

## 腸内細菌叢クラスターと中医体質に関するパイロット調査

徳井教孝<sup>1</sup> 木村秀樹<sup>2</sup> 嶋川成浩<sup>2</sup> 三成由美<sup>3</sup>

1. 産業医科大学健康・予防食科学研究室
2. 西部ガス株式会社総合研究研修所
3. 中村学園大学栄養科学部

(2014年8月11日 受理)

### キーワード

### 要旨

漢方治療と腸内細菌叢には密接な関連があり、詳細な腸内細菌叢の科学的分析が可能であれば、腸内細菌叢分析をもとに証の判定が可能となることが期待される。そこで、今回地域住民を対象にした健康調査のデータを用いて、腸内細菌叢をクラスター分析して得られた6つタイプと8つの中医体質（気虚、脾虚、陽虚、血虚、陰虚、気滞、湿熱、血瘀）の関連を検討するパイロット調査を行った。タイプ1では陰虚、湿熱、タイプ2では気虚、脾虚、タイプ4は気虚、脾虚、血虚、気滞、タイプ5は陽虚、血虚、血瘀、タイプ6湿熱との関連性が推測された。タイプ4は特徴的な体質がみられず中医学的には平の体質と考えられた。今回用いた腸内細菌叢分析法と体質評価法は妥当性の問題が残っており、今後さらに精度を上げた分析法、調査法を実施して腸内細菌叢と体質の関連を検討していく必要がある。

### 目的

いくつかの漢方薬の薬効発現には腸内細菌叢による代謝が重要な役割を果していることが科学的に証明されている(1)。そのため、腸内細菌叢の個人差が適正な処方決定に大きな影響を及ぼすことが想定される。中医学では個人への処方を行うときは、その人の証を鑑別して処方する弁証施治が行われている。しかし、弁証は客観的な診断という面ではかなりきびしい内容となっており、証の科学的診断は重要な課題となっている。腸内細菌叢が漢方治療と密接な関連があり、腸内細菌叢の科学的分析が可能であれば、腸内細菌叢の分析をもとに、漢方の選択と治療が可能となることが期待される。そこで、今回、地域住民を対象にした健康調査データをもと

に、腸内細菌叢データからタイプを分類しそのタイプと体質の関連を検討するパイロット調査を行った。さらにそれぞれの腸内細菌叢タイプに対する薬膳の機能性についても述べる。

### 方法

#### 1. 対象者

上毛町住民全男女30～79歳の2259名のうち腸内細菌叢分析を希望した395名である。

#### 2. 調査方法

調査は対象者に自己記入式で行ってもらい、調査票を郵送し配布、回収した。

#### 3. 調査内容

##### 1) 生活習慣

対象者の生活習慣に関する調査内容は、運動の頻度、喫煙状況、飲酒の頻度、ストレスを感じる頻度、朝食の摂取頻度、睡眠時間の6項目である。

##### 2) 排便状況

対象者の排便状況に関する調査内容は、一週間当たりの排便回数、排便時のりきみ、排便時の肛門の痛み、排便のだいたいの量、普段の便の色、普段の便の硬さ、普段の便の形状、おならの頻度、おならのにおい、便が便器の底に沈むか、便秘薬服用の有無、便秘薬服用者の服用頻度の12項目である。

##### 3) 体質調査(付表1)

対象者の体質調査に関する調査内容は、疲れやすい、身体がだるい、風邪を引きやすい、汗が出やすい、食欲がない、食後に眠たくなる、下痢しやすいなど30項目である。

##### 4) 食習慣

対象者の食習慣に関する調査内容は、ヨーグルトの摂取頻度、味噌汁の摂取頻度、ご飯の摂取頻

度、朝食のタイプ、食生活全般についての5項目である。

5) 中医体質スコア

付表1に示した体質調査票を用いて、個々人の体質(気虚、脾虚、陽虚、血虚、陰虚、気滞、湿熱、血瘀)のスコアを算出した。

6) 腸内細菌叢分析<sup>(2, 3)</sup>

腸内細菌叢の分析は、T-RFLP (Nagashima 法)で解析した。T-RFLPを簡単に説明すると末端を蛍光標識したプライマーを用いてPCRをおこない、その増幅産物を制限酵素処理後、DNAシーケンサーによりフラグメント解析し、蛍光標識された末端DNA断片を検出する。そして、各DNA断片の大きさ、蛍光強度により細菌構成を比較する方法である。16S rDNAを標的とした解析が多く、この塩基配列は細菌種により異なり、制限酵素による切断部位も細菌種によって異なる為、得られるDNA断片が細菌種固有であるということに基づいている。また、16S rDNAの情報を利用しやすく、DNA断片がどの細菌種に由来するのかを推定できる。データの解釈には配列データの充実が必要となり、ヒト腸内細菌叢のT-RFLP解析のため、最優勢に存在する342菌種の専用データベースが構築されている。操作は比較的簡単ではあるが、異なる細菌種でも同じ長さのDNA断片を生じることがあり、系統的に近縁な細菌種間では同じ長さのDNA断片を生じることが多いので、使用する制限酵素の種類を増やし、分離能を上げることも必要である。また、定量性に欠け、PCRのバイアスについても考慮する必要がある。T-RFLPでは105cfu/g以上の細菌種が検出可能であるとされている。

4. データ解析

腸内細菌叢のデータをクラスター分析して、6つのタイプに分類した。この6つの腸内細菌叢タイプが各体質とどのような分布になっているのかを検討した。

結果及び考察

1. 腸内細菌叢のクラスター分析による6つの腸内細菌叢タイプ分類

図1に上毛町住民の腸内細菌叢のクラスター分析の結果を示している。それぞれの人数はタイプ1が65名、タイプ2が42名、タイプ3が62名、タイプ4が65名、タイプ5が67名、タイプ6が8名となり、タイプ6が少数となった。また男女別にみると(%)、

それぞれタイプ1が21.5、20.4、タイプ2が12.8、14.6、タイプ3が15.1、26.3、タイプ4が22.7、18.9、タイプ5が25.0、17.5、タイプ6が2.9、2.2であった。タイプ4と5は男性に多く、タイプ3は女性に多い傾向がみられた。

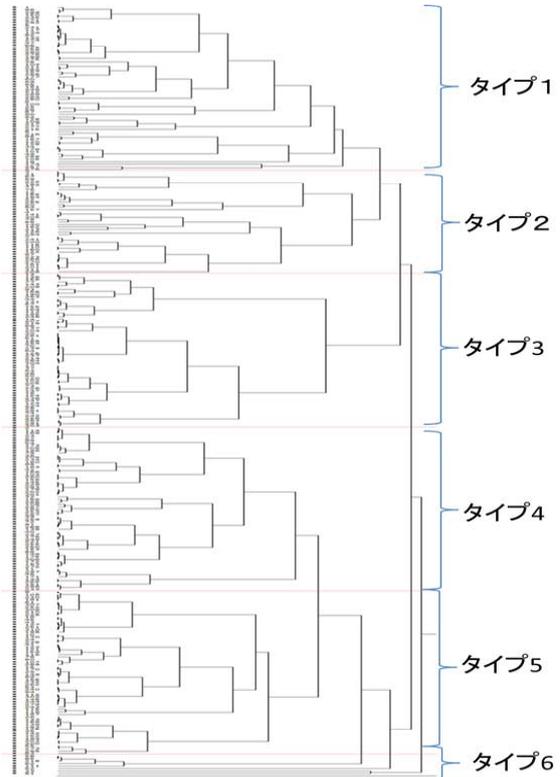


図1. 腸内細菌叢のクラスター分析

2. 腸内細菌叢タイプとビフィズス菌、乳酸菌の高割合者の比率

腸内細菌叢の分析からのビフィズス菌、乳酸菌の構成割合が得られた。これをもとにビフィズス菌、乳酸菌の構成割合の上位30%を高割合者と定義して、タイプ別の高割合者を検討し、図2に示した。ビフィズス菌の高割合者の割合はタイプ1が18.5%、タイプ2が14.3%、タイプ3が19.4%、タイプ4が67.7%、タイプ5が26.9%、タイプ6が12.5%となった。タイプ4がビフィズス菌の割合が高いタイプであることが判明した。次に乳酸菌についてみると、タイプ1が26.2%、タイプ2が9.5%、タイプ3が54.8%、タイプ4が23.1%、タイプ5が23.9%、タイプ6が75.0%で、タイプ3が乳酸菌の割合が高いタイプであった。タイプ6は少人数なため高いと結論的なことはいえない。以上から、ビフィズス菌と乳酸菌の分布をタイプ別に総括すると、タイプ1はビフィズス菌がやや低く、乳酸菌は平均のタイプ、タイプ2はビフィズス菌、乳酸菌とも低いタイプ、タイプ3はビフィズ

ス菌が低く、乳酸菌が高いタイプ、タイプ4はビフィズス菌が高く、乳酸菌は平均のタイプ、タイプ5はビフィズス菌は平均、乳酸菌は平均、タイプ6はビフィズス菌が低く、乳酸菌が高いタイプといえる。これらの結果を表1、図2にまとめた。

表1. タイプ別の腸内細菌叢の割合

タイプ	ビフィズス菌	乳酸菌
1	低	中
2	低	低
3	低	高
4	高	中
5	中	中
6	低	高

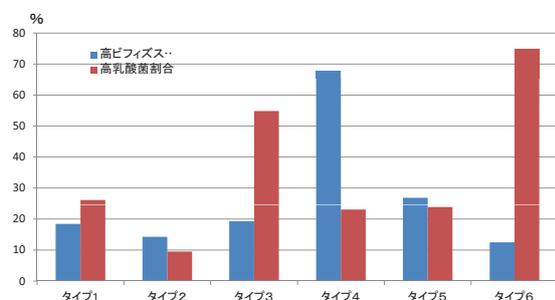


図2. 腸内細菌叢タイプとビフィズス菌、乳酸菌の高割合者の比率

### 3. 腸内細菌叢タイプ別の体質診断判定

次に8つの体質である気虚、脾虚、陽虚、血虚、陰虚、気滞、湿熱、血瘀について、各体質スコア得点の上位30パーセンタイルの者をそれぞれの体質傾向があると判定した。体質傾向の割合は気虚が28.0%、脾虚が32.1%、陽虚が32.1%、血虚が37.4%、陰虚が33.2%、気滞が19.4%、湿熱が35.4%、血瘀が20.4%を示した。そこでこの割合を基準に、各腸内細菌叢タイプと8つの体質について体質傾向がある割合を検討した。タイプ1では、陰虚、湿熱の割合が高値であった。陰虚、湿熱が高いことは、熱を冷ます津液が少ない体質傾向にあることがうかがえる(図3)。タイプ2では、気虚、脾虚が高い割合を示した。虚の体質が高いことは、根本的には気虚が存在しその影響で脾虚がみられるのではないかと考えられる(図4)。タイプ3は、8つの体質傾向の割合が基準値より低く、これらの体質の特徴があるとは考えにくいものであった。つまり、体質的には平に近い体質ではないかと思われた(図5)。タイプ4は、気虚、脾虚、血虚、気滞の割合が高かった(図6)。脾虚のため運化機能が失調し、気血虚を招いていると考えられる。また、気虚による気の循環が障害され気滞が生じやすい病態

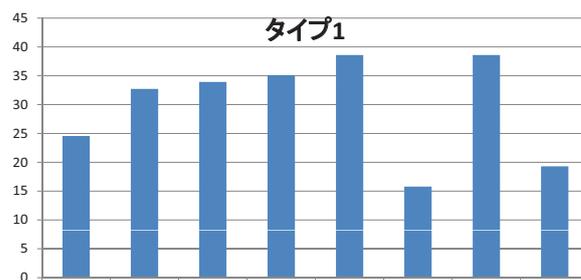


図3. タイプ1の気虚、脾虚、陽虚、血虚、陰虚、気滞、湿熱、血瘀

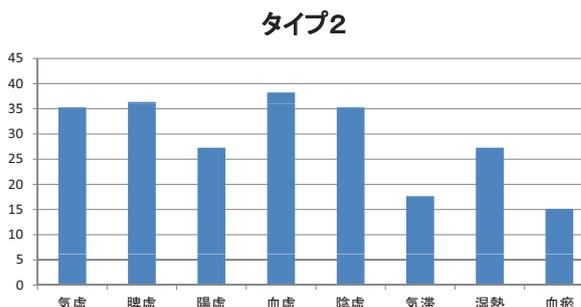


図4. タイプ2の気虚、脾虚、陽虚、血虚、陰虚、気滞、湿熱、血瘀

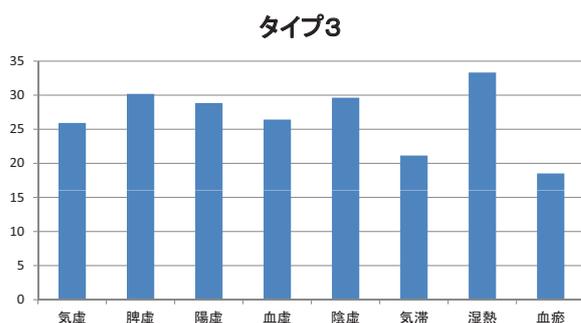


図5. タイプ3の気虚、脾虚、陽虚、血虚、陰虚、気滞、湿熱、血瘀

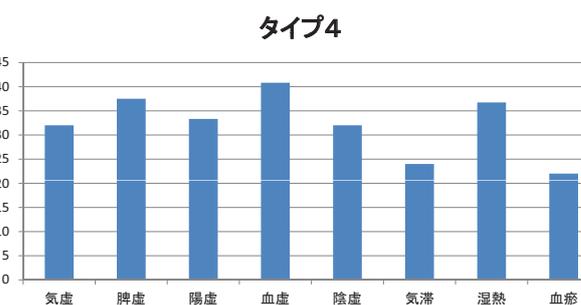


図6. タイプ4の気虚、脾虚、陽虚、血虚、陰虚、気滞、湿熱、血瘀

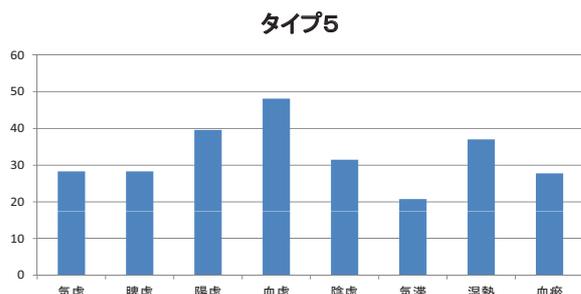


図7. タイプ5の気虚、脾虚、陽虚、血虚、陰虚、気滞、湿熱、血瘀

タイプ6

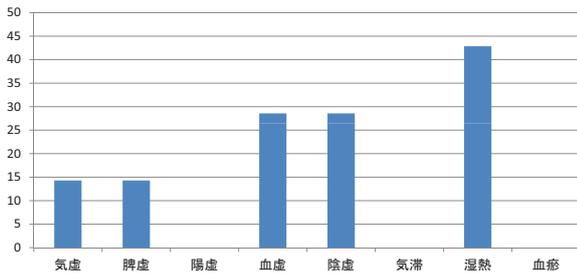


図8. タイプ6の気虚、脾虚、陽虚、血虚、陰虚、気滞、湿熱、血瘀

になっているのではないかとと思われる。タイプ5は、陽虚、血虚、血瘀が高い割合を示した。気虚が高くないにもかかわらず陽虚、血虚が高いことをどのように考えるのか検討が必要である（図7）。タイプ6は少人数のため割合の値は不安定であるが、湿熱が高い値を示した（図8）。

以上、タイプと体質、それとビフィズス菌、乳酸菌の関連をまとめて表2に示した。特徴的な体質が見られにくかったタイプ3には○印が付いていないが、タイプ4はビフィズス菌が高いタイプであるが体質的には問題のある体質の可能性があり、有用菌といわれるビフィズス菌と体質との関連をどのように考えるのか、今後検討していく必要がある。

4. 腸内細菌叢タイプ別と生活習慣

腸内細菌叢タイプ別と生活習慣の関連を表3に示した。タイプ1はヨーグルト摂取不足と関連を示し、ビフィズス菌の割合が低いことから整合性がみられた。タイプ2は食習慣で野菜不足、味噌汁摂取不足、朝食抜きなどと関連がみられることから、食習慣に問題があるタイプと考えられた。腸内細菌叢でもビフィズス菌、乳酸菌の両方が低いことから食習慣の問題が推測された。タイプ4は喫煙、運動不足、ストレス、肉好き、朝食抜き、味噌汁不足と健康的なライススタイルではないことがうかがえた。しかし、腸内細菌叢ではビフィズス菌が高いことから、ヨーグルト摂取も不足はないためプロバイオティクスなどの摂取があるタイプの可能性がある。しかし、これまでの生活習慣と健康状態の関連の研究から考えると、タイプ4の健康状態は必ずしもいいとはいえないため、腸内細菌叢のタイプを考える上で、このような場合どのように考えればいいのか、今後の重要な課題である。タイプ5は運動不足、ストレスがあることから、陽虚、血虚などと関連がみられた可能性がある。タイプ6は少人数のため生活習慣との関連は検討が難しかった。

表2. 腸内細菌叢タイプと体質（○は体質傾向有り）

タイプ	ビフィズス菌	乳酸菌	気虚	脾虚	陽虚	血虚	陰虚	気滞	湿熱	血瘀
1	低	中					○		○	
2	低	低	○	○						
3	低	高								
4	高	中	○	○		○		○		
5	中	低			○	○				○
6	低	高							○	

表3. 腸内細菌叢タイプと生活習慣（○は傾向有り）

タイプ	ビフィズス菌	乳酸菌	喫煙	運動不足	毎日飲酒	短睡眠時間	ストレス	野菜不足	肉好き	朝食抜き	味噌汁不足	ヨーグルト不足
1	低	中										○
2	低	低				○		○		○	○	
3	低	高			○			○				
4	高	中	○	○			○		○	○	○	
5	中	低		○			○					
6	低	高い										

### 5. 腸内細菌叢タイプと薬膳食材（4）

各体質にはその改善を行うための機能を有する薬膳食材がある。図3に示したように、各体質に対する機能を示した。理気は体内の循環を促進する作用、清熱は体を冷やす作用、活血化瘀は血行促進作用、化痰は痰を取り除く作用、利水滲湿は利尿作用がある。補気は気を補う作用、消食は消化機能を高める作用、補陰は陰を補う作用、祛風除湿は風邪を除去する作用がある。散寒は体を温める作用、解表は発汗作用、補血は血を補う作用、補陽は陽を補う作用、止咳（しがい）平喘（へいぜん）は咳や喘息を軽減したり止める作用がある。各タイプの体質に適した機能を検討すると、タイプ1は清熱、補陰、祛風除湿である。タイプ2は補気と消食、タイプ4は補気と消食と補血、タイプ5は補陽と補血、タイプ6は清熱、祛風除湿となる。タイプ3は体質的に特徴が存在しなかったため、今回は適合した機能性食材は述べなかった。

### 6. 今後の展開

腸内細菌叢の分析は腸内細菌の構成割合を検討したが、定量性に欠けており必ずしも対象者の腸内細菌叢を完全に反映しているとは限らない。構成割合においてもその割合の多様性も検討していくことが必要である。また、体質評価も今回の質問票ではまだ妥当性に問題があり、中医師の診断を活用して妥当性の高い体質調査票を導入して行く必要がある。そのため、今後は精度の高い腸内細菌叢分析と体質評価を行い、その関連を検討することが重要である。



図9. 8つの体質に対応する薬膳食材の機能

付表. 体質評価の調査票

症 状	1 よくあ	2 時々ある	3 あまりな し	4 ほとんどない
1. 疲れやすい	1	2	3	4
2. 身体がだるい	1	2	3	4
3. 風邪をひきやすい	1	2	3	4
4. 汗が出やすい	1	2	3	4
5. 食欲がない	1	2	3	4
6. 食後に眠たくなる	1	2	3	4
7. 下痢しやすい	1	2	3	4
8. 排便後も便が残る感じが ある	1	2	3	4
9. 食後にお腹が張りやすい	1	2	3	4
10. 腰や膝がだるく感じる	1	2	3	4
11. 夜間トイレに行く	1	2	3	4
12. 手足や身体が冷たいと感じ る	1	2	3	4
13. めまいや耳鳴りがある	1	2	3	4
14. 筋肉がつりやすい	1	2	3	4
15. 髪の毛が抜けやすい	1	2	3	4
16. 目がかすんだり疲れる	1	2	3	4
17. 顔色があまりよくない	1	2	3	4
18. 皮膚が乾燥しやすい	1	2	3	4
19. 手のひらや足の裏が熱っぽ い	1	2	3	4
20. 胸や腹が張った感じがする	1	2	3	4
21. 脇腹がつかえた感じがする	1	2	3	4
22. 喉がつかえた感じがする	1	2	3	4
23. 尿の色が濃い	1	2	3	4
24. 皮膚にかゆみを感じる	1	2	3	4
25. 湿疹ができる	1	2	3	4
26. 口がにがい	1	2	3	4
27. 皮下出血する	1	2	3	4
28. 目のまわりにくまができる	1	2	3	4
29. 肌が荒れやすい	1	2	3	4
30. 顔や身体ほてりを感じる	1	2	3	4

### 参考文献

1. 服部征雄、漢方薬の薬効には腸内細菌が関与する、腸内細菌学雑誌 26:159-169、2012
2. 藤澤倫彦、大橋雄二、腸内細菌検索法の変遷と現状、腸内細菌学雑誌 25:165-179、2011
3. 坂本光央、腸内フローラの構造解析：T-RFLP法を利用した腸内細菌叢の解析、腸内細菌学雑誌18:155-159、2004
4. 徳井教孝、三成由美、張再良、郭忻、薬膳と中医学、建帛社、2003