

2023年1月30日

報道関係者各位

シンバイオシス・ソリューションズ株式会社

## 日本人の腸内細菌叢には男女で違いが存在 —大規模な日本人腸内細菌叢データセットを用いた包括的な解析—

国際学術誌『*Biomedicines*』に掲載

当社の畑山らの研究チームは、日本人の大規模な腸内細菌叢データセットを用いて、日本人集団の腸内細菌叢における男女の違い（性差）を調査しました。その結果、腸内細菌叢には性差が存在し、且つそれが年齢の影響を受ける可能性があることを明らかにしました。また、同データセットを用いて12の疾病と関連する可能性のある腸内細菌を男女別に調査した結果、各疾病と関連する可能性のある腸内細菌の多くは、男女間および年代間で異なることを示しました。

本研究では、腸内細菌叢には性差が存在することを大規模なデータセットを用いて世界で初めて科学的に明らかにしました。この研究成果は、腸内細菌叢と疾病の関連性に関する研究や、腸内細菌叢をターゲットとする疾病の予防や治療のためのアプローチに関する研究を大きく前進させることにつながります。

本研究は、国際学術誌『*Biomedicines*』（2023年1月27日付）に掲載されました。

### ■研究概要

研究チームは、日本人の大規模な腸内細菌叢データセットを用いて、疾病に罹患していない日本人集団（男性2,136人、女性4,327人）の腸内細菌叢における性差を年代別に調査しました。その結果、腸内細菌叢には性差が存在し、且つそれが年齢の影響を受ける可能性があることが明らかになりました。20代から50代までの各年代間では、腸内細菌叢の多様性の面で性差の特徴が異なっていること、60代と70代では性差は小さくなる傾向があることがわかりました。性別で違いがある腸内細菌の菌属としては、男性では *Fusobacterium*、*Megamonas*、*Megasphaera*、*Prevotella*、および *Sutterella* が多い傾向、女性では *Alistipes*、*Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Odoribacter*、および *Ruthenibacterium* が多い傾向がありました（図1）。次に、12の疾病（潰瘍性大腸炎、2型糖尿病、胃炎、逆流性食道炎、腎臓病、肝臓病、不整脈、狭心症、緑内障、気管支喘息、花粉症、アトピー性皮膚炎）と関連する可能性のある腸内細菌を男女別・年代別に調査しました。その結果、各疾病と関連する可能性のある腸内細菌の多くは、男女間および年代間で異なりました。本研究の結果は、腸内細菌叢と疾病との関連性、および腸内細菌叢を標的とした疾病予防・治療法に関する研究を行う際には、年齢と性別を考慮する必要があることを示唆しています。

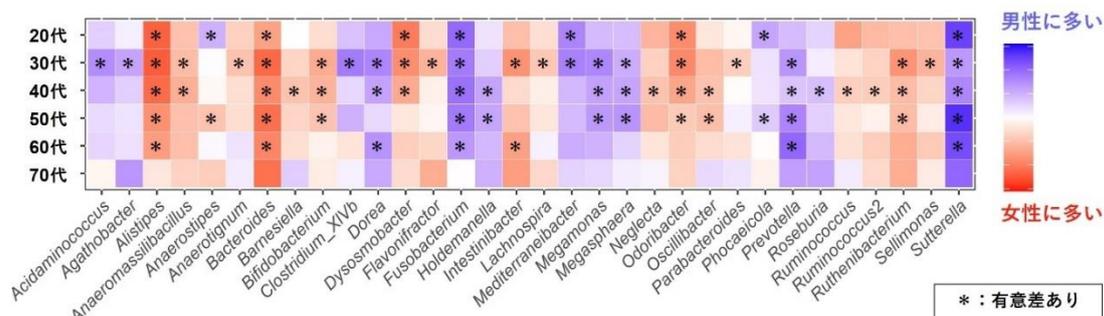


図1：日本人の男女間で違いがみられた腸内細菌の菌属

疾病に罹患していない日本人男女の腸内細菌叢を菌属レベルで年代ごとに比較し、男性と女性のそれぞれに多い菌属を色の濃淡で示しました。有意差が認められた区分には\*を付しています。

## ■背景

腸内細菌叢<sup>\*1</sup>の構成は各人で異なります。各人の腸内細菌叢の構成が異なる要因の1つとして年齢が知られていましたが、性別も腸内細菌叢の構成に影響を与える可能性が考えられます。しかしながら、日本人集団の腸内細菌叢における性別の影響については、研究によって相反する結果が報告されていました。つまり、腸内細菌叢に性差が存在するかどうかについては、これまでは明確ではありませんでした。先行研究の相反する結果は、解析する対象集団（年齢構成）の選択の違いや、小さなサンプルサイズに影響された可能性が考えられました。そこで本研究では当社が有する日本人の大規模な腸内細菌叢データセットを用いて、日本人集団を性別・年代ごとに分け、腸内細菌叢における性差を調査しました。

近年、腸内細菌叢は、様々な疾病の発症や経過に関連していることが明らかとなってきています。もし、ヒトの腸内細菌叢に性差があるとすれば、疾病に関連する腸内細菌も男女間で異なる可能性があり、その場合は男性と女性で異なる治療アプローチが必要となります。そのため、本研究では、疾病と関連する可能性のある腸内細菌に男女間で違いがあるかどうかについても調査を行いました。

## ■研究手法と成果

研究チームは、大規模な日本人腸内細菌叢データセットから疾病に罹患していない日本人集団を選抜し（表1）、年代別に男女の腸内細菌叢を比較しました（疾病も腸内細菌叢に影響を与えるため、疾病に罹患していない人を解析対象にしました）。各人の腸内細菌叢は、便検体から得られた16S rRNA 遺伝子配列<sup>\*2</sup>のデータを次世代シーケンサー<sup>\*3</sup>を用いて解析することで決定しました。

表 1. 疾病に罹患していない日本人男女の各年代の人数と年齢  
(各年代の男女の年齢には有意差は認められませんでした)

年代 (年齢)	男性		女性	
	人数	年齢 (平均 ± SD)	人数	年齢 (平均 ± SD)
20代 (20-29)	194	24.8±3.0	377	24.6±3.0
30代 (30-39)	382	35.3±2.8	741	35.1±2.9
40代 (40-49)	569	44.5±2.8	1298	44.7±2.8
50代 (50-59)	505	54.2±2.9	1117	53.9±2.8
60代 (60-69)	360	64.2±2.9	625	64.1±2.8
70代 (70-79)	126	72.8±2.7	169	72.8±2.8

年代別に男女の腸内細菌叢を比較するにあたり、腸内細菌叢の $\alpha$ 多様性<sup>\*4</sup>解析と $\beta$ 多様性<sup>\*5</sup>解析を行いました。 $\alpha$ 多様性解析では、Shannon、Simpson、Richness（属数）、Pielouの4つの指数を用いた解析を実施しました。その結果、20代ではShannon、Simpson、およびRichnessの3つの指数、30代ではSimpsonおよびRichnessの2つの指数、40代ではShannon、SimpsonおよびPielouの3つの指数、50代では4つすべての指数で女性が男性に比べ有意に高い値を示しました（図2）。20代～50代では各年代によって異なる指数に有意差が見られたことから、性差が腸内細菌叢の $\alpha$ 多様性に与える影響は年代によって異なることが示唆されました。一方、60代と70代ではすべての $\alpha$ 多様性指数の値で男女間での有意差は認められませんでした。

$\beta$ 多様性は非計量多次元尺度法 (NMDS) <sup>\*6</sup>のプロットにより可視化しました（図3）。NMDSの結果とPERMANOVA<sup>\*7</sup>による検定結果は、20代から70代のすべての年代で腸内細菌叢の構成が男性と女性で有意に異なることを示しました。

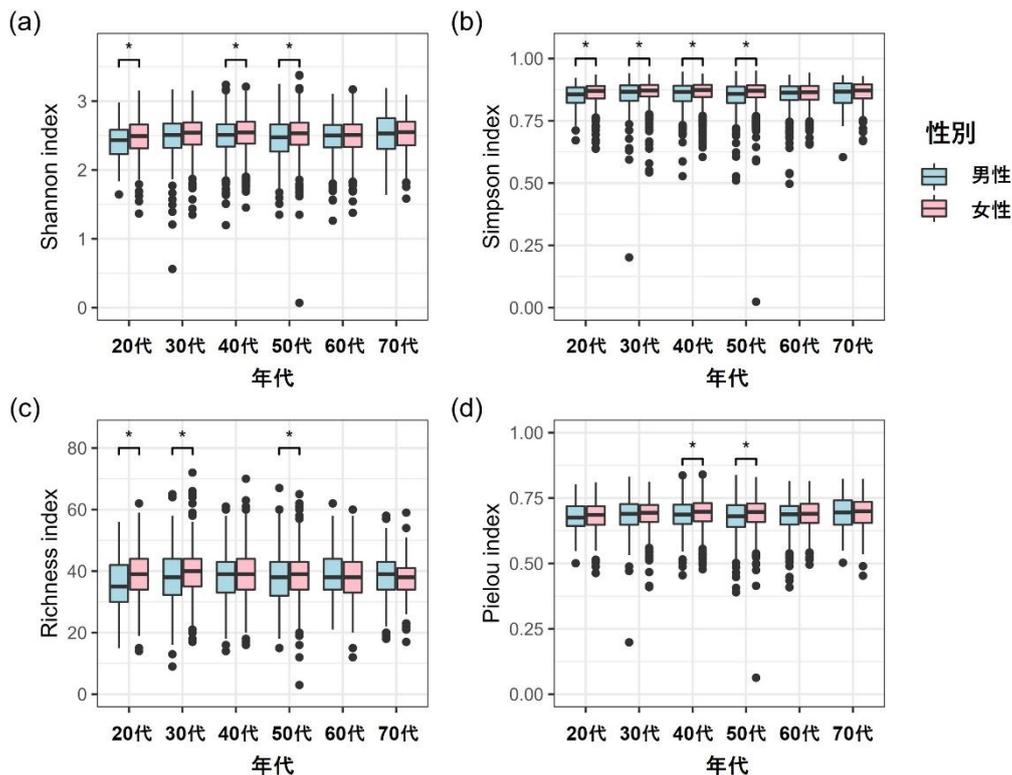


図 2： 疾病に罹患していない日本人男女の腸内細菌叢の  $\alpha$  多様性  
年代別の(a) Shannon、(b) Simpson、(c) Richness、(d) Pielou の  $\alpha$  多様性指数。図中のアスタリスクは有意差あったことを示しています ( $p < 0.05$ , Wilcoxon 順位和検定<sup>※8</sup>)。

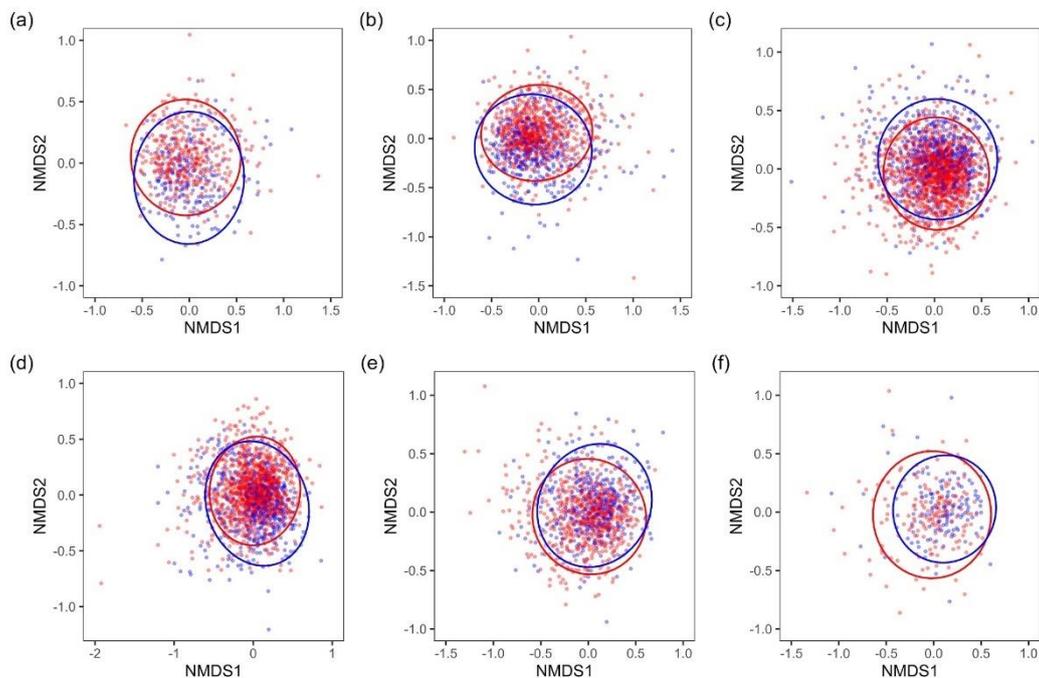


図 3： 疾病に罹患していない日本人男女の腸内細菌叢の  
非計量多次元尺度法 (NMDS) プロット

(a) 20代、(PERMANOVA の  $p$  値:0.0001)、(b) 30代 ( $p$  値:0.0001)、(c) 40代 ( $p$  値:0.0001)、  
(d) 50代 ( $p$  値:0.0001)、(e) 60代 ( $p$  値:0.0001)、(f) 70代 ( $p$  値:0.0065)。NMDS プロットの楕円は 95%信頼区間を示します。NMDS プロットの青色は男性、赤色は女性のサンプルを示します。

男女間で違いがある腸内細菌の菌属を特定するために、ANOVA-Like Differential Expression tool (ALDEx2) ※9 を使用した解析を実施しました。その結果、男女間で有意な違いが認められた菌属の数は 30 代が最も多く、その後、年齢とともに減少しました（男女間で有意な違いが認められた菌属の数：20代は 9 菌属、30代は 23 菌属、40代は 20 菌属、50代は 14 菌属、60代は 7 菌属、70代は 0 菌属）（図 4a）。30代から 50代を中心に、男性では *Fusobacterium*、*Megamonas*、*Megasphaera*、*Prevotella*、および *Sutterella* が多い傾向、女性では *Alistipes*、*Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Odoribacter*、および *Ruthenibacterium* が多い傾向が観察されました（図 4b）。以上の  $\alpha$  多様性解析、 $\beta$  多様性解析、および ALDEx2 を用いた解析の結果から、疾病に罹患していない日本人の腸内細菌叢には性差があり、それは年代によって特徴が異なることが示唆されました。そして、高齢になると性差は小さくなる傾向があることがわかりました。日本人の腸内細菌叢の構成は年齢とともに変化することを考慮すると、今回の結果は妥当なものであると考えられます。

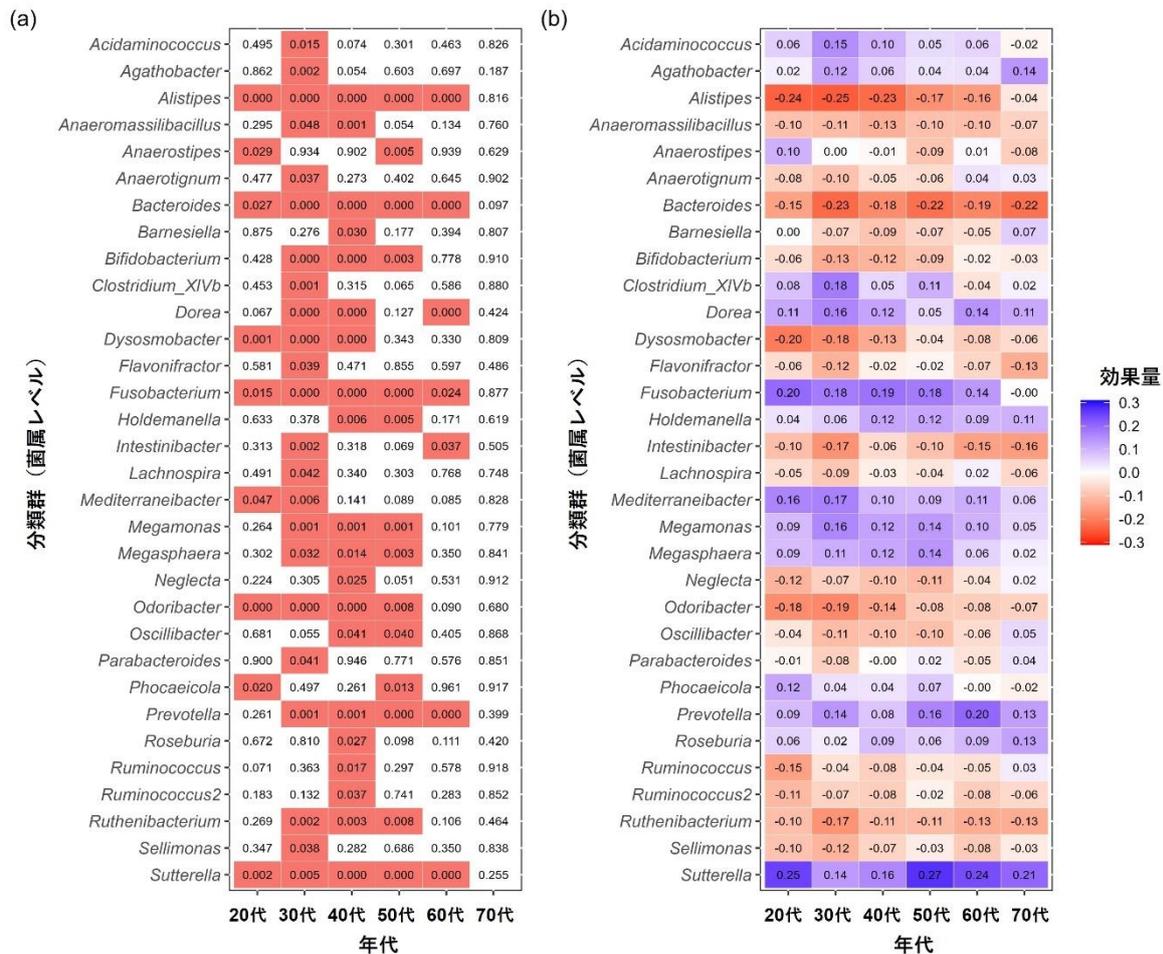


図 4： 疾病に罹患していない日本人男女の腸内細菌叢を年代別に菌属レベルで比較した ALDEx2 解析の結果

(a) 各分類群の Wilcoxon 順位和検定による FDR (偽発見率) 調整済み  $p$  値を示しています。有意差あり (0.05 未満の  $p$  値) は赤色で表示されています。0.000 は 0.0005 未満を意味しています。  
 (b) 各分類群における ALDEx2 解析で算出された効果量※10 の値を示しています。効果量の値が正であれば、その分類群は男性に多く存在し、負であれば、その分類群は女性に多く存在することを示しています。

先行研究では、日本人集団の腸内細菌叢に対する性差の影響に関して相反する結果が報告されてきました。これは、年代によって性差の特徴が異なることが影響したと考えられます。異なる年代が混在する集団では、各年代の性差の希薄化や相殺により、性差の観察が困難になる可能性があります。また、性差の程度が小さい 60 代と 70 代の高齢者が解析集団の多くを占める場合には、

性差の観察は困難になる可能性もあります。実際に、腸内細菌叢に性差が認められなかった、または強く相関していないと報告があった研究では、異なる年代が混在する集団について性差の観察を試みていました。腸内細菌叢の性差を観察するためには、解析対象の集団を決める際に年齢を考慮する必要があると考えられます。

本研究の結果では、20代から50代において、女性のほうが男性よりも腸内細菌叢の $\alpha$ 多様性が高い傾向が観察されました(図2)。女性の腸内細菌叢の $\alpha$ 多様性が高いことは、日本以外の地域で行われた研究でも報告があり、その差は本研究と同様に中高年よりも若年層で顕著とされています。したがって、女性の腸内細菌叢の $\alpha$ 多様性が高いことや、性差の特徴が年齢によって異なることは、日本人に限ったことではない可能性があります。

次に、本研究では疾病に関連する可能性がある腸内細菌が男女間で異なるかどうかについて調査を行いました。当社が有する日本人の大規模な腸内細菌叢データセットには、疾病罹患者の腸内細菌叢に関するデータも含まれています。いくつかの年代にわたって男女ともに罹患者が存在する12の疾病(潰瘍性大腸炎、2型糖尿病、胃炎、逆流性食道炎、腎臓病、肝臓病、不整脈、狭心症、緑内障、気管支喘息、花粉症、アトピー性皮膚炎)を調査対象にしました。

調査した12の疾病のうち、ここでは潰瘍性大腸炎に関する結果をご紹介します。本研究では、潰瘍性大腸炎に関連する可能性がある菌属の特定を、40代から60代の各年代で行いました。その結果、各年代の男女で潰瘍性大腸炎に関連する可能性がある菌属の多くが異なりました(図5)。唯一、*Butyricimonas*だけは、すべての年代の男女で、本疾病に関連する可能性のある菌属として観察されました。また、各年代の男女間で疾病に関連する可能性がある菌属の一部共通性があることが観察されましたが、それらは年代を超えて一致する傾向はみられませんでした(例えば*Acidaminococcus*)。

その他の11疾病に関しても、各疾病に関連する可能性がある菌属の多くは、各年代の男女間で異なっていました。各疾病に関連する可能性のある菌属の中には、各年代の男女間でいくつかの共通性が見られるものもありましたが、それらは年代を超えて一致する傾向はありませんでした。これらの違いは、日本人の腸内細菌叢に性差と年齢による違いが存在することに起因した可能性があります。

各疾病において、それらに関連する可能性がある腸内細菌の菌属が男女で異なり、年代でも異なることは注目に値します。疾病と腸内細菌の関連性について多くの先行研究がありますが、疾病に関連する腸内細菌に関しては研究間で矛盾が見られることが多くあります。このような矛盾が生じる原因の1つは、研究対象とした被験者の性別および年齢構成の違いが影響している可能性が考えられます。

本研究の結果から、疾病に関連する腸内細菌は性別および年齢によって異なる可能性があることが示唆されました。このことは、腸内細菌叢と疾病の関連性に関する研究や、腸内細菌叢をターゲットとする疾病の予防や治療のためのアプローチを研究する際は、性別と年齢を考慮することが極めて重要であることを示しています。

## ■今後の展望

腸内細菌叢に関する研究において性別や年齢が考慮されていない場合、研究結果がそれらの影響を受けている可能性があることが見落とされてしまう懸念があります。また、そのような研究に基づいて開発された腸内細菌叢に関連した疾病の予防や治療のためのアプローチは、人によっては十分な効果が得られない可能性があります。そのため、今後、腸内細菌叢と疾病の関連性に関する研究や、腸内細菌叢をターゲットとする疾病の予防や治療のためのアプローチの研究においては、性別と年齢を考慮することが極めて重要となります。

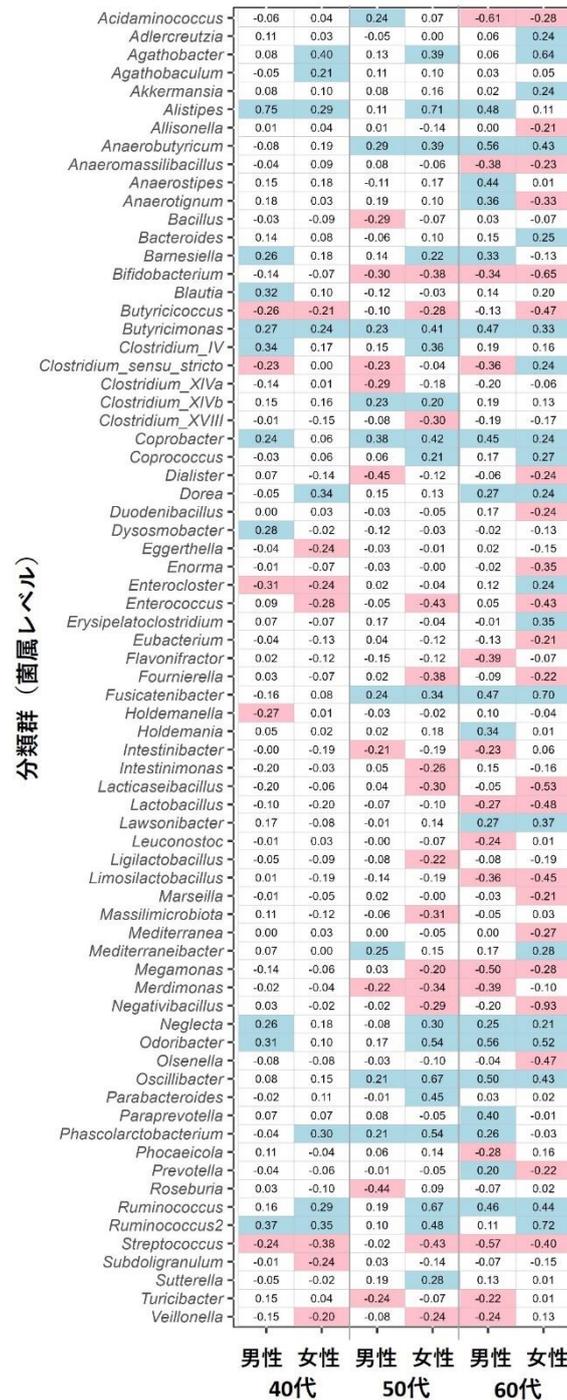


図5：潰瘍性大腸炎の罹患者群と対照群の腸内細菌叢を比較したALDEx2解析の効果量比較は年代別と男女別に行い、対照群は疾病に罹患していない日本人としました。本研究では、効果量の絶対値が0.2を超える値を示した菌属を潰瘍性大腸炎に関連する可能性がある腸内細菌の菌属としました。潰瘍性大腸炎に関連する可能性がある菌属のうち、対照群と比較して罹患者群で存在量が多い関係性を示した菌属（効果量の値が-0.2未満）をピンク、罹患者群で存在量が少ない関係性を示した菌属（効果量の値が0.2を超える）を水色で示しています。

## ■用語説明

### ※1 腸内細菌叢

ヒトの腸内には1,000種以上、10~100兆個程度の腸内細菌が共生しており、重さにして約1.5kgと考えられている。腸内細菌はそれぞれテリトリーをもって生息しており、その全体を「腸内細菌叢」と呼んでいる。

### ※2 16S rRNA 遺伝子配列

16S rRNA 遺伝子配列は、細菌の進化の道筋（系統関係）によって異なっており、配列を調べることで細菌が属する分類群（属や種など）を明らかにすることができる。そのため、細菌の系統マーカー遺伝子として利用される。

### ※3 次世代シーケンサー

一度に大量の塩基配列を決定することができる次世代型の塩基配列決定機器。旧世代型に比べ、同時処理可能なDNA断片数が桁違いに向上し、目的サンプルの大量塩基配列データを得ることができる。

### ※4 $\alpha$ 多様性

1つのサンプルにおける多様性を表す。 $\alpha$ 多様性の指数は複数あり、本研究ではShannon、Simpson、Richness（属数）、Pielou（均等度）の4つの指数を用いて多角的な解析を行った。

### ※5 $\beta$ 多様性

2つのサンプル間の多様性の相違度を表す。

### ※6 非計量多次元尺度法（NMDS）

高次元（次元  $\geq 4$ ）の散布図を低次元（2次元または3次元）へ、元の次元における点間の位置関係を保ったまま投影する手法の一種である。

### ※7 PERMANOVA

2群間における $\beta$ 多様性の違いが、有意なものであるかを検定するための、統計学的手法の一種である。

### ※8 Wilcoxon 順位和検定

ノンパラメトリック検定のひとつで、マン-ホイットニーのU検定とも呼ばれ、得られた2つのデータ間の中央値に差があるかどうかを検定する。

### ※9 ALDEx2

異なるグループ間で違いがある細菌の分類群を特定することに役立つ解析ツール。次世代シーケンサーのデータを使用して解析を行う。

### ※10 効果量

ある現象に対して、着目している変数がどの程度の影響力を持っているのかを指標化した量のこと。

## ■研究グループ

シンバイオシス・ソリューションズ株式会社

代表取締役社長 増山 博昭

研究開発本部 畑山 耕太・香野 加奈子・大熊 佳奈・蓮子 和巳

一般財団法人辨野腸内フローラ研究所

理事長 辨野 義己

## ■研究協力

本研究は、理化学研究所研究倫理委員会の承認を受けた「ONAKA ケアプロジェクト」の一部であり（承認番号：和光3-27-22）、日本人ボランティアの協力のもと行われました。尚、「ONAKA ケアプロジェクト」の腸内細菌叢に関するデータは当社にライセンスされています。

### ■原論文情報

Kouta Hatayama, Kanako Kono, Kana Okuma, Kazumi Hasuko, Hiroaki Masuyama, Yoshimi Benno. Sex Differences in Intestinal Microbiota and Their Association with Some Diseases in a Japanese Population Observed by Analysis Using a Large Dataset. *Biomedicines* **2023**, 11(2), 376, doi:10.3390/biomedicines11020376.

<https://www.mdpi.com/2227-9059/11/2/376>

### ■研究内容に関する問合せ先

シンバイオシス・ソリューションズ株式会社

研究開発本部 畑山 耕太

research(at)symbiosis-solutions.co.jp

※ (at) は@に置き換えてご連絡ください。

### ■取材に関する問合せ先

シンバイオシス・ソリューションズ株式会社

広報担当

info(at)symbiosis-solutions.co.jp

※ (at) は@に置き換えてご連絡ください。

### ■企業概要

会社名	: シンバイオシス・ソリューションズ株式会社	 <b>Symbiosis</b> Solutions シンバイオシス・ソリューションズ株式会社  当社は、腸内細菌叢から疾病リスクを分析・評価する腸内細菌叢の検査・分析サービス（『SYMGRAM®』、『健腸ナビ®』他）の開発・運営および医薬・食品メーカーと連携して腸内細菌叢の制御による疾病の予防・改善のための機能性食品の研究・開発などを行うヘルステック・バイオベンチャーです。
本社	: 東京都千代田区神田猿楽町 2-8-11 VORT 水道橋Ⅲ 3F	
研究所	: 埼玉県和光市南 2-3-13 和光理研インキュベーションプラザ内	
設立	: 2018年4月 ※一般社団法人日本農業フロンティア開発機構と国立研究開発法人理化学研究所（旧辨野特別研究室）による研究成果を事業化する目的で設立	
資本金	: 7億3,152万5,000円（2023年1月現在）	
URL	: <a href="https://www.symbiosis-solutions.co.jp/">https://www.symbiosis-solutions.co.jp/</a>	

以上