

O-13

代替医療の新たな評価系：腸内細菌叢の動態とそのゲノミクス解析

A New Evaluation System for Complementary and Alternative Medicine :
Intestinal Bacteria Flora and Its Genomics Studies

○中村 伸^{1),2)}、光永 総子^{1,2)}

1) NPO 法人プライメイト・アゴラ バイオメディカル研究所、2) 株式会社アイテックラボ

The intestinal microflora play important roles not only in host bio-systems including intestinal function, but also in the metabolism of functional foods and drugs. Recently, real time PCR methods using specific primers for certain bacterial species/groups was developed, and this genomic method had advantage to monitor the microflora in time, quantitation and reliability to those of classical bacteriologic method.

In current study we examined the genomic microflora analysis to evaluate action and/or safety of functional foods and drugs, inulin containing material (Kikuimo powder) and traditional Kanpo (Tokishakuyakusan), in macaque monkeys.

Eleven bacterial species/groups with beneficial, opportunistic, and harmful bacteria were analyzed by real time PCR method using Takara SYBR Premix with ABI7700. This study gave a useful results to evaluate functional food and/or traditional medicine for alternative and complemental medicine

【目的】

最近、腸内細菌が腸管機能、糖・脂質代謝および免疫などと深く関わっていることが明らかにされ、腸内細菌叢の変動と宿主の健康-疾病バランスが注目されている。経口摂取した機能性食品や漢方薬など代替医療素材が、特定細菌の増減あるいは腸内細菌叢全体に影響する事が報告されている。一方、代替医療素材の多くが腸内細菌によって代謝され、高活性型や不活性体に変換されることも知られている。

これまで腸内細菌の同定・定量は、嫌気的条件や時間を要す培養法で実施されて来たが、近年、主要な腸内細菌種/グループに特異的な DNA 配列をプライマーとして増幅する、リアルタイム PCR 法の解析法が所用時間、設備および定量性の点で注目されている。

今回は機能性食品（キクイモ：イヌリン含有食品）および漢方薬（当帰芍薬散）の新たな評価系として腸内細菌叢への影響に着目し、これら代替医療素材を経口投与したサルモデルにおける腸内細菌叢の動態について細菌 DNA を指標にゲノミクス解析した。

【方法】

イヌリン含有食品あるいは当帰芍薬散を経口投与（イヌリン食品：12 週間、当帰芍薬散：8 週間）したマカクザルについて経時的に糞便採取し、Qiagen Stool キットを用いて DNA を抽出した。対象とした細菌の 16SrRNA 遺伝子の種/グループ特異的な DNA 配列を参考に、各細菌特異的なプライマーを設計し、有用菌・日和見菌・有害菌 11 種の DNA 量に基づく相対菌体数を、Takara SYBR Premix を用い ABI7700 装置でのリアルタイム PCR 法で個別定量解析した。

【結果および考察】

糞便中の細菌 DNA は排泄後、24 時間室温に放置しても新鮮便と同様に定量できた。また、細菌 DNA の量は結腸（大腸）と糞便とでは殆ど変わらなかった。従って、腸内細菌叢の動態解析が排便後の糞便サンプルで充分可能であることが示された。

イヌリン食品投与では、4 頭中 4 頭に有用菌の *Lactobacilli* ならびに日和見菌の *Veillonella* の増大が認められ、イヌリン食品による腸内環境改善作用が腸内細菌レベルで検証された。

一方、当帰芍薬散では 5 頭中 2 頭で有用菌の *Ruminococcus* および日和見菌の *Veillonella* の増大が見られた。他方、有害菌については *Clostridium* は 3 頭で減少したが *Disulfovibrio* は 2 頭で増加が見られ、漢方薬については腸内細菌叢への影響に個体差が大きい可能性が示唆された。

今回の結果から、腸内細菌叢動態のゲノミクス解析が機能食品や漢方等代替医療素材の新たな評価系として有用であることが明らかにされた。