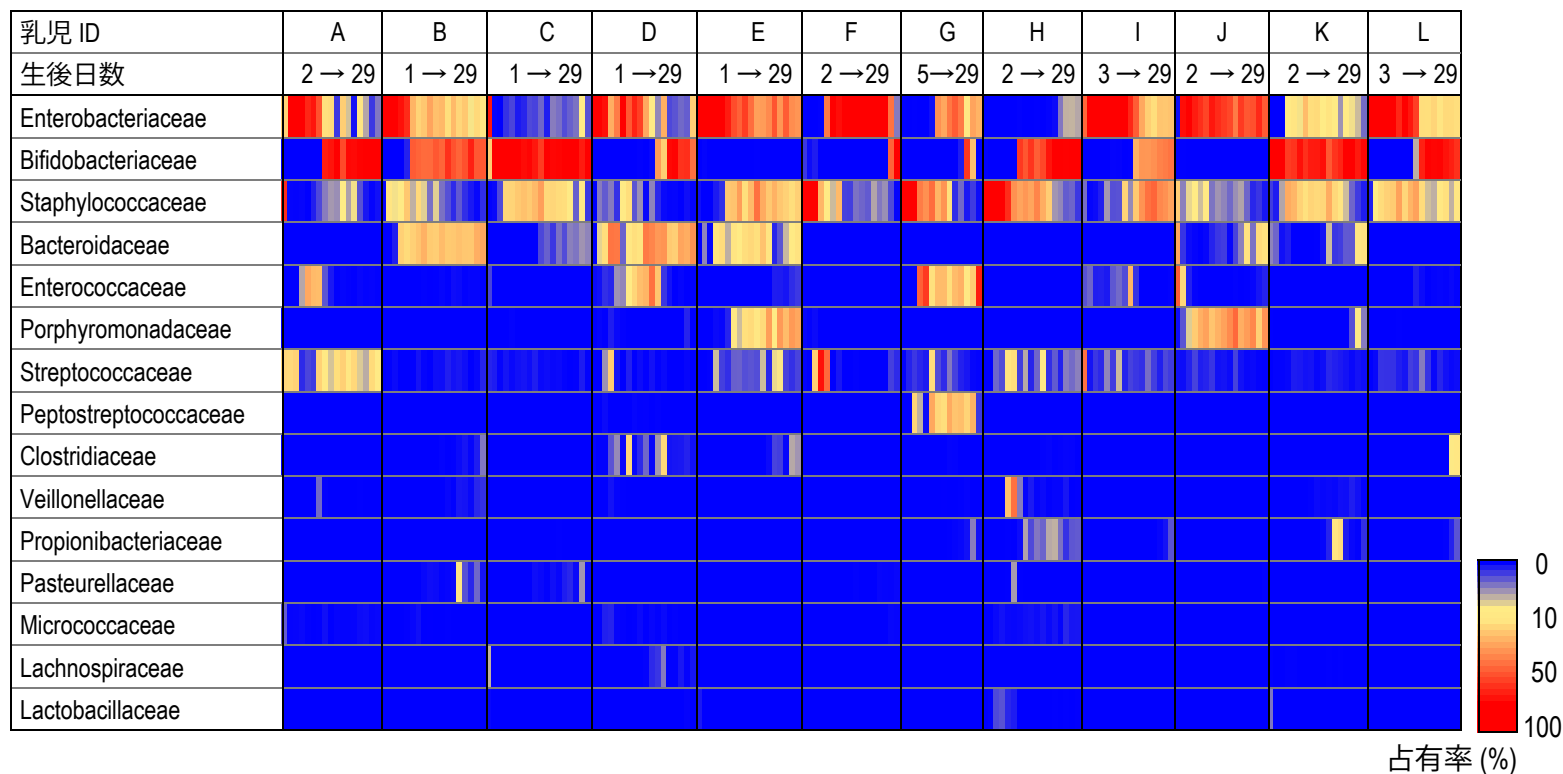
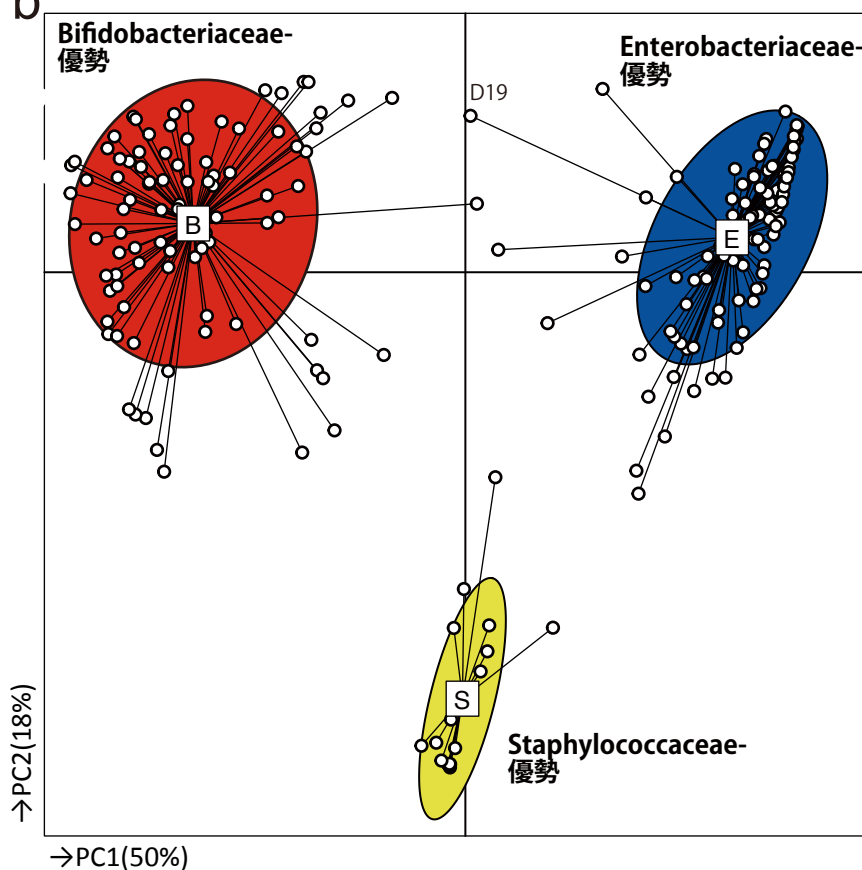


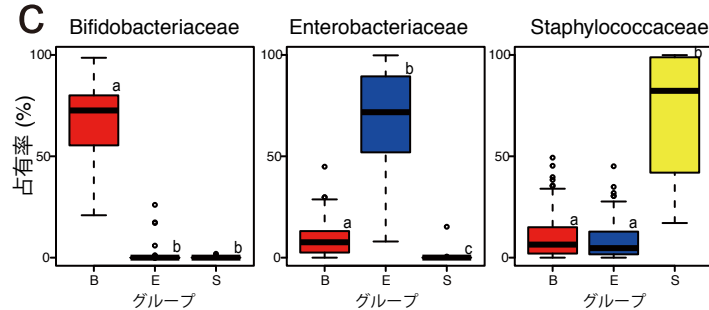
a



b



c



d

乳児 ID	生後日数																		
	1	2	3	4	5	6	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	
J	-	S	E	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
F	-	S	S	S	S	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	B	B	B
G	NT	NT	-	NT	S	S	S	S	S	S	Y	E	E	E	B	B	B	B	E
I	NT	NT	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	B	B	B	B	B	B
D	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	B	E	B	B	B	B
L	NT	NT	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	B	B	B	B	B	B
A	-	S	E	E	E	E	E	E	E	E	B	B	B	B	B	B	B	B	B
H	NT	S	S	S	S	S	S	S	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
B	E	E	E	E	E	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
C	E	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
K	NT	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

図 1. 生後 1 か月間の乳児腸内フローラ構成の変化. (a) ヒートマップ解析結果: 各被験者の生後 1 か月間の腸内フローラ構成を、時間経過に沿って左から右にカラーで示した. (b) 多変量&クラスター解析結果: 白丸は被験者サンプル、四角は各グループの中心を示す. ビフィズス菌優勢、大腸菌群優勢、Staphylococcaceae が優勢のフローラを、それぞれ B (赤)、E (青)、S (黄) で示した. 色づけされた楕円には各グループに属するサンプルの 67% が含まれる. (c) 各クラスターを特徴付ける菌種の占有率をボックスプロットにて比較した. ボックス右上の異なるアルファベット (a-c) は、群間で占有率が有意に異なることを示す ($p < 0.05$, マンホイットニー U 検定). (d) 生後の日数経過と優勢菌種の遷移.

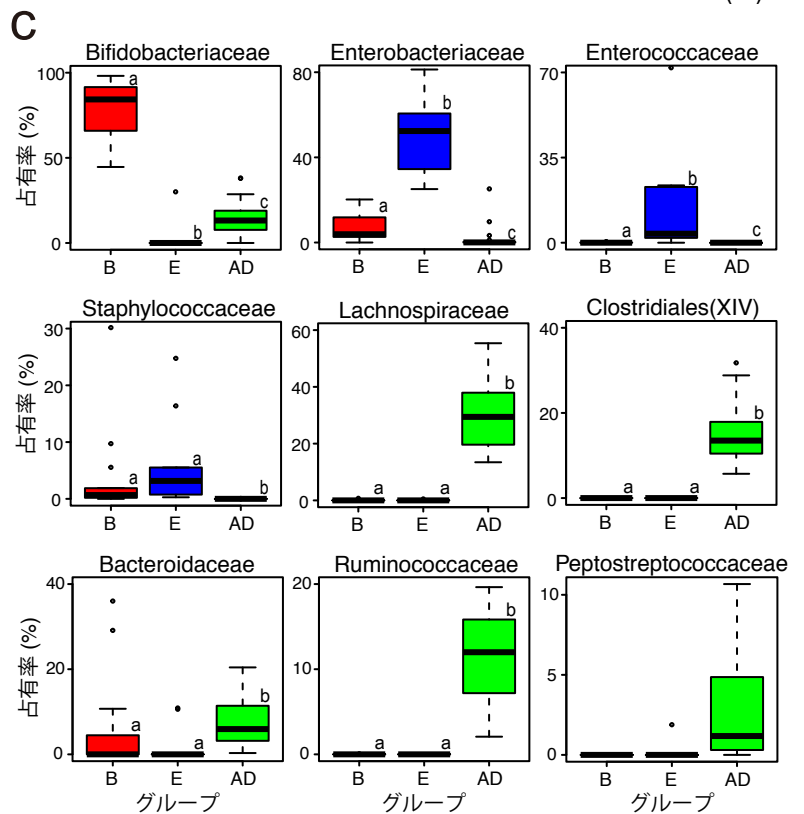
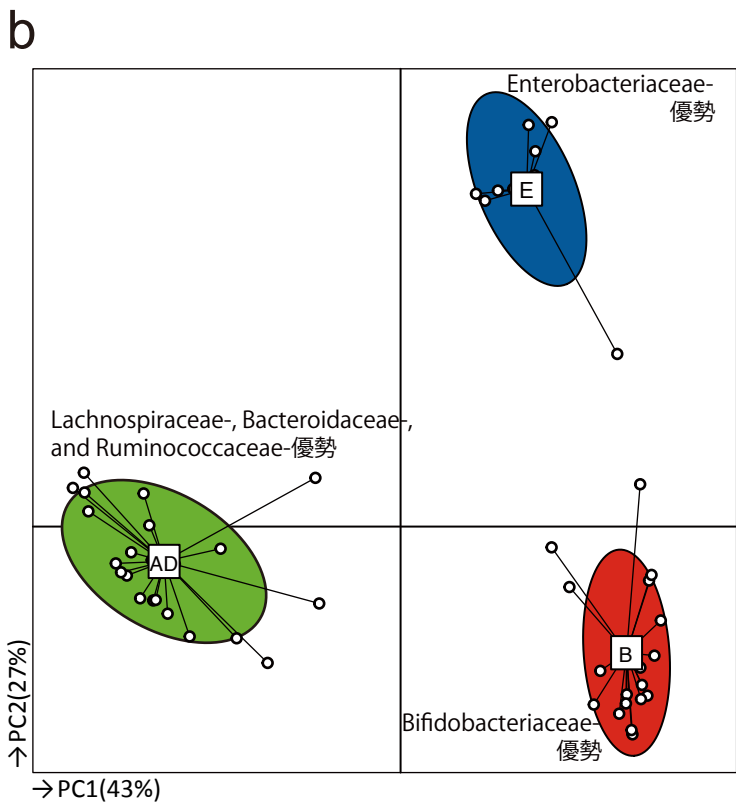
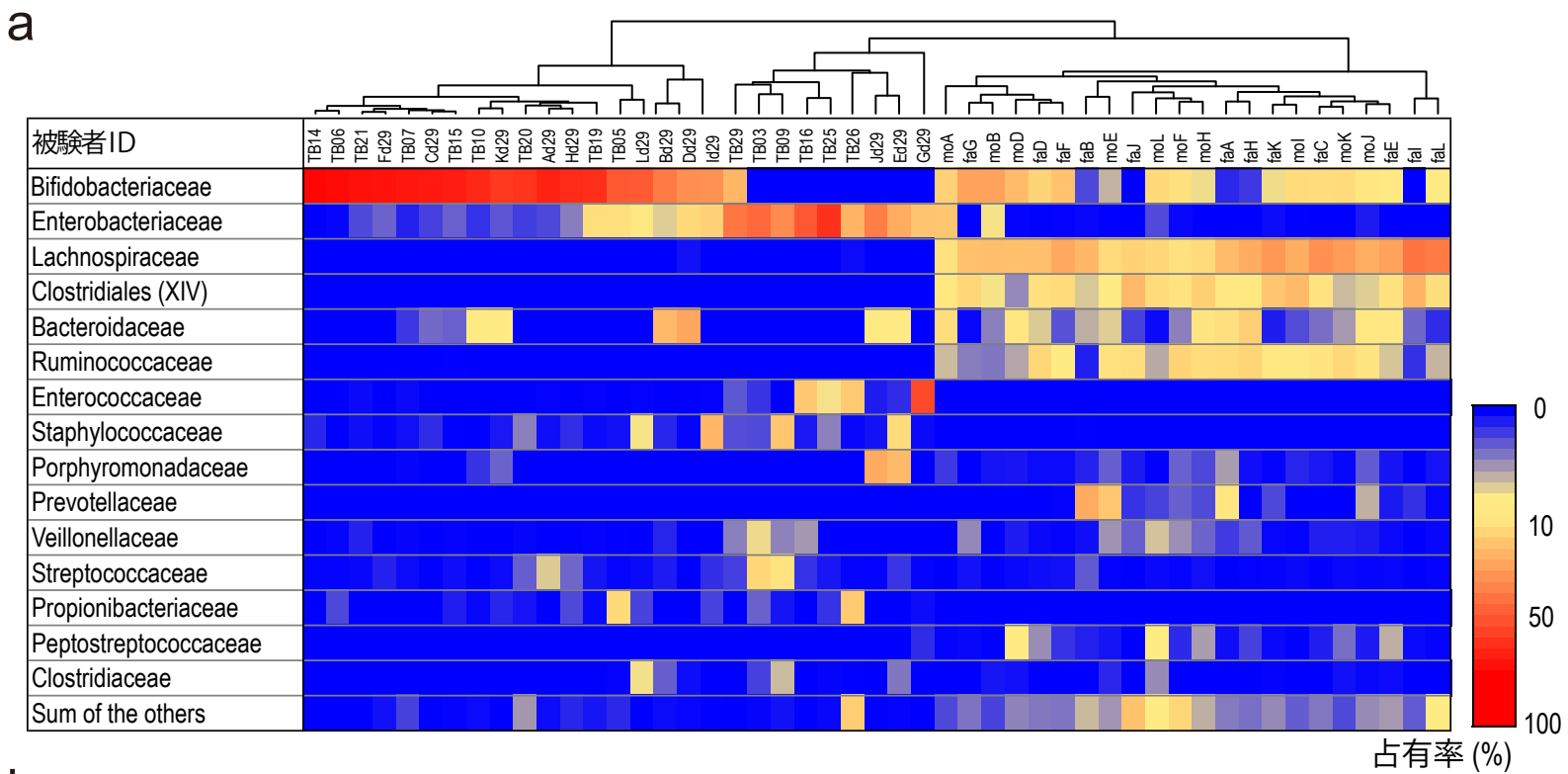
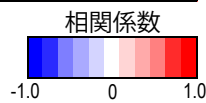


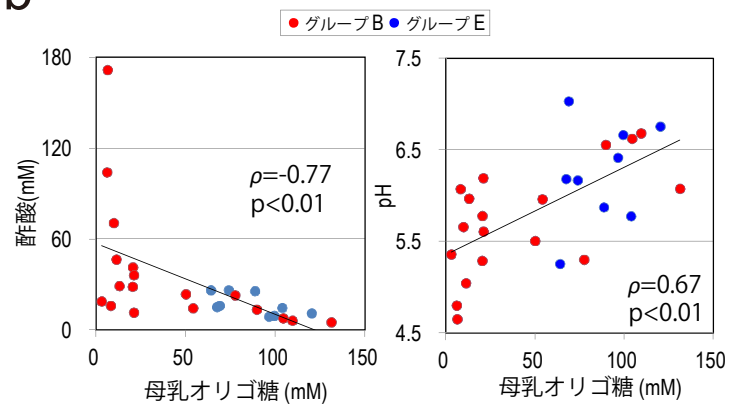
図 2. 1 か月目の乳児(27 名)と成人(22 名)の腸内フローラ構成の比較. (a) ヒートマップ解析結果: 腸内フローラ構成に基づく階層的クラスタリングを行い、作成した樹形図を元にサンプルを並べ替えた(図上部). (b) 多変量解析結果(PCoA&PAM): ビフィズス菌優勢、大腸菌群優勢、成人型フローラを、それぞれ B(赤)、E(青)、AD(黄緑)で示した. (c) 各クラスターを特徴付ける菌群の占有率をボックスプロットにて比較した. ボックス右上の異なるアルファベット(a-c)は、群間で占有率が有意に異なることを示す($p < 0.05$, マンホイットニーU 検定).

a

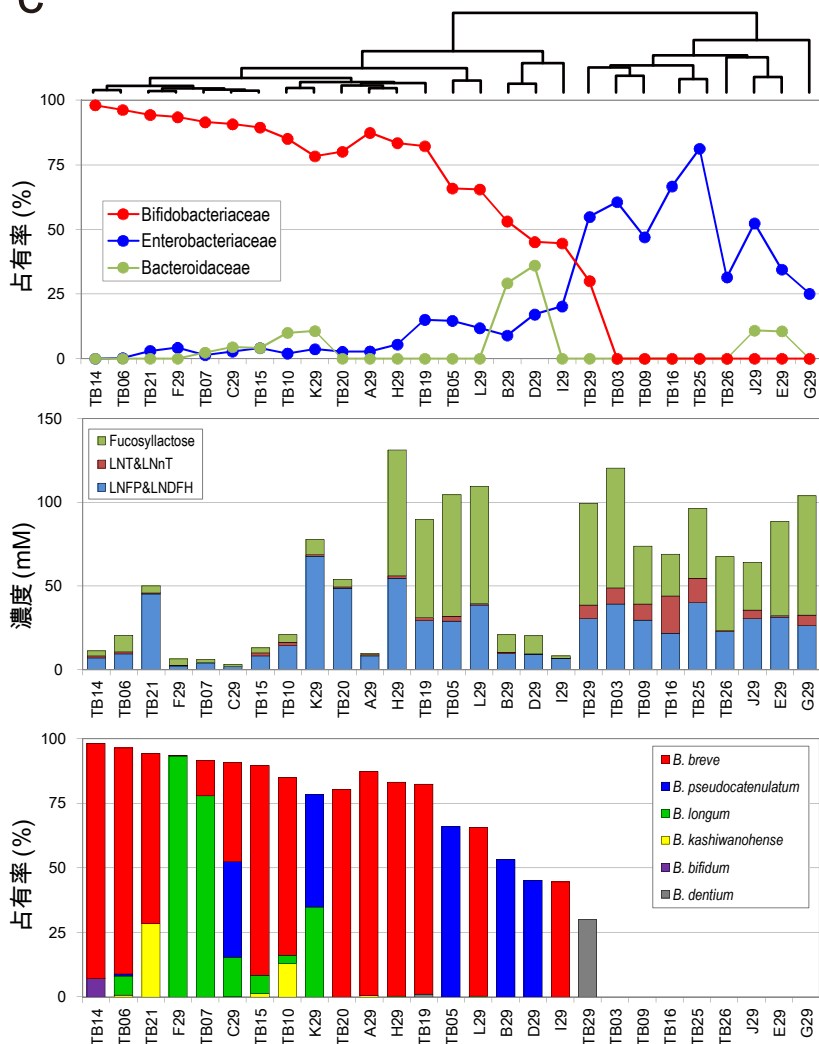
	平均 ± SD	便中有機酸濃度 (mM)					母乳オリゴ糖 (mM)				
		pH (5.9±0.6)	酢酸 (30.5±35.3)	乳酸 (12.9±31)	コハク酸 (8.9±12)	総有機酸 (54.7±65.1)	総菌数 (Log 10.2±0.4)	FL (28.8±28.2)	LNT+LNnT (3.5±5.2)	LNFP+LNDFH (24.7±17.5)	総HMO (57±41.7)
Bifidobacteriaceae	54 ± 39	-0.53	0.47	0.39	-0.58	0.36	0.67	-0.59	-0.48	-0.40	-0.56
Enterobacteriaceae	21 ± 24	0.59	-0.49	-0.32	0.50	-0.39	-0.67	0.61	0.54	0.35	0.57
Enterococcaceae	5.1 ± 15	0.31	-0.25	-0.15	0.33	-0.15	-0.34	0.35	0.33	0.20	0.34
Bacteroidaceae	4.4 ± 9	-0.43	0.29	-0.06	0.34	0.20	-0.14	-0.24	-0.29	-0.15	-0.31
Staphylococcaceae	4.2 ± 7.6	0.38	-0.49	-0.13	0.02	-0.46	-0.58	0.20	0.11	0.39	0.32
Porphyromonadaceae	2.6 ± 8.5	-0.43	0.32	0.12	0.21	0.32	-0.23	-0.08	0.00	0.16	-0.04
Streptococcaceae	2.4 ± 4.3	0.45	-0.22	0.09	-0.13	-0.18	-0.21	0.13	0.22	0.29	0.26
Propionibacteriaceae	2.4 ± 5.3	0.46	-0.49	-0.60	-0.03	-0.47	-0.03	0.46	0.31	0.38	0.51
Veillonellaceae	1.1 ± 2.4	0.47	-0.23	-0.07	-0.01	-0.23	-0.21	0.13	0.31	0.22	0.19
Clostridiaceae	1.1 ± 2.6	0.44	-0.35	-0.42	0.25	-0.33	-0.25	0.48	0.10	0.25	0.40



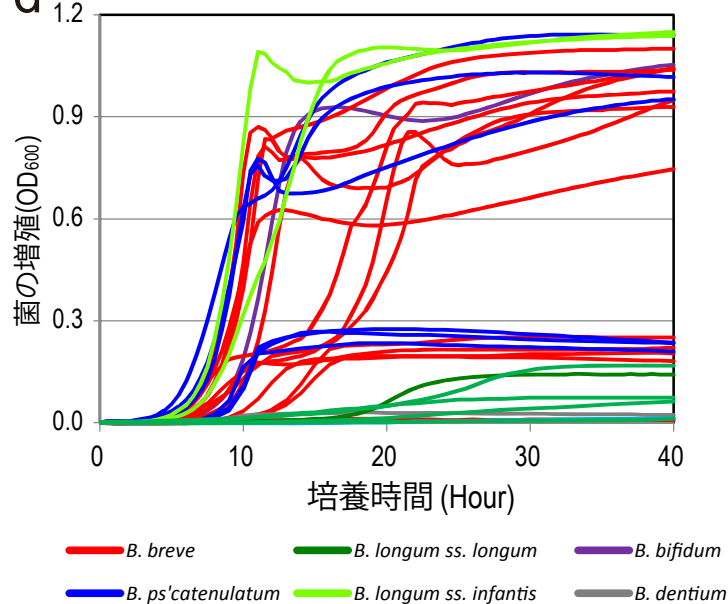
b



c



d



e

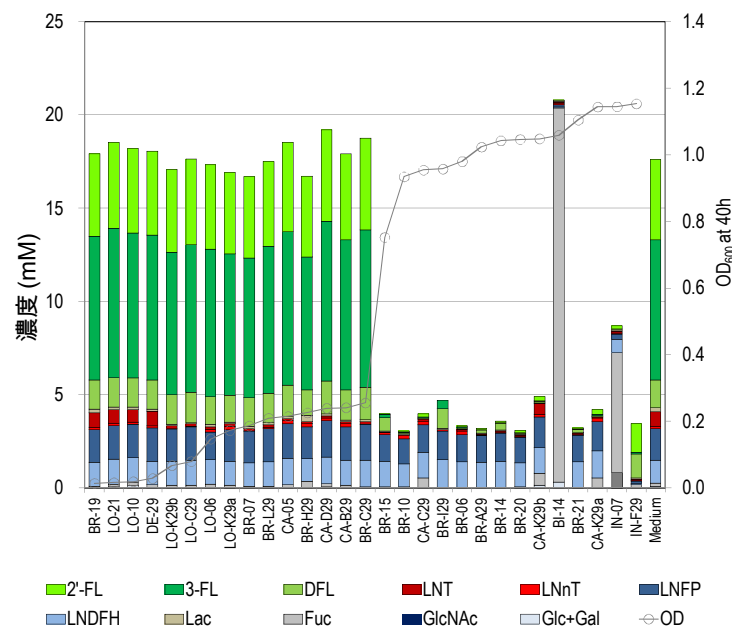


図3. 腸内フローラ構成と腸内環境の関連性. (a) スピアマンの順位相関係数: 腸内フローラ構成菌と腸内環境を比較した. (b) 便中残存オリゴ糖濃度と pH 値および酢酸濃度の関連性. (c) 腸内フローラ構成と便中のオリゴ糖濃度、およびビフィズス菌種の占有率との関係. 腸内フローラ構成に基づく階層的クラスタリングを行い、作成した樹形図を元にサンプルを並べ替えた (図上部). (d) 乳児から分離した 29 株のビフィズス菌を母乳オリゴ糖を唯一の糖源として培養した時の増幅曲線. (e) 培養上清の残存オリゴ糖解析結果、顕著な増殖が認められた株では、母乳オリゴ糖の主成分の FL がほとんど消費されている.

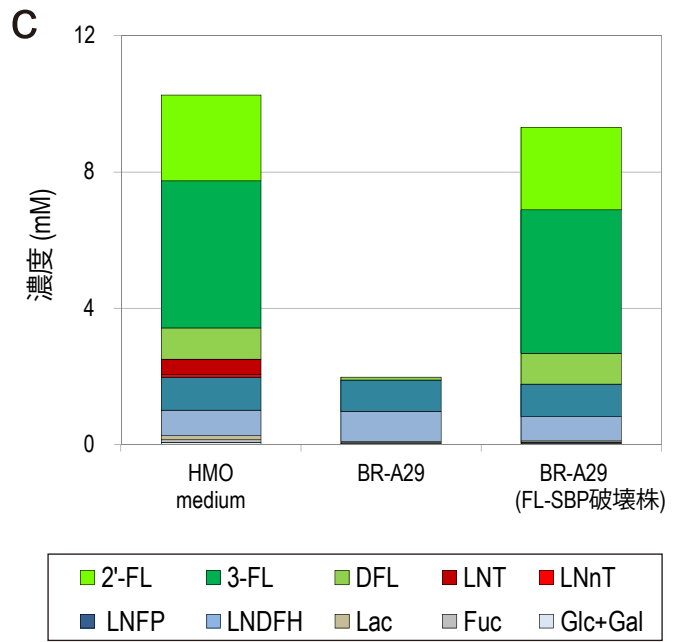
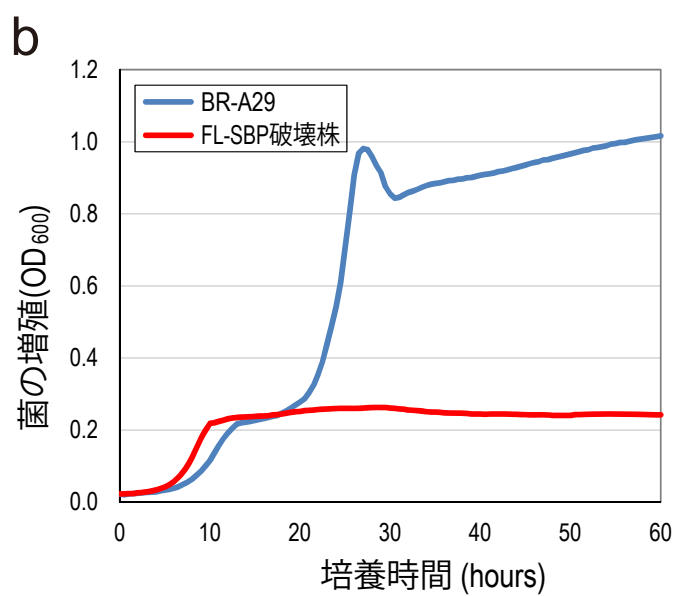
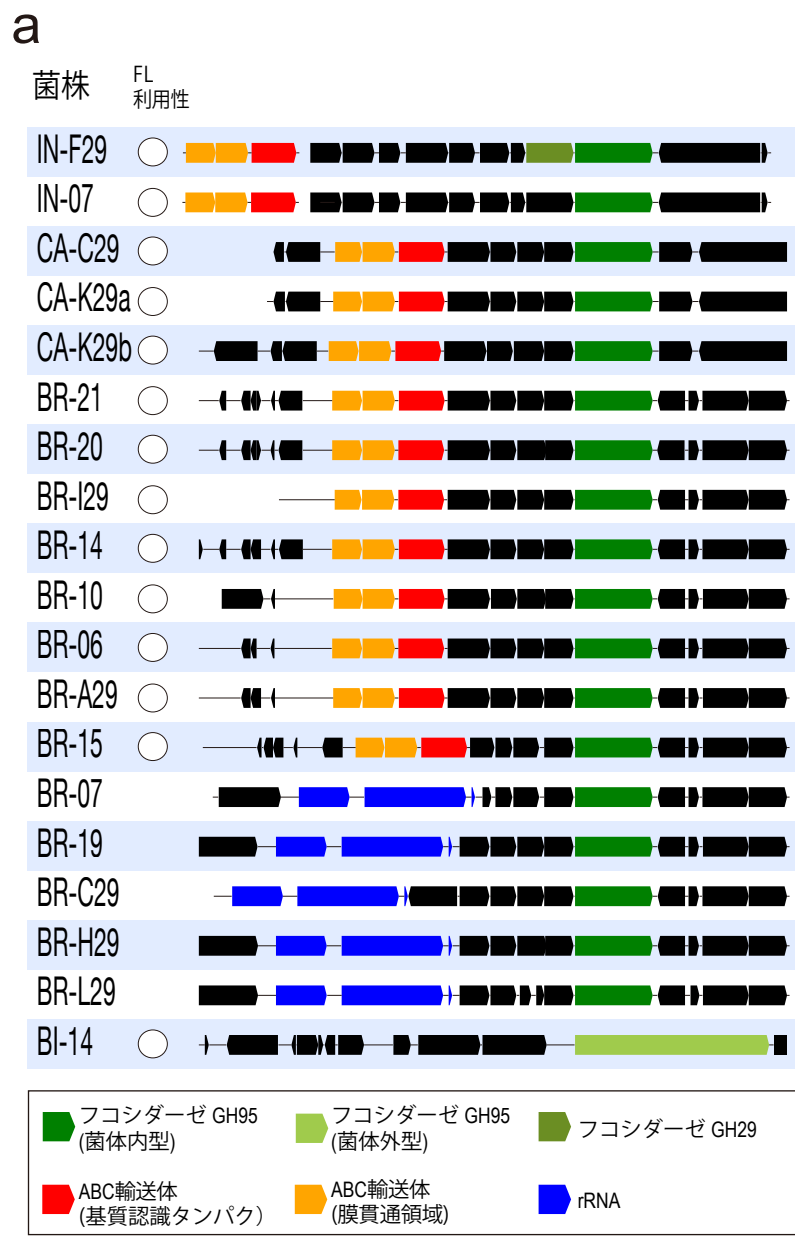


図4. 母乳オリゴ糖の利用に関わる遺伝子の同定. (a) フコシダーゼ遺伝子 (GH95 および GH29 ファミリー遺伝子) の近傍の遺伝子配置. 矢印は遺伝子がコードされている方向性を示す. (b) フコシダーゼ近傍の ABC 輸送体 (FL-SBP) の遺伝子破壊株. (c) 培養上清の残存オリゴ糖解析結果. 破壊株では、FL が利用できなくなっていることが確認された.

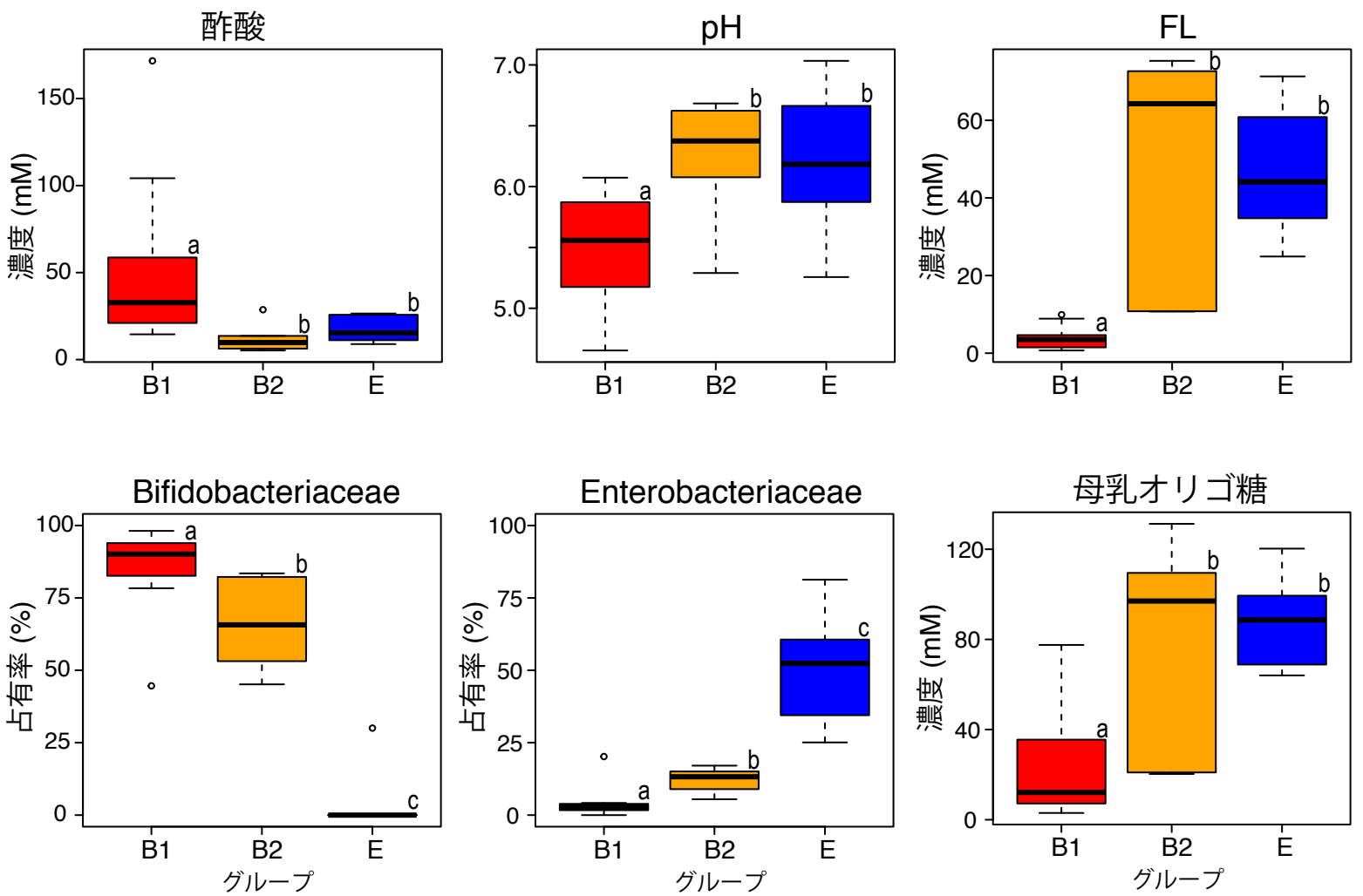


図5. FL 利用ビフィズス菌の定着による腸内微生物生態系への影響. FL 利用ビフィズス菌が優勢の乳児 (B1 グループ)、FL 非利用ビフィズス菌が優勢の乳児 (B2 グループ)、大腸菌群が優勢の乳児 (E グループ) の比較をボックスプロットで表した。ボックス右上の異なるアルファベット(a-c)は、群間で占有率が有意に異なることを示す(p<0.05、マンホイットニーU 検定)。

表1. ビフィズス菌 29 株のドラフトゲノム解析結果の概要

菌株	ゲノムサイズ (Mbp)	予測 遺伝子数	HMO培地での 増殖性	フコシダーゼ		HG_2571
				GH29	GH95	ABC輸送体基質 認識タンパク
<i>B. breve</i> BR-06, BR-10, BR-14, BR-15, BR-20, BR-21, BR-A29, BR-I29 (8株)	2.2-2.7	1,928-2,368	+	-	+	+
<i>B. breve</i> BR-07, BR-19, BR-C29, BR-H29, BR- L29 (5株)	2.2-2.5	1,955-2,224	-	-	+	-
<i>B. longum</i> ss. <i>infantis</i> IN-07, IN-F29 (2 株)	2.6-2.7	2,356-2,441	+	+	+	+
<i>B. longum</i> ss. <i>longum</i> LO-06, LO-10, LO-21, LO-C29, LO-K29a, LO-K29b (6 株)	2.4-2.7	1,987-2,209	-	-	-	-
<i>B. pseudocatenulatum</i> CA-C29, CA-K29a, CA- K29b (3株)	2.2-2.5	1,825-2,168	+	-	+	+
<i>B. pseudocatenulatum</i> CA-05, CA-B29, CA- D29 (3株)	2.2-2.3	1,896-1,904	-	-	-	-
<i>B. bifidum</i> BI-14	2.2	1,779	+	+	+	-
<i>B. dentium</i> DE-29	2.6	2,127	-	+	-	-