

腸内フローラと老化

The gut microbiota and aging

新井 万里 水野 慎大 金井 隆典

要約

ヒトの腸管には数千種類、100兆個以上の腸内細菌が生息し、多彩な代謝機能による宿主へのエネルギー供給、腸管上皮細胞や免疫細胞の分化や成熟化、腸内環境の恒常性維持、病原菌に対する感染防御などに関与している。次世代シーケンサーを用いた解析法の進歩により、腸内細菌叢の多様性、構成菌種、安定性、体内動態などが明らかになってきている。腸内細菌叢は健康と疾患に深く関与し、炎症性腸疾患、過敏性腸症候群や大腸癌などの消化管疾患のみならず、生活習慣病、自己免疫性疾患、自閉症など消化管以外の疾患との関連性も指摘され、治療として腸内細菌叢をターゲットとしたプロバイオティクスの投与や健康な成人の糞便を投与する糞便微生物移植もおこなわれている。

腸内細菌とヒトの適切な共生関係が保たれることが、健康維持に重要であることから、腸内細菌叢に影響を与える因子について精力的に研究が進められている。我々を取り巻く環境は急激に変化し続けており、加齢が腸内細菌叢に与える影響も注目されている。乳幼児期の腸内細菌叢は劇的な変化を生じるが、成人になると食事内容が確立し、比較的安定した腸内細菌叢が形成される。老年期になると生理機能の低下や食事内容の変化により腸内細菌叢は再び変化する。

腸内細菌叢と老化の直接的な関係については不明な点が多いが、加齢に伴って変化した腸内細菌叢は宿主の健康状態に少なからず影響を与えうる。特に本邦では、世界に例を見ない超高齢社会に突入し、健康寿命の延長に対する関心が高まっている。疾患の治療だけでなく、疾病予防・健康長寿を期待した先制医療としての腸内細菌叢への介入にかけられる期待は大きい。

Key words 腸内細菌, 老化, 加齢, 免疫老化, inflammaging

(日老医誌 2016; 53: 318-325)

はじめに

腸管は消化器官であるとともに生体で最大の免疫系組織であるが、その消化管において数千種、100兆個以上の腸内細菌が排除されず共生し、腸内細菌叢を形成している。宿主であるヒトは腸内細菌に栄養と定住環境を提供する一方で、腸内細菌はアミノ酸や炭水化物などの栄養素や胆汁酸の代謝および短鎖脂肪酸などの代謝産物の産生、ビタミン合成、病原菌に対する感染防御、腸管上皮細胞や免疫細胞の分化や成熟化に関

与している。近年、次世代シーケンサーを用いた遺伝子レベルでの網羅的解析が行われるようになり、ヒトマイクロバイーム研究として腸内細菌叢の構成や機能が調べられるようになってきた。健康人の腸内細菌叢の特徴に加え、様々な疾患患者の腸内細菌叢の解析も行われ、疾患と腸内細菌叢の関連の解明がすすめられている。その結果、腸内細菌叢の多様性や菌種構成の異常 (Dysbiosis) が腸疾患のみならず、様々な疾患に関与していることが明らかになってきている。治療として腸内細菌叢をターゲットとしたプロバイオ

ティクスの投与や健康人の糞便を投与する糞便微生物移植もおこなわれている。

共生する腸内細菌叢が適切に形成・維持されることが、我々の健康に重要な役割を担っていることから、腸内細菌叢の形成・維持に影響する因子について多くの検討がなされている。また、生活環境の改善、食生活・栄養状態の改善、医療技術の進歩等による平均寿命の延伸、少子化による高齢化がすすんでおり、加齢に伴う腸内細菌叢の変化も注目を集めている。乳幼児期の腸内細菌叢は大きく変動するが、食事内容が確立した成人になると比較的安定した腸内細菌叢が形成される。その後老年期になると加齢に伴う生理機能の低下・食事内容の変化により腸内細菌叢はまた変化していく。

世界的な高齢化の進行と健康寿命の延長への関心の高さから、疾患の治療だけでなく、疾病予防・健康長寿を期待した腸内細菌叢への介入も試みられている。本稿では、加齢に伴う腸内細菌叢の変化および腸内細菌叢を介した疾病予防の展望について概説する。

腸内細菌叢の健康への関与：腸内細菌叢の特徴と機能

ヒトの腸管には数千種、100兆個以上の細菌が生息し、健全な共生関係を維持している。宿主であるヒトは腸内細菌に栄養と定住環境を提供する一方で、腸内細菌はアミノ酸や炭水化物などの栄養素や胆汁酸の代謝および短鎖脂肪酸などの代謝産物の産生、ビタミン合成、病原菌に対する感染防御、腸管上皮細胞や免疫細胞の分化や成熟化に関与している。ヒト腸内細菌叢は、主に *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* 門の4つ門に属する細菌から構成され、*Firmicutes* と *Bacteroidetes* 門が最優占菌種である¹⁾。*Firmicutes* 門は主に *Clostridia* 綱からなり、短鎖脂肪酸を産生する *Clostridium* cluster IV および cluster XIVa が多く含まれている。また、各自固有の腸内細菌叢を持っていることや、健康成人の腸内細菌叢は安定性が高いことも知られている²⁾。腸内細菌叢の遺伝子構成は、個人間の多様性の差異が菌種構成と比較して小さいことが報告されている³⁾。

腸内細菌叢の研究は1681年オランダのレーウエンフックが顕微鏡で糞便を観察して多数の菌を発見したことに始まる。その後、嫌気性菌の培養法が確立されたが培養困難な細菌も多くあった。2000年代に次世代シーケンサーが登場し、難培養菌も含んだ腸内細菌叢全体のメタゲノム解析が可能となった。これに無菌マウス飼育技術や、無菌マウスに限られた種類の細菌を定着させたノトバイオト技術、代謝物の網羅的解析であるメタボローム解析などのいわゆるオーミクス解析手法を用いて、生体における菌の挙動やメタゲノム解析で得られた遺伝子の機能も解明されつつある。宿主免疫細胞の分化・誘導については、特定の菌種が重要であることが報告されている。例えば、*Segmented Filamentous Bacteria* (SFB) がマウスの小腸において IL-17A 産生性 Th17 細胞の分化を誘導することが示されている⁴⁾。制御性 T 細胞に関しては、*Bacteroides fragilis* や複数の *Clostridium* 属細菌が transforming growth factor (TGF)- β を介して誘導することが報告されている^{5,6)}。ヒト由来の腸内細菌に関しても同様の報告がなされている。健康なヒト由来糞便から分離された17種類の *Clostridium* 属細菌 (cluster IV, XIVa, XVIII) をマウスに投与すると大腸には誘導性の制御性 T 細胞が増加すること、腸炎抑制能を有することも示されている⁷⁾。また、腸内細菌が産生する代謝産物も宿主の免疫応答に重要である。大野らは、マウスで *Clostridium* 属が食物繊維を発酵して産生する酪酸が、制御性 T 細胞の誘導に重要であることを報告した⁸⁾。酪酸などの短鎖脂肪酸は上皮細胞のエネルギー源として重要であるばかりではなく、上皮細胞透過性の抑制、ムチンや抗菌ペプチド産生の亢進、上皮細胞からの炎症性サイトカイン産生抑制作用も有している。

腸内細菌叢の疾患への関与

健康人の腸内細菌叢の特徴のみならず、様々な疾患患者の腸内細菌叢の解析も行われ、疾患と腸内細菌叢の関連の解明がすすめられている。その結果、炎症性腸疾患、大腸癌、肥満、糖尿病など様々な疾患で dysbiosis が指摘されている。

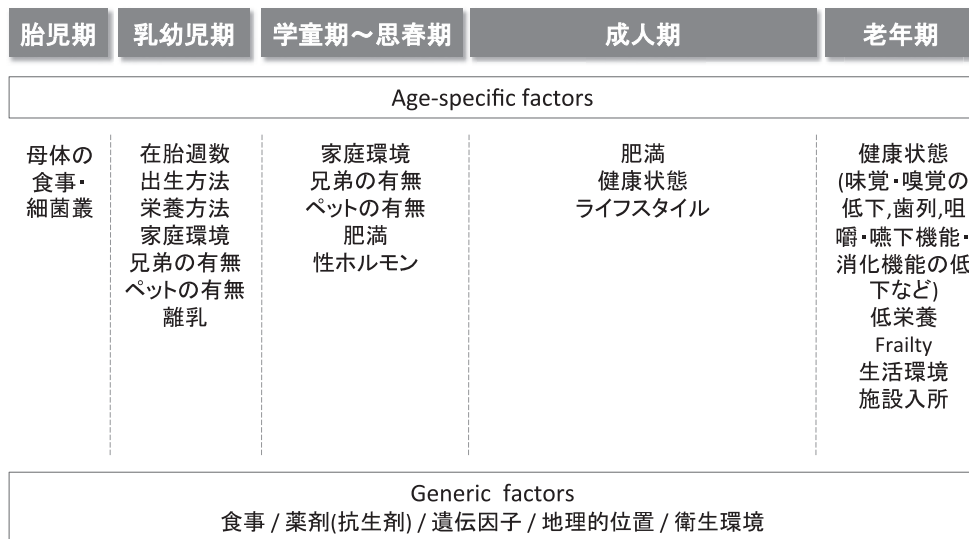


図1 腸内細菌叢に影響を与える因子

炎症性腸疾患患者では健常者と比較し、腸内細菌叢の多様性の低下が多く報告されている^{9)~11)}。腸内細菌叢構成の変化については、*Firmicutes* 門の減少は多くの研究で示されている¹⁰⁾¹²⁾。前述したように、*Firmicutes* 門に含まれる *Clostridium* 属細菌 (cluster IV, XIVa) は、短鎖脂肪酸を産生し制御性 T 細胞を誘導することから、炎症性腸疾患患者では *Clostridium* 属の減少による腸管の恒常性の破綻が病態に関与している可能性が考えられている。大腸癌においては増加している細菌がこれまでいくつか示されているが、近年 *Fusobacterium* が癌部では非癌部とくらべ多く検出されることなどが報告され¹³⁾、密接な関連があると考えられている。

腸疾患以外でも dysbiosis が指摘されている。2006年にヒトおよびマウスにおいて肥満における腸内細菌の関与が報告された¹⁴⁾¹⁵⁾。肥満者では健常人と比較し、*Firmicutes* 門の細菌が増加し *Bacteroidetes* 門に属する細菌の割合が減少しており、食事制限による体重減少により健常者と同様の構成に戻ることを示されている。糖尿病においても、腸内細菌叢の変化が肥満を引き起こすことで耐糖能を悪化させることに加え、2型糖尿病患者に特徴的な腸内細菌叢が報告されている¹⁶⁾。本邦からも2型糖尿病患者の糞便を解析した結

果が2014年に報告された¹⁷⁾。2型糖尿病患者では、対象者と比較して腸内細菌叢の構成が異なり、また血液中に腸内細菌が高い割合で検出されたことから、dysbiosisにより腸管透過性が亢進し糖尿病の病態に関与する可能性が示唆されている。

このように多くの疾患と dysbiosis の関係が示唆されているが、dysbiosis が疾患の原因であるか、それとも結果であるか、腸内細菌自身または代謝産物など腸内細菌叢のいずれの要素が病態へ関与しているか、などについてはさらなる検討が必要である。

加齢に伴う腸内細菌叢の変化

上述のように、dysbiosis が様々な疾患に関与していることが数多く示され、“正常”な腸内細菌叢を形成・維持することは健康の維持に重要である。そのため、生涯を通して腸内細菌叢を形成・変化させる因子を理解することが必要である。これまで腸内細菌叢に影響を与える多くの因子が報告されている(図1)。生涯を通じて影響を与える因子としては、食事、感染、薬剤、衛生環境、遺伝因子などがあげられる¹⁸⁾¹⁹⁾。

加齢に伴う腸内細菌叢の変化は、1970年代の東京大学の光岡らの培養法を用いた報告²⁰⁾をはじめ、多く

の報告がある。乳児の腸内細菌叢は母乳または人工乳による栄養方法により徐々に安定するが、固形物摂取開始、離乳に伴い大きく変動する。2~3歳になると成人と似た腸内細菌叢に近づき、食事内容が確立した成人の腸内細菌叢は種レベルでは安定していることが知られている。加齢に伴う生理機能の低下・食事内容の変化により、高齢になると腸内細菌叢の多様性は低下し構成菌種も変化する。

1) 出生~乳幼児期

出生後の腸内細菌叢形成に変動を与える因子としては、在胎週数や分娩様式、栄養方法(母乳か人工乳か)、生活環境(母親の食事、兄弟の有無、ペットへの曝露、保育園、居住地域など)、遺伝的背景などがあげられる。なかでも経口摂取(母乳または人工乳)の開始および離乳は腸内細菌叢の形成に大きな影響を与える。

これまで出生時の新生児の腸内は無菌だと考えられていたが、近年の研究では在胎時から母体由来の微生物の影響を受けることが示唆されている²¹⁾。新生児の初期は通性嫌気性菌が定着し、これらの細菌が酸素を消費することで偏性嫌気性菌が腸管に定着可能となる²²⁾。その後、母乳や人工乳の経口摂取開始に伴い、*Firmicutes* や *Actinobacteria* に属する通性嫌気性菌が乳児の腸内細菌叢の優勢種となる。*Firmicutes* 門に属する細菌としては、*Lactobacillus* や *Clostridium* 属などに属する乳酸を産生菌が含まれる。母乳で育てられた児は *Bifidobacterium* 属優位の腸内細菌叢となる。母乳中には、*Bifidobacterium* 属が選択的に利用できるオリゴ糖が含まれることが報告されている²³⁾。乳児の栄養方法は、腸内細菌叢の形成に影響を与えるが、最近の人工乳は改良がすすみ複数のオリゴ糖が含まれるようになり、これらの人工乳で育てられた乳児の腸内細菌叢は、母乳で育てられた乳児と比較して *Bifidobacterium* 属の種類は類似している。

1~2歳頃になると離乳によりヒトの腸内細菌叢は2回目の変動をおこし、3歳頃までに *Bacteroidetes* と *Firmicutes* 門を優勢とした比較的安定した成人の腸内細菌叢へ移行する²⁴⁾²⁵⁾。母乳中のオリゴ糖がなくなることにより、*Bifidobacterium*、*Lactobacillus* が減少し、*Clostridium leptum*、*Roseburia* などの *Firmicutes* 門に属す

る他の菌種が増加する。これらの菌種は植物由来の多糖類や難消化性でんぷんを発酵し酪酸を産生する。

この時期に適切な腸内細菌叢が形成されることは、免疫系の発達に重要である。幼少期の抗生剤使用などによる腸内細菌叢の攪乱は、喘息やアレルギー疾患に関与していることが報告されている。

2) 成人期

成人の腸内細菌叢は、約6~7つの門に属する細菌から構成されるが、大部分は *Bacteroidetes* と *Firmicutes* 門に属する細菌で構成される¹⁾。この腸内細菌叢は、長期間の食事介入や繰り返される抗生剤投与などがなければ安定している。近年報告された37人の成人の腸内細菌叢を5年間解析した研究からは、成人の腸内細菌叢の60~70%は研究の間を通して維持されており、また量の多い菌種は安定していることが示されている²⁾。対象人数は少ないが、より長期にわたり解析した研究でも成人の腸内細菌叢の安定性が示されている²⁶⁾。このように成人の腸内細菌叢は安定性が高いが、感染や抗生剤投与、体重の減少を伴うような食事介入により変化する¹⁸⁾。これらの変動因子により腸内細菌叢は変化するが元の状態へ回復することも報告されている¹⁸⁾²⁷⁾。

腸内細菌叢の構成菌種には多くの人に存在する検出頻度の高い菌と食事や個人の生活習慣、遺伝的背景で異なる検出頻度の低い菌があり、Turnbaughらは前者を“core microbiome”，後者を“variant microbiota”と呼ぶ概念を示した²⁸⁾。“正常”な腸内細菌叢を定義する上で core microbiome の構成菌を確立することは重要である。しかし、個人の腸内細菌叢の個人差は大きく、健康な成人は核となる細菌叢 (core microbiome) はほぼ他人と類似したものを持ちながら個人に特有の腸内細菌叢を保持している²⁾²⁹⁾。

3) 老年期

老化とは加齢に伴う生理学的機能の後退であり、徐々に恒常性が失われ行く状態である。加齢に伴い、免疫機能、特に獲得免疫の応答が低下することが知られており免疫老化と呼ばれる。免疫老化は軽度の慢性炎症である“inflammaging”を引き起こす。様々な

生理機能の低下により、65歳以上の高齢者では疾患やけがで自覚症状がある有訴者は多いが、日常生活に影響のある高齢者は有訴者率と比較すると半分以下である³⁰⁾。このことから、高齢者の健康においては、死亡率や罹患率ではなく、日常生活に制限のない期間である健康寿命や生活機能の自立度を重視すべきであると考えられる。生活機能の自立の大きな障壁となるものとして frailty がある。Frailty は生理的な加齢変化と機能障害・要介護状態の間にある健康障害を招きやすい状態であり、しかるべき介入により再び健全な状態に戻るという可逆性が含まれている。現在最もよく使われている診断基準は、体重減少、易疲労感、握力低下、歩行スピード低下、低活動の5つのうち3つ以上満たせば Frail であるという Fried らの基準³¹⁾であるが、このような身体的側面だけでなく、認知機能低下など精神・心理的要因や社会的な要因を含めるべきとの考えが現在なされている。

高齢社会の進行に伴う健康寿命の延長への関心の高さから、ヒトの健康に大きく関与している腸内細菌叢が、高齢者でどのように変化するのは非常に注目されている。高齢者の腸内細菌叢は成人と比較して、個人差が大きいことや³²⁾³³⁾、多様性および安定性が低下することが報告されている^{34)~36)}。腸内細菌叢の構成としては、*Bacteroidetes* 門に属する細菌の増加や短鎖脂肪酸を産生する *Bifidobacterium* と *Bacteroides* 属細菌の減少^{33)37)~39)}が示されている。

最近本邦より0歳から104歳までの健常者367名を対象に腸内細菌叢を次世代シーケンサーで網羅的に解析した研究結果が報告された⁴⁰⁾。その結果、1970年代の光岡らの報告と同様に、乳幼児で最優勢菌である *Bifidobacterium* を含む *Actinobacteria* 門は離乳後その割合が急激に減少し60歳代以降は更に減少してしまうことや、大腸菌等を含む *Proteobacteria* 門の占有率は乳幼児と高齢者で高いことなどが確認された。さらに、70歳を越えた時点で高齢者型の腸内細菌叢構成になる健常者が多いことが示された。

腸内細菌叢に影響を与える加齢に関連した因子としては、①身体的変化、②食事内容の変化と低栄養、③生活環境、④抗生剤などの薬剤があげられ、これらは複合的に腸内細菌叢の構成に影響を及ぼす²⁹⁾⁴¹⁾⁴²⁾。身

体的変化には上述した免疫老化や inflammaging に加え、味覚や嗅覚の低下、菌列および咀嚼や嚥下機能の低下、消化機能の低下、身体的活動量の低下などがあり、これらにより食事の変化が起こり高齢者にみられる低栄養が引き起こされる。また入院やケア施設への入所も食事量の変化の原因となる。腸内細菌叢の構成内容の変化により腸内細菌叢の機能も変化し、栄養素の代謝遺伝子の割合の変化が報告されている。具体的には、高齢になると、芳香族アミノ酸代謝に関与する遺伝子が増加し、短鎖脂肪酸代謝に関与する遺伝子が減少する⁴³⁾。加齢に伴う腸内細菌叢の変化は、腸内細菌叢の代謝能力の変化を反映している。

腸内細菌叢と frailty の関連も報告されている⁴²⁾⁴⁴⁾。Claesson らは、地域在住、デイホスピタル通所中、短期リハビリテーション入院中、長期間施設入所中の計178人の高齢者(64~102歳、平均年齢78歳)の糞便を解析し、長期施設入所者は地域在住高齢者と比較して *Bacteroidetes* 門の割合が増加し、frailty の頻度が上昇することを報告している⁴²⁾。また、地域在住高齢者は長期施設入所者と比較して健康な若年成人に近い多様な腸内細菌叢を持っており、それには果物、野菜、肉類といった多様性のある食事が重要である。

腸内細菌叢を介した治療および疾病予防への展望

これまでに腸内細菌叢が直接老化に影響を及ぼしているかは明らかになっていないが、加齢により変化した腸内細菌叢が宿主の健康状態に影響を与えている可能性は考えられる。

高齢者の健康状態の改善、疾病予防を目指した腸内細菌叢を介した治療としては、プロバイオティクス、プレバイオティクス、両者を併用する synbiotics があげられる。プロバイオティクス、プレバイオティクス、synbiotics は、糞便中の *Bifidobacterium*、*Lactobacilli* 量を増加させ、高齢者において腸内細菌叢の構成を変化させる⁴⁵⁾⁴⁶⁾。しかし、*Bifidobacterium* や *Lactobacilli* の量が増加する事自体が高齢者にとって有益な臨床効果をもたらすとは限らない。これまで報告されている臨床効果としては、便秘改善、抗菌薬関連下痢症や *Clostrid-*

ium difficile 関連下痢症などがあるが⁴⁷⁾⁴⁸⁾、抗菌薬関連下痢症の予防効果は認めなかったというランダム化比較試験もある⁴⁹⁾。抗生物質耐性の再発性 *Clostridium difficile* 感染症に関しては、健常な成人の糞便を投与する糞便微生物移植法 (Fecal microbiota transplantation; FMT) が著しい再発抑制効果を示すことが2013年に報告されている⁵⁰⁾。また、免疫老化の面では、施設入所中の高齢者の集団感染が問題となっていることもあり、腸内細菌への介入が免疫系を調節することで感染症罹患へのリスクを減少させることも期待されているが、報告によって対象者の年齢や健康状態、生活環境などに差が大きく一般的なことは言えないのが現状である。

近年、高齢者にとっては健常若年の腸内細菌叢よりも長寿者の腸内細菌叢に含まれるプロバイオティクスを投与することが良いのではないかと考えも出てきている⁵¹⁾。長寿者が有する *bifidobacteria* は免疫老化の改善により有効であるとの動物実験の結果も報告されており⁵²⁾、長寿者の腸内細菌叢の解析は今後さらに注目を集めるものと考えられる。

おわりに

次世代シーケンサーを用いた腸内細菌叢の網羅的解析により、腸内細菌叢がヒトの健康と疾患に重要な役割を担っていることが次々と明らかになってきた。本邦では超高齢社会に突入し、世界的にも高齢化が進行している昨今、加齢に伴う腸内細菌叢の変化および高齢者・長寿者の腸内細菌叢の解析に注目が集まっている。一方で、健常人の腸内細菌叢の多様性や複雑さを考えると正常な腸内細菌叢を規定することは困難に思える。課題も多いが、各年代の腸内細菌叢のメタゲノミクス解析に加え、メタボローム解析やメタトランスクリプトーム解析などの網羅的な機能解析もおこなうことで、理想とするべき正常な腸内細菌叢とはどのようなものか、加齢に伴いどのように変化するのが理想なのか等を明らかにすることにより、疾患に対する治療だけでなく、腸内細菌を介した疾病予防・健康長寿を達成することも可能となりうる。

著者のCOI (Conflict of Interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文献

- 1) Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al.: Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005; 308: 1635-1638.
- 2) Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, Subramanian S, Seedorf H, Goodman AL, et al.: The long-term stability of the human gut microbiota. *Science* 2013; 341: 1237439.
- 3) Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al.: A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457 (7228): 480-484.
- 4) Ivanov II, Atarashi K, Manel N, Brodie EL, Shima T, Karaoz U, et al.: Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 2009; 139 (3): 485-498.
- 5) Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL: A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature* 2008; 453 (7195): 620-625.
- 6) Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al.: Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 2011; 331 (6015): 337-341.
- 7) Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, et al.: Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature* 2013; 500 (7461): 232-236.
- 8) Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, et al.: Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 2013; 504 (7480): 446-450.
- 9) Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, Gloux K, Pelletier E, Frangeul L, et al.: Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 2006; 55 (2): 205-211.
- 10) Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR: Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104 (34): 13780-13785.
- 11) Tong M, Li X, Parfrey LW, Roth B, Ippoliti A, Wei B, et al.: A modular organization of the human intestinal mucosal microbiota and its association with inflamma-

- tory bowel disease. *PLoS one* 2013; 8 (11): e80702.
- 12) Gophna U, Sommerfeld K, Gophna S, Doolittle WF, Veldhuyzen van, Zanten SJ: Differences between tissue-associated intestinal microfloras of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Clin Microbiol* 2006; 44 (11): 4136–4141.
 - 13) Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, et al.: Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22 (2): 292–298.
 - 14) Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444 (7122): 1027–1031.
 - 15) Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI: Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444 (7122): 1022–1023.
 - 16) Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al.: A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012; 490 (718): 55–60.
 - 17) Sato J, Kanazawa A, Ikeda F, Yoshihara T, Goto H, Abe H, et al.: Gut dysbiosis and detection of “live gut bacteria” in blood of Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2014; 37 (8): 2343–2350.
 - 18) David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al.: Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014; 505 (7484): 559–563.
 - 19) Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhman R, et al.: Human genetics shape the gut microbiome. *Cell* 2014; 159 (4): 789–799.
 - 20) Mitsuoka T, Hayakawa K: The fecal flora in man. I. Composition of the fecal flora of various age groups. *Zentralbl Bakteriol Orig A* 1973; 223 (2): 333–342.
 - 21) Jiménez E, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Olivares M, Xaus J, et al.: Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol* 2008; 159 (3): 187–193.
 - 22) Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO: Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007; 5 (7): e177.
 - 23) Turrone F, Peano C, Pass DA, Foroni E, Severgnini M, Claesson MJ, et al.: Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota. *PLoS one* 2012; 7 (5): e36957.
 - 24) De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al.: Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107 (33): 14691–14696.
 - 25) Bergström A, Skov TH, Bahl MI, Roager HM, Christensen LB, Ejlerskov KT, et al.: Establishment of intestinal microbiota during early life: a longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80 (9): 2889–2900.
 - 26) Rajilić-Stojanović M, Heilig HG, Tims S, Zoetendal EG, Vos WM: Long-term monitoring of the human intestinal microbiota composition. *Environ Microbiol* 2013; 15 (4): 1146–1159.
 - 27) Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al.: Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011; 334 (6052): 105–108.
 - 28) Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett C, Knight R, Gordon JI: The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world. *Nature* 2007; 449 (7164): 804.
 - 29) Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al.: Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012; 486 (7402): 222–227.
 - 30) 内閣府編：高齢社会白書，平成 26 年版。
 - 31) Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, et al.: Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001; 56 (3): M146–156.
 - 32) Biagi E, Nylund L, Candela M, Ostan R, Bucci L, Pini E, et al.: Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS one* 2010; 5 (5): e10667.
 - 33) Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, et al.: Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108 (Suppl 1): 4586–4591.
 - 34) Mueller S, Saunier K, Hanisch C, Norin E, Alm L, Midtvedt T, et al.: Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72 (2): 1027–1033.
 - 35) Biagi E, Candela M, Fairweather-Tait S, Franceschi C, Brigidi P: Ageing of the human metaorganism: the microbial counterpart. *Age* 2012; 34 (1): 247–267.
 - 36) Sim K, Cox MJ, Wopereis H, Martin R, Knol J, Li MS, et al.: Improved detection of bifidobacteria with optimised 16S rRNA-gene based pyrosequencing. *PLoS one* 2012; 7 (3): e32543.

- 37) Mitsuoka T, Hayakawa K, Kimura N: The faecal flora of man. II. The composition of bifidobacterium flora of different age groups (author's transl). *Zentralbl Bakteriolog Orig A* 1974; 226 (4): 469-478.
- 38) Woodmansey EJ, McMurdo ME, Macfarlane GT, Macfarlane S: Comparison of compositions and metabolic activities of fecal microbiotas in young adults and in antibiotic-treated and non-antibiotic-treated elderly subjects. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70 (10): 6113-6122.
- 39) Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimaraes VD, Sokol H, Dore J, et al.: The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol* 2009; 9 (1): 1.
- 40) Odamaki T, Kato K, Sugahara H, Hashikura N, Takahashi S, Xiao JZ, et al.: Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol* 2016; 16 (1): 1.
- 41) Woodmansey EJ: Intestinal bacteria and ageing. *J Appl Microbiol* 2007; 102 (5): 1178-1186.
- 42) Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, Power SE, O'Connor EM, Cusack S, et al.: Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature* 2012; 488 (7410): 178-184.
- 43) Rampelli S, Candela M, Turroni S, Biagi E, Collino S, Franceschi C, et al.: Functional metagenomic profiling of intestinal microbiome in extreme ageing. *Aging (Albany NY)* 2013; 5 (12): 902-912.
- 44) van Tongeren SP, Slaets JP, Harmsen HJ, Welling GW: Fecal microbiota composition and frailty. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71 (10): 6438-6442.
- 45) Lahtinen SJ, Tammela L, Korpela J, Parhiala R, Ahokoski H, Mykkänen H, et al.: Probiotics modulate the Bifidobacterium microbiota of elderly nursing home residents. *Age* 2009; 31 (1): 59-66.
- 46) Walton GE, van den Heuvel EG, Kusters MH, Rastall RA, Tuohy KM, Gibson GR: A randomised crossover study investigating the effects of galactooligosaccharides on the faecal microbiota in men and women over 50 years of age. *Br J Nutr* 2012; 107 (10): 1466-1475.
- 47) An HM, Baek EH, Jang S, Lee DK, Kim MJ, Kim JR, et al.: Efficacy of Lactic Acid Bacteria (LAB) supplement in management of constipation among nursing home residents. *Nutr J* 2010; 9 (1): 1.
- 48) Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, Rogers TR, Want S, Rajkumar C, et al.: Use of probiotic Lactobacillus preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ* 2007; 335 (7610): 80.
- 49) Allen SJ, Wareham K, Wang D, Bradley C, Hutchings H, Harris W, et al.: Lactobacilli and bifidobacteria in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and Clostridium difficile diarrhoea in older inpatients (PLACIDE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2013; 382 (9900): 1249-1257.
- 50) van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al.: Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile. *N Engl J Med* 2013; 368 (5): 407-415.
- 51) Dominguez-Bello MG, Blaser MJ, Ley RE, Knight R: Development of the human gastrointestinal microbiota and insights from high-throughput sequencing. *Gastroenterology* 2011; 140 (6): 1713-1719.
- 52) Yang HY, Liu SL, Ibrahim SA, Zhao L, Jiang JL, Sun WF, et al.: Oral administration of live Bifidobacterium strains isolated from healthy centenarians enhanced immune function in BALB/c mice. *Nutr Res* 2009; 29 (4): 281-289.