobe*, **13** : 220-227, 2007
- 14) Kataoka, K., Ogasa, S., Kuwahara, T., Hagiwara, M., *et al.* : Inhibitory effects of fermented brown rice on induction of acute colitis by dextran sulfate sodium in rats. *Dig. Dis. Sci.*, **53** : 1601-1608, 2008
- 15) Folineg, B., Zoumpopoulou, G., Dewulf, J., *et al.* : A key role of dendritic cells in probiotic functionality. *PLoS One*, **2** : e313, 2007
- 16) Round, J. L., O'Connell, R. M., Mazmanian, S. K. : Co-ordination of tolerogenic immune responses by the commensal microbiota. *J. Autoimmun.*, **34** : J220-J225, 2010
- 17) Duncam, S. H., Louis, P., Flint, H. J. : Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70** : 5810-5817, 2004
- 18) Neish, A. S. : Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterol.*, **136** : 64-80, 2009
- 19) Duncan, S. H., Holtrop, G., Lobley, G. E., Calder, A. G., *et al.* : Contribution of acetate to butyrate formation by human faecal bacteria. *Br. J. Nutr.*, **91** : 915-923, 2004
- 20) Falony, G., Vlachou, A., Verbrugghe, K., Vuyst, L. D. : Cross-feeding between *Bifidobacterium longum* BB 536 and acetate-converting, butyrate-producing colon bacteria during growth on oligofructose. *Appl. Environ. Microbiol.*, **72** : 7835-7841, 2006
- 21) Ando, A., Sakata, S., Koizumi, Y., *et al.* : Terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the diversity of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Inflamm. Bowel Dis.*, **13** : 955-962, 2007
- 22) Nishikawa, J., Kudo, T., Sakata, S., *et al.* : Diversity of mucosa-associated microbiota in active and inactive ulcerative colitis. *Scand. J. Gastroenterol.*, **44** : 180-186, 2009
- 23) Manichanh, C., Rigottier-Gois, L., Bonnaud, E., *et al.* : Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut*, **55** : 205-211, 2006
- 24) Martinez, C., Antolin, M., Santos, J., *et al.* : Unstable composition of the fecal microbiota in ulcerative colitis during clinical remission. *Am. J. Gastroenterol.*, **103** : 643-648, 2008
- 25) Sartor, R. B. : Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol.*, **134** : 577-594, 2008
- 26) Cerf-Bensussan, N., Gaboriau-Routhiau, V. : The immune system and the gut microbiota : friends or foes? *Nat. Rev. Immunol.*, **10** : 735-744, 2010
- 27) Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., *et al.* : Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*, **331** : 337-341, 2011



- 28) Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T. A., *et al.* : Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*, **504** : 446-450, 2013
- 29) Sträber, W., Watanabe, T. : NOD2, an intracellular innate immune sensor involved in host defense and Crohn's disease. *Mucosal Immunol.*, **4** : 484-495, 2011
- 30) Fritz, T., Niederreiter, L., Adolph, T., *et al.* : Crohn's disease : NOD2, autophagy and ER stress coverage. *Gut*, **60** : 1580-1588, 2011
- 31) Sheridan, J., Mack, D. R., Amre, D. K., Israel, D. M., *et al.* : A non-synonymous coding variant (L616F) in the *TLR5* gene is potentially associated with Crohn's disease and influences responses to bacterial flagellin. *PLoS One*, **8** : e61326, 2013
- 32) Borody, T. J., Waren, E. F., Leis, S., *et al.* : Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J. Clin. Gastroenterol.*, **37** : 42-47, 2003
- 33) Collado, M. C., Cernada, M., Bauerl, C., Vento, M., *et al.* : Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. *Gut Microbes*, **3** : 352-365, 2012
- 34) Kibe, R., Sakamoto, M., Hayashi, H., Yokota, H., *et al.* : Maturation of the murine cecal microbiota as revealed by terminal restriction fragment length polymorphism and 16SrRNA gene clone libraries. *FEMS Microbiol. Lett.*, **235** : 139-146, 2004
- 35) Kelly, D., King, T., Aminov, R. : Importance of microbial colonization of the gut in early life to the development of immunity. *Mutation Res.*, **622** : 58-69, 2007
- 36) Mulder, I. E., Schmidt, B., Stokes, C. R., Lewis, M., *et al.* : Environmentally-acquired bacteria influence microbial diversity and natural innate immune responses at gut surfaces. *BMC Biology*, **7** : 79, 2009
- 37) 服部正平 : メタゲノムによる腸内フローラ解析. 遺伝, **68** : 322-327, 2014

## *Intestinal microbiota and its role in human health*

*Keiko Kataoka*

*Department of Microbiology and genetic analysis, Institute of Health Biosciences, the University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan*

### SUMMARY

The healthy gut environment is complicated and controlled by the balance of intestinal immune system, intestinal microbiota, and microbial metabolites produced by intestinal bacteria. Imbalance of these elements in genetically susceptible persons has been known to promote inflammatory bowel disease and some lifestyle-related illnesses. Manipulation of intestinal microbiota with prebiotics, which can selectively stimulate a growth of beneficial bacteria, might contribute to keep healthy condition and to improve patient's condition. I present some results of prebiotic effects in animal model and placebo-controlled, crossover study in healthy adults and patients with ulcerative colitis (UC). Through the clinical study, we found that UC patients had differences in microbiota composition and microbial metabolites. Decrease of Dominant anaerobic bacteria *Bacteroides* and diversity of microbiota composition was observed in UC. Amount of organic acids produced by bacterial fermentation reflectively decreased. Update on correlation of intestinal bacteria with human health and disease are reviewed.

Key words : intestinal microbiota, ulcerative colitis, prebiotics, *Bacteroides*, organic acid