

総説

## 腸内常在菌研究の「過去・現在・未来」 ～研究成果を国民の健康管理・疾病予防に向けて～

辨野義己

一般財団法人辨野腸内フローラ研究所

### 【要約】

ヒト腸内常在菌と生活特性（年齢、性別、BMI、食生活、運動習慣など）との関係が解明され、データベース化が試みられている。また、腸内常在菌の腸内・脳内代謝物へ及ぼす影響について網羅的な解析が行われ、腸内常在菌の宿主への役割が見えてきた。21世紀は腸内常在菌の構造と機能が全面的に解明され、それを人類は自らの健康管理・疾病予防に応用しえる時代となるであろう。

**キーワード：**難培養腸内菌、培養を介さない解析、腸内代謝物、腸脳相関

**理化学研究所で始まった本格的な腸内常在菌研究：**ヒト腸内常在菌研究のスタートした1960年代、理化学研究所主任研究員であった光岡知足博士が独学で考案した非選択・選択培地（10種類）や生育に高い嫌気環境を要求する腸内常在菌を網羅的に培養可能した”プレートインボトル法”を開発し、培養による検索法（光岡の法）が確立した [1]。本法を用いることにより腸内常在菌と宿主の関係解明が飛躍的に進展した。

1980年代になると、新規な腸内常在菌種同定システムを独自に考案・開発し、腸内常在菌を菌群（属）レベルから菌種レベルでの検索が展開した。腸内常在菌は1000種類以上とも言われ、この腸内常在菌の姿を探る研究の取り組みをたどってみる。腸内常在菌の分類と生態に関する研究によって、その検索・分離・培養を可能にし、腸内嫌気性菌の分類・同定も精力的に実施してきた。その内容は腸内常在菌の大部分が偏性嫌気性菌であることが明らかにし、ヒト腸内に常在する培養可能な細菌種は約400種近いことを明らかにしたのである。1980年代筆者らが健康な日本人成人30例の大便から分

離・菌種同定された腸内常在菌の構成は、高菌数・高頻度で出現する菌種として、*Bacteroides (B.) vulgatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. uniformis*, *Parabacteroides distasonis*, *Fecalibacterium (Fb.) prausnitzii*, *Fusobacterium russii*, *Prevotella (Pr.) buccae*, *Pr. oris* が出現し、次いで、*Bifidobacterium (Bif.) adolescentis*, *Bif. longum* および *Collinsella aero-faciens* などが挙げられる。また、低頻度であるが、高菌数で検出される菌種も数多く常在している。このように、菌種レベルでの解析結果、それまでの菌群レベルでしか解明しえなかった腸内常在菌の生体がより詳細に把握されるようになった [2]。

**培養を介さない手法による腸内常在菌解析の進展：**1990年代以降、16S rRNA 遺伝子の塩基配列を基にした菌種レベルでの系統分類法が確立し、様々な細菌種の遺伝子配列データが蓄積され、だれもが容易に微生物研究に用いることが可能となっている。そして、それらを用いて培養を介さない手法による腸内常在菌の多様性解析が競いあうように進展されてきたのである。そこで、我々のグループはどのような腸内常在菌が培養可能で、培養困難かを検索することにより、より正確な腸内常在菌の生態に迫る

受理：2022年4月27日

必要があるため、高度な嫌気培養法と並行させながら、解析する事が肝要であると考えてきた。従って、培養困難な腸内常在菌を“培養不可能”と把握される研究者も多い中で、細菌学者として培養不可能という文言は一度も使ったことはない。つまり、細菌学者として培養不可能というのは敗北宣言に等しいと考え、いずれ培養して見せるぞという気概を保持し続けているからである。

このように、遺伝子を介した手法の発展により、腸内常在菌の多様性解析は飛躍的に進展し、リボゾーム RNA (rRNA) は生物に普遍的に存在する保存性の高い核酸分子であり、細菌の進化系統研究に最も有効な分子マーカーとして、頻繁に使われている。これらのデータをもとに、16S rRNA 遺伝子の特定配列を標的とした菌種特異的プライマーを用いた PCR (polymerase chain reaction) 法が確立され、多種類の細菌種が混在する試料から特定の菌種を検出・同定することが可能となった。従来の培養法と比較してより簡便、迅速、正確な標的菌種の検出および同定法として用いられるようになった。

16S rRNA 遺伝子解析を用いた培養を介さない手法により、ヒトの腸内常在菌の菌群レベルでの解析結果、*Clostridium* (*C.*) *coccoides-Eubacterium* (*E.*) *rectale* グループ (*Clostridium* クラスタ XIVa, XIVb)、*Bacteroides fragilis* グループに特異的なプローブや *Lactobacillus/Enterococcus, Ruminococcus* グループ、*Atopobium* cluster および *Bifidobacterium* 属に特異的なプローブが作製され [3, 4]、腸内常在菌の構造解析に分子生物学的な手法による新しい分類体系が確立された。

すでに古典的とも言える 16S rDNA-クローンライブラリー法は、大便から抽出した DNA 中の 16S rRNA 遺伝子を PCR で増幅した後、得られた増幅産物をクローニングによって単離して、クローンの塩基配列を解読し、構成菌種を解析する方法である。この手法により、これまで分離培養が困難であった菌群の構造解析のみならず、その遺伝子情報の入手が可能となる。

本法を腸内常在菌の解析にはじめて用い、培養法では分離困難であった Gram-positive low G+C グループ (すなわち *C. leptum* サブグルー

プ) が優勢に検出された。Wilson ら [5] や Suau ら [6] はヒトの腸内常在菌を *Bacteroides* グループ、*C. coccoides* グループおよび *C. leptum* サブグループの 3 つの菌群が腸内常在菌全体の 95% を占めることを報告した。同様に Hayashi ら [7-9] は日本人の成人、老人およびベジタリアンの腸内常在菌を詳細に解析し、抽出クローンの 25% を 98% のホモロジー率を示す 31 既知菌種に同定し、残り 75% のクローンが 99 の新規なファイロタイプ (系統型、Phylotype) に属することを明らかにした。このような 16S rDNA によるクローンライブラリーの構築によって、ヒト腸内常在菌は *Clostridium* rRNA クラスタ IV, IX, XIVa および XVIII や *Bacteroides, Streptococcus, Bifidobacterium* の各グループなどに属するクローンであることが明らかとなった。

ところで、16S rDNA クローンライブラリー法は腸内常在菌を構成している菌種 (群) の解析が可能であるが、それを行うには時間と多額の費用が求められる。従って、腸内常在菌の解析において、迅速、簡便および大量のサンプル処理が要求される。そこで多様な微生物叢を数値として把握する分子生物学的な手法として RFLP 法による多様性解析と遺伝子解析システムによる全自動解析を組み合わせた T-RFLP (Terminal restriction fragment length polymer-phism) 解析と呼ばれる手法が提案された [10]。腸内常在菌の多様性解析において本法と 16S rDNA 塩基配列を使った各分子生物学的な手法とを比較すると、その多様性解析やデータベース構築という点で優れた方法である。実際には大便から直接得られたクローンを PCR 増幅後、2 種類の制限酵素でそれらを切断し、遺伝子解析システムにより検出された多様な T-RF パターンのピーク面積を自動測定し、それにより複雑な腸内常在菌を解析するものである (図 1)。大便材料から得られた T-RF パターンのクラスタ解析により、ヒト腸内常在菌の多様性解析が可能となり、その検出法の簡便性および再現性が得られることも確認されている [11]。

**腸内常在菌データベース構築による健康管理・疾病予防：2009 年より、理化学研究所と産業**

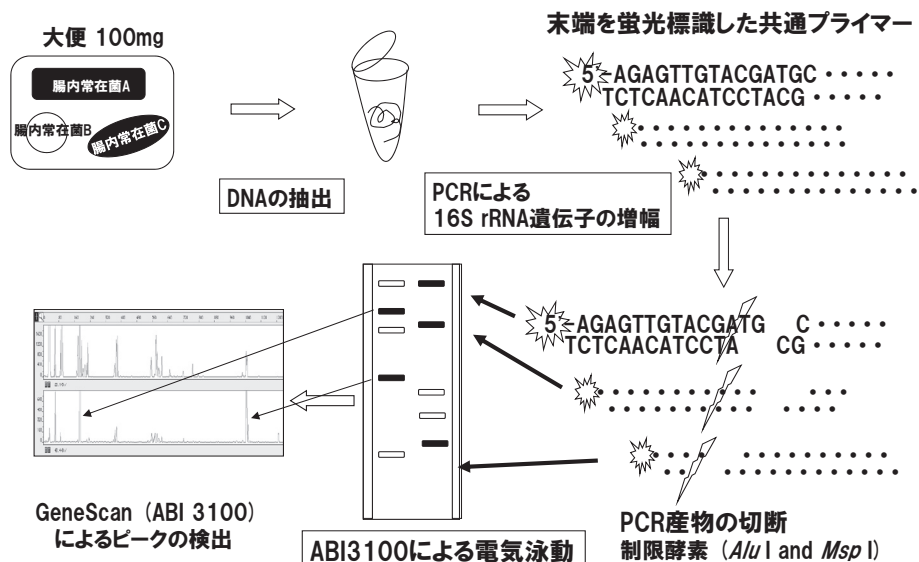


図1 ターミナル-RFLP法による腸内常在菌の解析

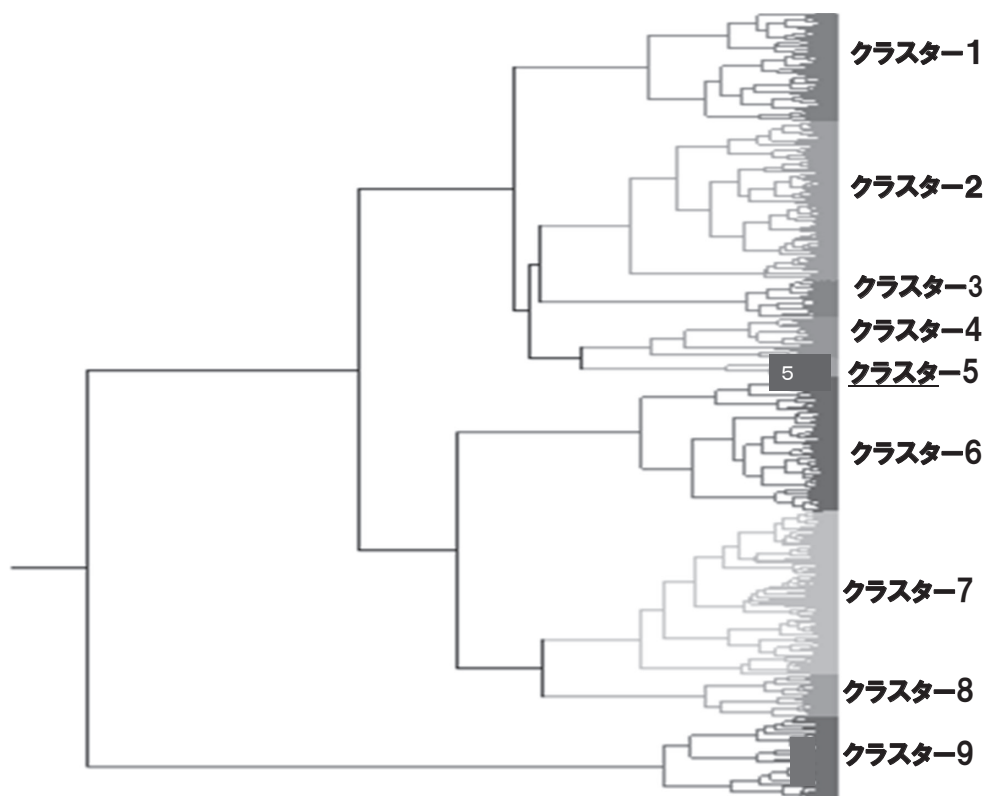


図2 17291 健康人の腸内常在菌解析

界からの強力なバックアップにより「個人別生理・代謝機能を計測・評価する技術システムの開発」に基づいて腸内常在菌データベース構築を開始した。腸内常在菌解析と生活特性を調査し、完成したデータベースを駆使して、生活償還の予測および罹患予測と現状を比較する試みを始めた。これらを実施するために、従来の培養法では実施可能ではなく、これまで腸内常在

菌解析に用いて培養を介さない手法「ターミナルRFLP法」を用いて多様性解析が実施された。これまで、健康成人約2万名(20~70歳)から大便の提供並びに生活特性アンケート調査を実施し、腸内常在菌構成と生活特性(個人属性や生活習慣)の相関性を検索したところ[12]、腸内常在菌の構成により9グループに分けられ(図2)、年齢、性別、体重、排便状況、居住地域、

食生活、運動習慣、心理的・精神的状態との相関が見出された(表1)。今後、これらのデータベースを公開し、生活習慣の予測や将来の健康状態の把握などに応用されるものと期待されている。今後、何万人という人々の腸内常在菌をさらに解析し、様々なパターンに分けることができれば、健康な腸内常在菌パターンと、病気になるしやすい腸内常在菌パターンが分かるのではないかと考えている。

急速な高齢化と飽食による生活習慣病患者群の増大によって、国民医療費はすでに41兆円を超えており、国家財政上で喫緊の課題になっている。そこで国民生活のQOL(生活の質)を大きく損なわない予防医学的手法の開発が切望されているが、いまだ具体的な突破口は見出されていない。そこで、腸内常在菌解析の成績と生活特性との関連性を解明し、腸内常在菌—生活特性データベースを駆使していけば、生活習慣の予測および罹患予測と、現状の比較を実施が可能になると確信している。つまり、個人ごとにお腹の腸内常在菌のパターンを知ることが、健康維持・増進および疾患リスクの軽減に結びつき、やがては健康QOLの向上に結びついていくことになる。これらの試みは健康予防

効果を促進し、これから増え続ける国民医療費の大幅削減に拍車をかけることになろう(図3)。

### 代謝物への影響が健康に関与

ヒトの腸内常在菌の構成が極めて個人差が大きいため、腸内常在菌が棲む場である大腸はヒトの臓器の中で最も種類の多い疾患が発症する場とされている。腸内常在菌が産生した腐敗産物(アンモニア、硫化水素、アミン、フェノール、インドールなど)、細菌毒素、発がん物質(ニトロソ化合物など)、二次胆汁酸などの有害物質は腸管自体に直接障害を与え、発がんや様々な大腸疾患を発症するとともに、一部は吸収され、長い間に宿主の各種内臓に障害を与え、発がん、肥満、糖尿病、肝臓障害、自己免疫病、免疫能の低下などの原因になるであろうと考えられている。

腸内環境—宿主間のクロストークは、現在、腸管上皮細胞表面のToll様受容体などを経由した、菌体成分の直接刺激の研究が盛んに行われ、詳細なメカニズムが明らかになりつつある。しかし、腸内常在菌の代謝物の研究はほとんど実施されていない。腸内常在菌の代謝物は少な

表1 腸内常在菌構成と個人属性および生活習慣との関係

主要な腸内常在菌(菌属)	個人属性および生活習慣
クラスター1 <i>Bacteroides, Blautia</i>	若年割合が高い。朝食欠食、野菜摂取頻度が低く肉摂取が高い。飲酒、運動習慣は無い
クラスター2 <i>Bacteroides</i> クラスター3 <i>Bacteroides, Lachnospira</i>	平均的な生活習慣
クラスター4. <i>Bacteroides, Megamonas, Fusobacterium</i> クラスター5. <i>Bacteroides, Fusobacterium</i> クラスター9. <i>Prevotella</i>	中年男性割合が高い。朝食欠食、習慣的な喫煙、飲酒習慣がある。野菜や海藻などの摂取頻度が低く麺類や揚げ炒め物、コンビニ総菜の摂取が多い。コンビニ総菜の摂取が多い。肥満率が他クラスターより高い。
クラスター6. <i>Bacteroides, Faecalibacterium</i> クラスター7. <i>Bacteroides Ruminococcus, Odriabacter Chritensenella, Akkermania</i>	高齢割合が高い女性。喫煙、飲酒習慣が無い。野菜類、果物の摂取頻度が高い。間食が多い。クラスター6はご飯の摂取頻度が高く、クラスター7は乳酸菌製品摂取が多い。痩せの割合が他クラスターより高い。
クラスター8. <i>Bacteroides, Bifidobacterium</i>	若年女性割合が高い。牛乳、乳酸菌製品、パンの摂取が多く、魚介、海藻の摂取頻度が低い。



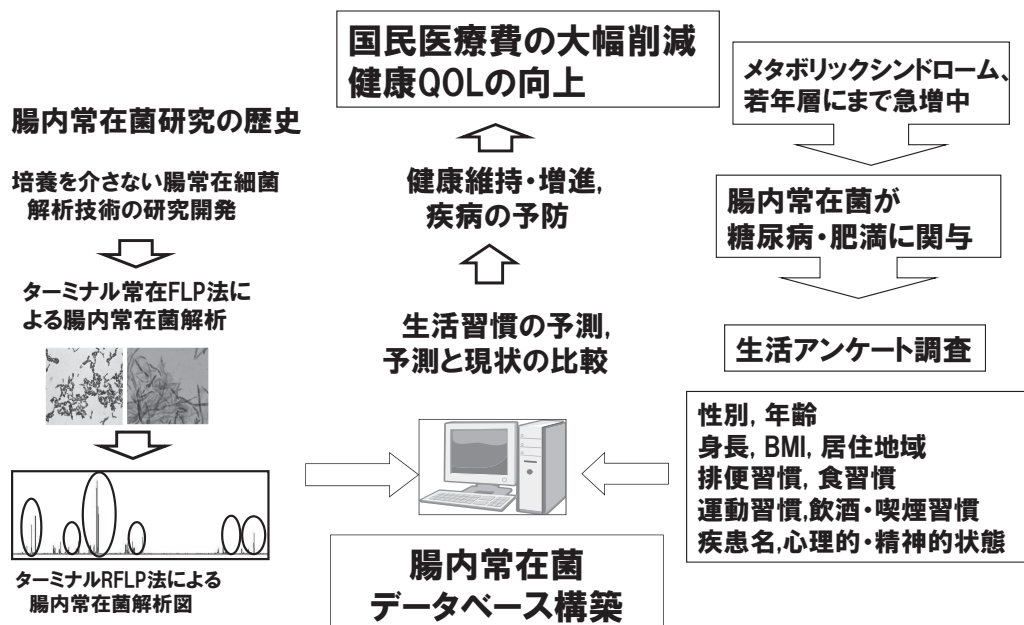


図3 増え続ける“国民医療費”をどう削減すべきか

くとも数百種類以上存在すると考えられ、そのほとんどは低分子のため腸管粘液層にも浸透し、上皮細胞にも直接影響を与える。また、腸管からも吸収され血中に移行し全身へ運搬されることが容易に想像でき、健康との関連性は極めて高いと考えられる。

腸内常在菌が宿主の各臓器、血液や尿内の代謝物に影響していることが知られている [13-16]。これまで、困難とされてきた生体内代謝物の測定にメタボロミクスが有効であることが示唆されてきた。Matsumoto ら [17] は遺伝的な偏りをなくすために、兄妹で交配させて誕生した無菌マウス (GF) のオス 6 匹を、無菌状態で育てた 6 匹と、生後 4 週間目に”糞便カクテル”を食べさせた腸内常在菌を含む体内微生物を有する通常マウス (SPF:6 匹) の 2 群に分け、滅菌水や滅菌飼料などを使って同じ条件で育て、7 週間目に、両群のマウスから、腸内容物を回収して、CE-TOFMS を用いたメタボローム法により腸内代謝物の網羅的解析を実施した。その結果、腸内容物メタボローム検出成分のカテゴリー別比率を無菌 (Germ free, 以下 GF) マウスおよび通常菌叢 (Conventional, 以下 CV) マウスの大腸内容物より 10 個のカテゴリーに分類し、GF < CV, GF = CV, GF > CV のそれぞれの成分を表 4 のような成績を見出している。すなわち、CV マウスは GF マ

ウスに比べて、アミノ酸代謝関連成分、中心炭素代謝中間体、補酵素・補酵素代謝中間体が多く、反対に、GF マウスは CV マウスに比べてアミノ酸やペプチドは少なく、それらは両群に共通して該当するものが多かったとしている。特に、腸内常在菌により、 $\beta$ アラニンの前駆物質アスパラギン酸、カダベリンの前駆物質リジン、プトレシンの前駆物質オルニチン、チラミンの前駆物質チロシン、 $\gamma$ -アミノ酪酸の前駆物質グルタミン酸などが活性を受けることが解明されている (図 4)。

これらの研究成果は、これまでの腸内常在菌研究がその構成のみを視点を重視するあまり、本来、宿主と腸内常在菌の関係を示す代謝物を軽視してきた流れを変えうる力を有していると高く評価され、機能性食品開発の一助ともなっている。今後、ノットバイオート動物 (既知菌種・菌株投与動物) などを駆使して、様々な腸内代謝物に及ぼす菌種・菌株レベルでの解明が進展するものと思われる。

#### 脳と腸の関係明らかに

腸と脳間の双方向のシグナルは生体の恒常性維持に重要であり、神経、ホルモン、免疫レベルにおいても制御されている。これらのシステムの攪乱はストレス反応や行動における変化にも直結している。さらに、脳の発達や行動に

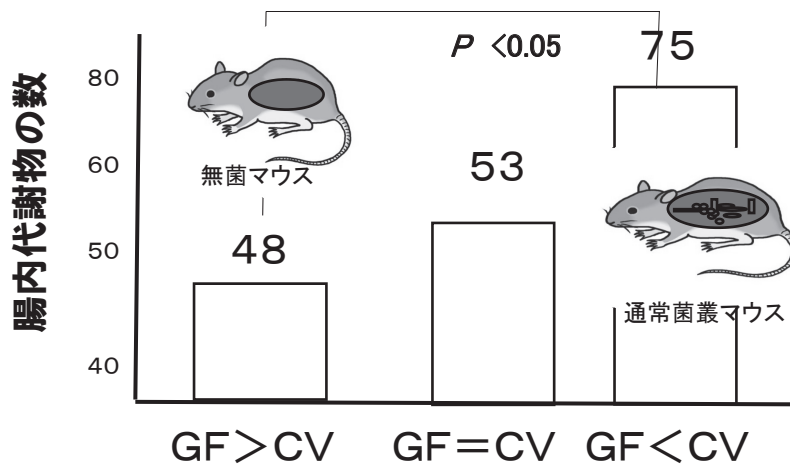


図4 無菌 (GF) マウスおよび通常菌叢 (CV) マウスにおける腸内代謝物 (176成分) の分布

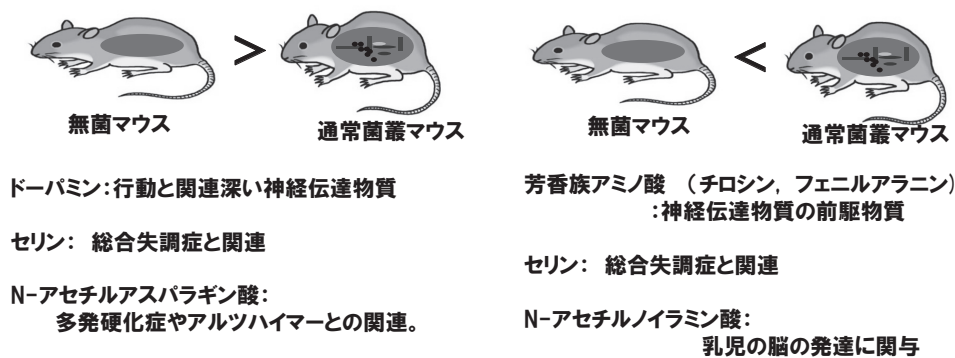


図5 無菌 (GF) マウスおよび通常菌叢 (CV) マウスにおける主な脳内代謝物の相違

も腸内常在菌が関与していることも報告されている。

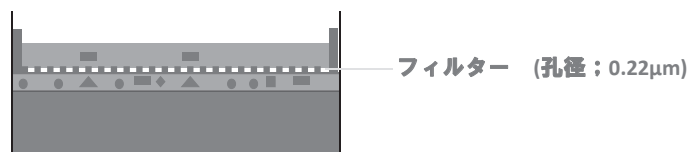
Matsumoto ら [18] は腸内代謝物解析と同様の手法により、GF および SPF の両群のマウスから、脳内容物を回収して、脳内代謝物を網羅的に測定した。大脳皮質に含まれる代謝物のうち 23 成分 (行動と関連深い神経伝達物質であるドーパミン、統合失調症との関連性ありとするセリン、多発硬化症やアルツハイマー発症に関連性ありとされる N-アセチルアスパラギン酸など) は、GF マウスの方が CV マウスより高濃度であり、逆に、15 成分 (神経伝達物質の前駆物質である芳香族アミノ酸、てんかん発症と関連あるらしいピペコリン酸、乳児の脳機能発達に関与しているらしい N-アセチルノイラミン酸など) は、GF マウスの方が CV マウスより低濃度であることが解明され、腸内常在菌が脳内代謝物の産生促進・減弱に関与していることを示唆している (図 5)。GF マウスに

多かった成分には、大脳皮質のエネルギー代謝に関係する物質が含まれており、明らかに、GF マウスの方が CV マウスよりも大脳のエネルギー消費が大きいことが明らかにされている。

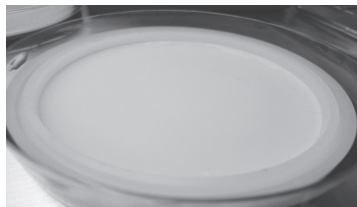
本成績のみでは、脳の活性化や脳の病気に関わっている神経伝達物質と、腸内常在菌の詳細な関係についてはまだ分析されていないが、脳の健康や疾病、発達と衰弱、学習や記憶、行動などを研究推進するうえで大きな意義があるといえよう。今後、腸内代謝物と同様にノートバイオ動物 (既知菌種・菌株投与動物) を駆使して、様々な腸内代謝物に及ぼす菌種・菌株レベルでの解明が望まれている。

#### 難培養腸内常在菌の把握に挑む

近年、ヒト腸内常在菌解析に次世代型シーケンサーが用いられ、数多くの成績が報告されている。この装置の応用により、腸内常在菌の構成解析が容易になったことは事実である。し



■ 菌は ▲菌の上層でのみコロニーを形成



**被依存菌の単集落分離が可能**

図6 フィルターを用いた単集落分離法の開発

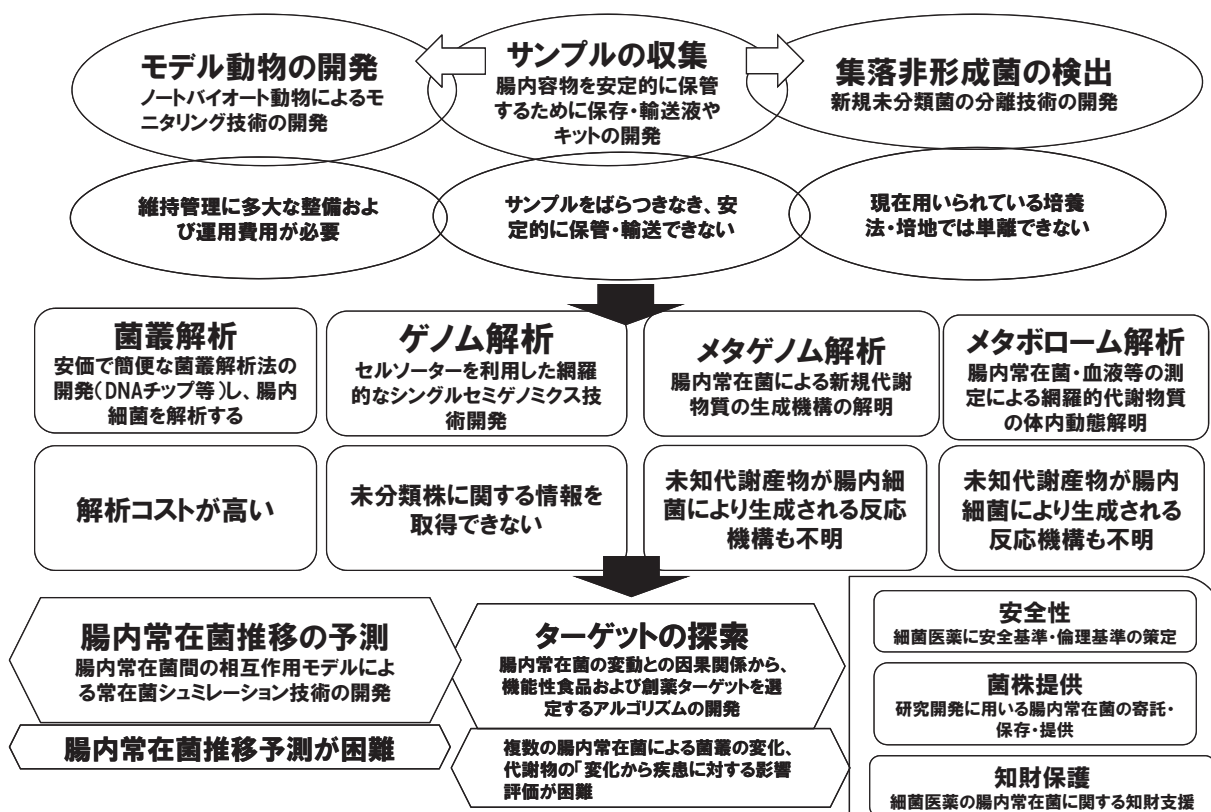


図7 腸内常在菌の測定法およびデータ解析技術における課題の解決と環境整備

かし、培養可能な菌株の存在や未分類な菌種が大多数であることも明らかにされてきた。解析に用いられるデータベースに搭載されている腸内常在菌は既存菌属・菌種であり、集落非形成菌である“難培養常在菌”の把握は困難である。

今後も未知の腸内常在菌の解析を促進するため、日本が得意としてきた培養法の伝統を活かしていくべきだと考えている。最近、メンブ

ンフィルターを用いた新しい培養法 [19] を考案した。この手法はA菌が産生する物質Aにより、B菌の生育が促され、そこで産生される物質BがC菌の生育を抑制といった「共生と拮抗の世界」を構築しているという仕組みを利用するもので、培養困難な腸内常在菌を取り出すことも可能である (図6)。

21世紀、あらゆる疾病発症の要因のひとつ

として、腸内常在菌の役割がクローズアップされている。腸内常在菌の単分離・培養を介さないアプローチにより、ようやくヒトの腸内常在菌の全貌が見渡せるようになってきた。その結果、ヒトの腸管内には数多くの未分類の常在菌が複雑な群集構造を作り上げて共生していることが明らかとなった。これらの共生腸内常在菌の局在や分布、生物活性・機能と結びつけて総合的にこのエコシステム系を理解していくことが今後の課題である。

### 腸内常在菌研究の諸課題

腸はただ単に栄養を吸収するだけの臓器ではなく、健康・疾病に関して重要なカギを握る臓器である。腸内常在菌の大部分は未解明で、その菌種数は約 1000 種以上いわれている。未知菌種・菌属が大半を占めるため、様々な解析を行っても既存に菌属・科の情報をを用いて解析しているにすぎない。図 7 に示すように

- 1) 大便材料の収集・保存法の改良：腸内容物を安定的に保管するために保存・輸送液や採取キットの開発
- 2) 難培養（集落非形成）菌の検出：新規の未分類腸内常在菌の分離および保存技術の開発
- 3) モデル動物の開発：ノートバイオト動物によるモニタリング技術の開発

が今後の腸内常在菌の構造と機能研究の進展にカギを握っていると考えられる。

今後、未知の腸内常在菌の解析が進展すれば、腸内常在菌の秘めた能力が見出されるにちがいない。それらを促進するためにはやはり”培養法への依存”が重要であろう。我が国で受け継がれてきた培養力の伝統を活かしてこそ、新しい研究領域の展開が期待される。

従来の「腸内常在菌研究」は細菌分類学を背景にして、いわば「知るための研究」であったが、腸内常在菌解析による健康管理法の確立は予防医学と手を携えて進むことで、人々の健康に結びつく研究という意味は「知る」という科学の営みを超えた研究分野になっている。今や、腸内常在菌の構成と機能の解明により、新たな研究領域に拍車をかけ、人々の健康の有り様さえも変え得る力になるか否かの分岐点にある。

### 謝辞

私共の腸内常在菌研究に関する研究を中心に発表の機会を与えてくださった貴会に感謝申し上げます。本稿の内容については理化学研究所動物薬理研究室（光岡知足、金内長司）、同所微生物系統保存施設（駒形和男、中瀬 崇、鈴木健一朗）、同所バイオリソースセンター微生物材料開発室（坂本光央、林 秀謙、影山亜紀子、北原真樹、坂田慎治）、同所辨野特別研究室（Jong-Sik Jin、當山むつみ、重野佑布子、小林登史夫、田中良紀、清水秀憲、伴野太平、中村陸、辨野芳子、松本光晴、本川正三、中村彩愛）での研究進展の結果であり、深く感謝申し上げます。

また、健常人の腸内常在菌解析をはじめとする研究開発に多大な研究資金とマンパワーを提供くださった理化学研究所、ヤクルト本社、森永乳業、協同乳業、ビオフェルミン製薬、東亜薬品工業、テクノスルガ・ラボ、松谷化学工業、兼松ケミカル、日東薬品工業、フジッコ、山田養蜂場、ミヤリサン製薬、森下仁丹、日清ファルマ、カナガワファニチャー、サイキンソー、グリーン&ウオーター、日本農業フロンティア開発機構（JAFDO）、IMF ホールディングス、貝塚ポテト、日本クレア、今野商店に感謝いたします。

### 引用文献

- [1] Mitsuoka, T., Benno, Y., Suzuki, K. and Namba, K. 1976. Die Faekalflora bei Menschen. IV. Mitteilung: Vergleich des neu entwickelten verfahrens mit bischerigen ublichen Verfahrens zur Darmfloraanalyse. Zentrabl. Bakt. Hyg. I. Orig. A234: 219-233.
- [2] 辨野義己, 坂本光央, 渡辺幸一. 2009. ヒト口腔内・腸内常在菌の構成, 医科プロバイオテイクス学, シナジー出版, 東京, pp22-23.
- [3] Langendijk, P.S., Schut, F., Jansen, G.J., Raangs, G.C., Kamphuis, G.R., Wilkinson, M.H. and Welling, G.W. 1995. Quantitative fluorescence in situ hybridization of *Bifidobacterium* spp. with genus-specific 16S rRNA-targeted probes and its application in fecal samples. Appl. Environ. Microbiol. 61: 3069-3075.
- [4] Franks, A.H., Harmsen, H.J., Raangs, G.C., Jansen, G.J., Schut, F. and Welling, G.W. 1998. Variations of



- bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3336-3345.
- [5] Wilson, K.H. and Blitchington, R.B. 1996. Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2273-2278.
- [6] Suau, A., Bonnet, R., Sutren, M., Godon, J.J., Gibson, G.R., Collins, M.D. and Doré, J. 1999. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4799-4807.
- [7] Hayashi, H., Sakamoto, M., and Benno, Y. 2002. Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based method. *Microbiol. Immunol.*, 46: 535-548.
- [8] Hayashi, H., Sakamoto, M., and Benno, Y. 2002. Fecal microbial diversity in a strict vegetarian as determined by molecular analysis and cultivation. *Microbiol. Immunol.*, 46: 819-831.
- [9] Hayashi, H., Sakamoto, M., Kitahara, M. and Benno, Y. 2003. Molecular analysis of fecal microbiota in elderly individuals using 16S rDNA libraries and T-RFLP. *Microbiol. Immunol.*, 47: 557-570.
- [10] Liu, W.T., Marsh, T.L., Cheng, H. and Forney, L.J. 1997. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 4516-4522.
- [11] Sakamoto, M., Hayashi, H., and Benno, Y. 2003. Terminal restriction fragment length polymorphism analysis for human fecal microbiota and its application for analysis of complex bifidobacterial communities. *Microbiol. Immunol.*, 47: 133-142.
- [12] 伴野 太平, 辨野 義己. 2020. 日本人腸内常在菌構成と個人属性および生活習慣の関係. *無菌生物ノートバイオロジー学会誌*. 58: 84-85.
- [13] Raamsdonk, L.M., Teusink, B., Broadhurst, D., Zhang, N., Hayes, A., Walsh, M.C., Berden, J.A., Brindle, K.M., Kell, D.B., Rowland, J.J., Westerhoff, H.V., van Dam, K. and Oliver, S.G. 2001. A functional genomics strategy that uses metabolome data to reveal the phenotype of silent mutations. *Nat. Biotechnol.*, 19: 45-50.
- [14] Ohashi, Y., Hirayama, A., Ishikawa, T., Nakamura, S., Shimizu, K., Ueno, Y., Tomita, M. and Soga, T. 2008. Depiction of metabolome changes in histidine-starved *Escherichia coli* by CE-TOFMS. *Mol. Biosyst.* 4: 135-147.
- [15] Wikoff, W.R., Anfora, A.T., Liu, J., Schultz, P.G., Lesley, S.A., Peters, E.C. and Siuzdak, G. 2009. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106: 3698-3703.
- [16] Li, M., Wang, B., Zhang, M., Rantalainen, M., Wang, S., Zhou, H., Zhang, Y., Shen J., Pang, X., Zhang, M., Wei, H., Chen Y, Lu, H, Zuo J., Mingming, S., Wei, J., Xiao, C., Smith, L.M., Yang, S., Holmes, E., Tang, H., Zhao, G., Nicholson, J.K., Li, L. and Zhao, L. 2008. Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105: 2117-2122.
- [17] Matsumoto, M., Kibe, R., Ohga, T., Aiba, Y., Kurihara, S., Sawaki, E., Koga, Y., and Benno, Y. 2012. Impact of intestinal microbiota on intestinal luminal metabolome. *Sci. Rep.*, 2: 233-243.
- [18] Matsumoto, M., Kibe, R., Ohga, T., Aiba, Y., Sawaki, E., Koga, Y., and Benno, Y. 2013. Cerebral low-molecular metabolites influenced by intestinal microbiota : a pilot study. *Frontiers in Syst. Neurosci.* 7: 9. doi: 10.3389/fnsys.
- [19] Tanaka, Y. and Benno, Y. 2015. Application of coculture technique for isolation of previously uncultured gut bacteria as single colonies. *Microbiol. Immunol.* 59: 63-70.

辨野 義己 (べんの よしみ)

一般財団法人辨野腸内フローラ研究所 理事長  
国立研究開発法人理化学研究所名誉研究員、  
十文字学園女子大学客員教授、日本微生物資源学会  
名誉会員

酪農学園大学獣医学部卒、東京農工大学大学院獣医学専攻科を経て、理化学研究所に入所。2009年同所バイオリソースセンター微生物材料開発室室長を経て同所科技ハブ産連本部辨野特別研究室特別招聘研究員。2021年3月末退職後、現在に至る。  
農学博士(東京大学) 専門領域: 腸内環境学、微生物分類学

日本臨床腸内微生物学会監事、日本無菌生物ノートバイオロジー学会理事、(社)全国発酵乳・乳酸菌飲料協会理事、(公財)日本健康・栄養食品協会 学術アドバイザー、(公財)ヤクルトバイオサイエンス研究財団評議員、国際嫌気性グラム陰性無芽胞桿菌分類命名小委員会委員

日本獣医学会賞 (1986年)

日本微生物資源学会・学会賞 (2003年)

酪農学園大学獣医学部同窓会「三愛賞」(2007年)

文部科学大臣表彰・科学技術賞(理解増進部門)(2009年)

著書

「大便通」(幻冬舎新書)、「大便革命」(幻冬舎新書)、  
「健康寿命は腸内細菌が決める」(集英社インターナ  
ショナル新書)。「ウイルスに負けない!腸を元気に  
する新常識」(宝島社)、「長寿菌を育てる食べ方」(三  
笠書房)、「長寿菌まで育てる最高の腸活」(宝島社)  
など多数

## The past, the present and the future on the gut microbiota research - For the health care and prevention of illness using the gut microbiota analysis -

Yoshimi Benno, DVM, PhD

Chief Director, Benno Institute of Gut Microflora

### **[Abstract]**

Database of the relationships between the gut microbiota composition and life-style characteristics (ages, gender, weight, food style and exercise etc.) was established. Additionally, whole analyses of gut and brain metabolism by TOF-MASS was progressed the role research of gut bacteria. the composition and function of gut microbiota will be progressed. We will get new methods for the development of health care and prevention of some diseases.

**Keywords:** Culture-difficult microbes, Culture independent analysis, Gut metabolites, Gut-brain axis