

氏名	松岡 翼
博士の専攻分野の名称	博士（生命医科学）
学位記番号	医工農博甲 第101号
学位授与年月日	令和4年3月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
専攻名	統合応用生命科学専攻
学位論文題名	Relationships between barley consumption and gut microbiome characteristics in a healthy Japanese population: a cross-sectional study (健康な日本人集団における大麦摂取と腸内細菌叢の関係：横断調査)
論文審査委員	委員長 准教授 石原 裕 委員 教授 井上 克枝 委員 准教授 北間 敏弘

学位論文内容の要旨

【研究の目的】

腸内細菌叢は宿主の健康に重要な役割を果たしており、食生活の影響を受けて変化することが報告されている。特に食物繊維は小腸で吸収されにくく、消化されずに大腸で腸内細菌のエサとなる為、影響が大きい。

大麦は水溶性食物繊維であるβ-グルカンを含む穀物である。大麦は食後高血糖やコレステロール値の改善など、メタボリックシンドロームの予防効果が報告されている。近年は、*Blautia*や*Prevotella*などの腸内細菌の影響を受けてコレステロールや血糖値が低下することが示唆されており、大麦の健康機能と腸内細菌に関連が有ることが示唆されている。

大麦と腸内細菌の関係はいくつかの研究報告があるものの、日本人での報告は少ない。日本人は*Blautia*や*Bifidobacterium*などの腸内細菌が多く、海藻を食べるなど、特徴的な食生活があることから、本研究では日本人における大麦と腸内細菌の関連を調べた。

【方法】

大麦を加工する食品メーカーに勤務する従業員を対象とした横断調査を実施した。参加者には質問票の回答、健康診断結果のコピーの提出、および糞便の提出をお願いした。

食事調査は自記式質問票BDHQ（ジェンダーメディカルリサーチ社）を用いた。大麦摂取量は別途質問票を作成し算出した。腸内細菌の測定は、16S rRNAアンプリコンシーケンス法で測定し、SILVA v128データベースを用いて相対存在量を算出した。

統計解析は、健康な参加者（*n* 96）を対象に、大麦の摂取量を中央値で分け、高大麦群と低大麦群の群間で相対存在比上位50属の腸内細菌を比較した。また、有意差を示した腸内細菌について、全参加者（*N*236）を対象に重回帰分析で年齢、性別、疾病および食生活で調整した大麦との関連を調べた。

また、全ての腸内細菌の相対存在比を用いて、腸内細菌叢のタイプを可視化する主座標分析と大麦との関連を可視化するネットワーク解析を行った。

【結果】

主座標分析の結果、参加者の腸内細菌叢のタイプは*Bacteroides*、*Prevotella*、*Blautia*の3つのタイプに分けられた。高大麦群と低大麦群に腸内細菌叢のタイプに有意な差は無かった。

健常者を対象とした群間比較の結果、高大麦群では*Bifidobacterium*、*Collinsella*、*Butyricoccus*、*Dialister*、および*Ruminococcus 2*などの腸内細菌に増加傾向が認められたが、多重性の調整を行うと有意ではなかった。一方で多様性指数は差が認められなかった。

群間比較により選ばれた5つの腸内細菌と大麦との関連を、各腸内細菌をアウトカムとし、独立変数に大麦摂取群、年齢、性別、疾病を加えて重回帰分析を行った（モデル1）。さらに、モデル1に穀類、砂糖類、豆類、嗜好飲料を加えた解析も行った（モデル2）。モデル2では大麦群間で摂取量が異なった食事分類群を調整変数として選択した。この結果、モデル1では*Bifidobacterium*と*Butyricoccus*に、モデル2では*Bifidobacterium*に大麦との有意な関連が認められた。

ネットワーク解析の結果、*Bifidobacterium*、*Butyricoccus*、および*Ruminococcus 2*は大麦と直接関連が有り、同じグループに属していたが、*Dialister*および*Collinsella*は異なるグループに分類されたため、大麦との関連は弱いと考えられた。

【考察】

今回の結果から*Bifidobacterium*および*Butyricoccus*が日本人における大麦に関連する腸内細菌の具体的な候補として考えられた。しかし、多様性指数では変化が見られなかったことから大麦が腸内細菌叢に与える影響は限定的なものと考えられた。また、これまで報告されていた*Prevotella*や*Blautia*との関連は認められなかった。

*Bifidobacterium*および*Butyricoccus*はどちらも食物繊維を分解し、短鎖脂肪酸を産生する腸内細菌であり、短鎖脂肪酸は腸内細菌が産生する最も主要な機能性物質であることから宿主にとって有用な腸内細菌と考えられる。*Bifidobacterium*はライ麦やその他の食物繊維によって増加することが報告されており、日本人の特徴的な腸内細菌でもある。*Butyricoccus*は動物試験で大麦との関連が報告されていた。また、*Butyricoccus*は食物繊維摂取量が多い地中海食との関連も報告されている。しかし、本研究ではモデル2で効果が認められなかったことから他の食事要因による交絡が否定できなかった。

本研究にはいくつかの限界が考えられる。第一に研究の参加者は大麦を加工している企業の従業員を対象としているため、一般集団よりも大麦を多く摂取している可能性が高い。また、会社に良く見られるために摂取量を多く申告している可能性が有る。良い食習慣同士は互いに相関が高いことから、他の食習慣が影響し大麦の効果が過大評価されている可能性がある。本研究では腸内細菌の代謝産物や遺伝子の機能まで調べていない為、結果の考察は限定的である。

【結論】

大麦は日本人の腸内細菌叢を変化させる可能性が示唆された。大麦と関連が有る腸内細菌の候補として*Bifidobacterium*および*Butyricoccus*が示唆された。

論文審査結果の要旨

1. 学位論文研究テーマの学術的意義

腸内細菌叢が宿主動物の健康に影響していることは以前から知られていたが、NGS の使用により腸内の膨大な種類の細菌の解析が可能になり、また、得られたデータは独特の方法で解析されるようになった。本研究はこれらの最新の技術を駆使し、腸内細菌という食物や生活習慣に影響を受けやすく、したがって、地域や民族によって特異的でありうる事象を、日本人を対象とし、また、大麦摂取量との関連に注目して研究を行い、大麦摂取が腸内細菌の *Bifidobacterium* と *Butyricoccus* と関連することを示した。研究は良くデザインされ、本研究のデータは申請者の結論を支持している。また、今後腸内細菌叢への介入による疾患の予防や治療方法の開発につながる研究と評価できる。

2. 学位論文及び研究の争点、問題点、疑問点、新しい視点等

食物繊維摂取の糖やコレステロール代謝に対する影響はその物理的要因によるものか、腸内細菌叢の変化を介するものなのか、今回大麦摂取により増加が示された *Bifidobacterium* と *Butyricoccus* が宿主に対してどのような機序をもって作用するのか、そもそも食物繊維は由来する食物の種類により種類が異なるのか、作用の違いはどうして起きるのか、などが争点・問題点となった。

また、先行研究と異なり今回は *Blautia* との関連が見いだされなかった理由、既に有用な腸内細菌の多い日本人で大麦摂取でさらにそれを増やす意義等にも議論が及んだ。

また、今回対象者が摂取している大麦の量は平均的な日本人と比べてどのような位置にあるのか、しばしば感染症の原因となる腸内細菌である大腸菌やクレブシエラは腸内細菌の中でどのような位置づけになるのか、民族による腸内細菌叢の違いはどの程度のものなのか、Enterotype の決定やその主座標分析の手順と意義はどのようなものなのかが議論された。

3. 実験及びデータの信頼性

研究はプロトコールに忠実に従って行われ、データ解析も適切であり、結果の信頼性は高い。

4. 学位論文の改善点

本研究は通常の大麦摂取量よりかなり高いレベルでの結果であり、結果の解釈には注意が必要である。また、横断的研究なので大麦摂取と腸内細菌叢との関連を因果関係と即断はできない。今後予定されている縦断的研究と合わせて解釈されるべきである。

以上の議論を通じて、学位論文として十分な水準にあると審査委員一同が一致して判断した。