Glycative Stress Research

Online edition : ISSN 2188-3610
Print edition : ISSN 2188-3602
Received : March 20, 2021
Accepted : May 7, 2021
Published online : June 30, 2021
doi:10.24659/gsr.8.2_73

Original article

Effects of mats with "A Distinctive 4-Layer 3-Dimensional Structure" on sleep quality and gut microbiota: A non-controlled open-label study

Haasbroek Kyle [1], Masayuki Yagi [1], Midori Ando [2], Takuto Nonomura [2], Yoji Shimura [2], Yoshikazu Yonei [1]

1) Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan
2) Japan Research Laboratory of Sleep Science, Nishikawa Co. Ltd., Tokyo, Japan

Glycative Stress Research 2021; 8 (2): 73-86
(c) Society for Glycative Stress Research

（原著論文：日本語翻訳版）

4 層特殊立体構造マットレス使用による睡眠の質・腸内細菌叢へ及ぼす効果：無対照オープンラベル試験

Haasbroek Kyle [1]、八木雅之 [1]、安藤 翠 [2]、野々村琢人 [2]、志村洋二 [2]、米井嘉一 [1]

1) 同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター、京都
2) 西川株式会社日本睡眠科学研究所、東京

抄録

[目的]「睡眠の質」は身体の恒常性維持に重要な役割を果たし、質的低下により様々な生活習慣病を引き起こす。 今回は、「4 層特殊立体構造」寝具を試験品として睡眠の質、腸内細菌叢に与える影響について無対照オープンラベル試験による検証を行った。

[方法] 睡眠の質に不満を持つ男女 36 名からピッツバーグ睡眠質問票（PSQI-J）評価により「睡眠の質」低下が強い 12 名（年齢 50.1 ± 4.9 歳）を対象とした。試験品寝具（西川株式会社、東京都中央区）を 8 週間使用した際の身体情報変化について、無対照オープンラベル試験を行った。試験開始前、8 週間後に PSQI-J、T-RFLP によるによる腸内細菌叢解析、血漿アミロイドβ（Aβ）40/42 比の測定を行った。本試験は倫理委員会の承認を得て行った。

連絡先：教授　米井嘉一
同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター／
糖化ストレス研究センター
〒610-0321 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3
TEL & FAX: 0774-65-6394　e-mail: yyonei@mail.doshisha.ac.jp
共著者：Haasbroek K, cygd2001@mail.doshisha.ac.jp; 八木雅之 myagi@mail.doshisha.ac.jp;
安藤 翠 ando-midori@nishikawa1566.com; 野々村琢人 nonomura-takuto@nishikawa1566.com;
志村洋二 shimura-yoji@nishikawa1566.com

Glycative Stress Research 2021; 8 (2): 73-86
本論文を引用する際はこちらを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

[結果] PSQI-Jでは8週間後に睡眠の質、入眠時間、睡眠困難、日中覚醒困難の有意な改善が見られた。PSQI総合得点は8.2 ± 1.4から4.2 ± 2.2へ有意に改善した（$p < 0.01$）。腸内細菌叢解析ではBacteroides族細菌、短鎖脂肪酸（SCFA）関連細菌の割合が有意に増加した。血漿Aβ40は軽度であるが有意に上昇、Aβ40/42比には変化はなかった。
[結論] 試験品寝具の使用により「睡眠の質」が向上した結果、腸脳連関を介して腸内細菌叢に影響を及ぼし、Bacteroides属細菌の増加を認め、糖脂質代謝ならびに免疫防御機構の恒常性維持に貢献する可能性が示唆された。

KEY WORDS: 4層特殊立体構造寝具、睡眠の質、腸内細菌叢、Bacteroides

はじめに

睡眠は健康の維持・増進のために重要であるが、日本人の睡眠時間は海外の国々と比較しても短い状態にある。睡眠の質の低下により耐糖能が悪し、肥満やメタボリックシンドローム、高血圧の発症リスクが高まることが、種々の研究により明らかにされている[1-4]。我々の研究グループにおいても、使用者に適した寝具の使用により、健康指標が改善するか否かについて検証してきた[5-7]。その結果、快適な寝具の使用により睡眠の質が改善した例では、酸化ストレスの改善[6]、糖脂質代謝の改善[5,7]、成長ホルモン[5]やメラトニン[7]の分泌改善、肌状態の改善[8]といった効果が観察された。今回は試験品「4層特殊立体構造」寝具の使用による睡眠の質の向上が腸内細菌叢に与える影響について無対照オープンラベル試験による検証を行った。

方法

対象

対象は、50歳以上～65歳未満の軽度肥満の男女とし36名を募集した。募集者に対し事前検査（SCR）として身体計測、日本語版ピッツバーグ睡眠質問票（PSQI-J）、医師による問診を施行した。選択基準に該当し、除外基準に抵触しておらず、PSQI-Jスコアが6点以上の者の中より、以下PSQI-Jスコアの高値順によるランキング付けを行い、総合ランキング高値者より順に12名を選抜した。る者、など31項目を設定した。また、試験期間中は、日常範囲を大きく逸脱する過度な運動、節食や過食を制限し、睡眠、入浴等の生活習慣も極力変えず、規則的な生活を維持する、など11項目の制限事項を設けて被験者に順守させた。

選択基準を以下に示す。

1) 試験参加の同意取得時点での年齢が50歳以上65歳未満の健康な男女
2) BMIが25.0 kg/m^{2}以上30.0 kg/m^{2}未満の者
3) 夜中に目が覚める（中途覚醒）、朝早くに目覚めてしまう（早朝覚醒）、よく眠った気がしない（熟睡障害）などの軽度の睡眠障害を自覚する者
4) 勤務体系が日中の週3～5日勤務で土日公休の者
5) 就寝（消灯）時間ならびに起床時間が規則的であり、就寝（消灯）時間が24時前であり、4時間以上の睡眠習慣のある者
6) 単身で就寝している者
7) アルコールの摂取習慣がない者
8) 本試験の目的、内容について十分な説明を受け、同意能力があり、よく理解した上で自発的に参加を志願し、書面で本試験参加に同意できる者
9) 指定された検査日に来所でき、検査を受けることのできる者
10) 試験責任医師が本試験への参加を適当と認めた者

除外基準を以下に示す。

1) 現在、何らかの疾患を患い薬物治療を受けている者
2) 現在、薬物の摂取、塗布習慣のある者
3) 過去1ヶ月において、疾患治療を目的とした、薬物の服薬習慣のある者（頭痛、月経痛、感冒などの頓服歴は除く）
4) 精神疾患、睡眠障害、高血圧、糖尿病、脂質異常症や重篤な疾患の既往歴・現病歴のある者
5) 睡眠時無呼吸症候群（SAS）の疑い、治療中、治療歴のある者
6) 夜間頻尿、前立腺肥大、過活動膀胱を有する者
7) 肝、腎、心、肺、消化器官、血液等の重篤な現病歴・既往歴のある者
8) 消化器官に併存疾患および重篤な既往歴のある者
9) 重度な便秘症、日常的に下痢症状を有する者
10) 試験期間中に禁酒ができない者
11) 喫煙者
12) 現在、過去1ヶ月間において機能性表示食品、特定保健用食品、健康食品、サプリメント類の継続的な摂取習慣のある者、また試験期間中に摂取予定のある者

13) 過去1ヶ月間において、200 mL、または3ヶ月以内に400 mLを超える献血等をした
14) 試験期間中、生活習慣を変更する可能性、旅行などで試験マットの使用が困難となる可能性がある者
15) 現在、他ヒト臨床試験に参加している者、他ヒト臨床試験参加後、3ヶ月間が経過していない者
16) 妊娠中、授乳中あるいは妊娠の可能性のある者
17) その他、試験責任医師が本試験の対象として不適当と判断した者

試験デザイン

本試験は対照の無いオープンラベル試験とした。

試験品は4層特殊立体構造マットレス「AiR SX」;（西川株式会社、東京都中央区）とした。試験品の大きさはシングルサイズ（9 × 97 × 200 cm）で、専用シーツとともに、西川株式会社より提供を受けた。試験開始時に、現在使用している敷き布団を試験品に切り替えて使用した。

試験開始前、試験開始8週間後に自覚症状の確認、PSQI-J、腸内細菌叢検査（糞便T-RFLPフローラ解析、医師による問診を施行した。試験参加者は生活日誌に試験期間中の有害事象の有無・程度、生活習慣、食事・運動習慣について記録した。試験期間は2020年10月～12月とした。

評価項目

自覚症状

睡眠の質の評価にはPSQI-Jを使用した[9]。PSQI質問表 採点方法集計表に準じ、睡眠の質、入眠時間、睡眠時間、睡眠効率、睡眠困難、眠剤の使用、日中覚醒困難についてスコア化、PSQI総合得点（PSQI global score; PSQIG）を計算した。評価基準については、5点以下を睡眠障害なし、6点以上を睡眠障害ありとし、6～8点を軽度障害、9点以上を高度障害とした[10]。

身体計測

身体計測としては、身長、体重、体脂肪率、体格指数（body mass index; BMI）、収縮期および拡張期血圧、脈拍数を計測した。身体組成検査は体成分分析器（DC-320; タニタ、東京都板橋区）を用いた。

血液検査

血液試料を用いて血漿中Aβ-40、Aβ-42をLSIメディエンス（東京都千代田区）にて測定した。血液検査はうえのあさがおクリニック（院長 小野 貴弘、東京都台東区）にて施行した。

腸内細菌叢検査

腸内細菌叢検査として糞便T-RFLPフローラ解析（株式会社テクノスルガ・ラボ、静岡市清水区）[11,12]を行った。検査項目はヒト腸内に特化した腸内細菌叢（目～属レベル（> 0.1-1%））の解析とした。16SリボソームRNA遺伝子は細菌の必須遺伝子といわれ、塩基配列の類似度を指標に細菌を分類する。細菌の16SリボソームRNA遺伝子の塩基配列をコンピュータ上でその類似度（一般的には96-97%）を指標に分類したときに得られる単位をOTU（operational taxonomic unit）という。検体中のヒト腸内細菌叢の主要な分類群（Bifidobacterium属、Bacteroides属など）をOTUとして解析した。結果は全菌数に対する各菌類のOTU数の構成割合（百分率）として表した。

統計解析

検査結果数値はMicrosoft Office Excel 2016（Microsoft Corp.）を用いて累計表に集計した。統計解析はSAS（SAS 9.4）またはSPSS（Statistics26）など適切な統計解析ソフトを用いて実施し、すべての検定について有意水準は両側5%とし、10%を傾向とした。解析データの群内比較は、使用前と8週後検査の比較を対応のあるt検定で統計解析を行った。アンケート調査より得られる値は、ノンパラメトリックとして取り扱い、群内での比較にはWilcoxonの符号付順位検定を行った。

倫理審査

本試験は一般社団法人糖化ストレス研究会「人を対象とする研究」に関する倫理審査委員会の承認を受け（2020年9月28日、糖ス倫2020第005号）、ヘルシンキ宣言（2013年10月改訂）および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」（文部科学省・厚生労働省、2014年12月22日）に則り、実施された。試験参加者には事前にインフォームド・コンセントを実施し、自由意志による同意を文書で得た。また本試験は大学病院医療情報ネットワーク臨床試験登録システム（UMIN-CTR）に事前登録の上、実施された（登録番号：UMIN 000041883）。加えて本試験は新型コロナウイルス感染症流行下の社会状況を鑑み、安全に実施することが可能と試験委託責任者、試験受託者、試験責任医師ならびに倫理審査委員会が判断した場合に限り実施できるものとした。試験実施にあたっては、試験実施医療機関の感染症対策に従って感染症の予防に十分配慮して実施した。

結果

50歳以上65歳未満の軽度肥満の男女を対象に試験寝具を8週間使用した際の睡眠の質、注意力、QOL及び腸内細菌叢及び血液特殊検査へ与える影響をオープン試験にて実施した。

本試験は、上記のように12名で試験を開始し、全12名が完遂、解析対象とした。試験群12名（男性：4名、女性：8名）の年齢は、55.0 ± 4.4歳（男性：54.8 ± 5.9歳、女性：55.1 ± 4.0歳）であった。

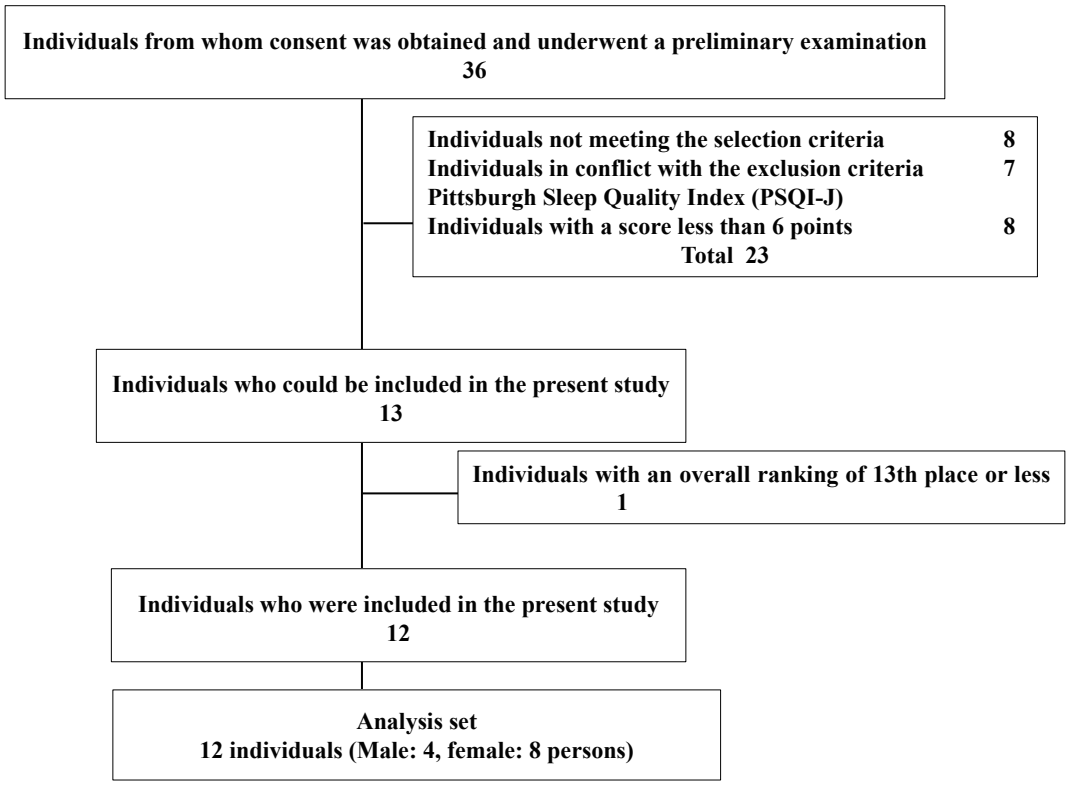

Fig. 1. **Changes in the number of test subjects.**

自覚症状評価

ピッツバーグ睡眠調査票による自覚症状は、試験前に比べ8週後で睡眠の質（$p \leqq 0.01$）、入眠時間（$p \leqq 0.01$）、睡眠時間（$p < 0.01$）、睡眠効率（$p < 0.05$）がそれぞれ有意に改善し、試験前に比べ使用8週後では睡眠困難（$p < 0.05$）、日中覚醒困難（$p < 0.01$）もそれぞれ有意に改善した（***Table 1***）。その結果、PSQIGは試験前8.8 ± 1.9から8週後3.8 ± 1.3へ有意に改善した（$p < 0.01$）。

体組成血圧

体重、体脂肪率、脂肪量、除脂肪量、筋肉量、BMI、基礎代謝量の各測定項目について、使用前と比較して8週後で有意な差はなかった（***Table 2***）。

腸内細菌叢の変化

糞便T-RFLPフローラ解析では、Bacteroides属細菌の割合が、使用前では33.5 ± 8.2％、使用8週後では39.4 ± 7.3％で、使用前と比較して8週後で有意な増加が認められた（$p < 0.001$）。その他（others）については、使用前14.5 ± 3.8％から8週後10.6 ± 3.2％へ有意な減少が認められた（$p < 0.01$, ***Fig. 2***）。

血漿Aβ検査

Aβ-40は8週後に軽度であるが有意に増加した（$p < 0.05$）。Aβ-42、Aβ-40/Aβ-42比は使用前後で有意な変化はなかった（***Table 3***）。Bacteroides属細菌の菌量との相関性は認められなかった。

考察

本試験品寝具についてはこれまで計4回の臨床試験を施行[5-8]、今回は5回目である。PSQI-Jについては、睡眠の質、入眠時間が5回とも、日中覚醒困が5回中4回、睡眠困難、睡眠時間が5回中3回有意に改善した。総合評価のPSQIGは5回とも有意に改善した。5回の試験ともほぼ同様の結果が得られ、本試験の自覚症状改善効果については再現性が高いこと、試験品寝具の使用により「睡眠の質」が改善することが示された。本試験では睡眠の質の改善による腸内細菌叢の変化について検討した。

ヒト腸内細菌叢

ヒト腸管内腔には約1,000種類、100兆個以上の腸内細菌が互いに共生拮抗関係を築きながら安定したコミュニティ（腸内細菌叢、マイクロフローラ、マイクロビオータ）を形成することが知られている。腸内細菌叢を構成する細菌は、直接的あるいはその代謝物を通して、宿主と相互作用し、宿主の生理や免疫系に影響し[13-16]、さらには

Table 1. Sleep quality evaluation.

		Before	8 weeks	p-value
PSQI-J	Sleep quality	2.0 ± 0.4	0.8 ± 0.4	**0.002**
	Time to fall asleep	1.8 ± 0.8	0.8 ± 0.9	**0.008**
	Sleeping time	1.8 ± 0.4	1.1 ± 0.7	**0.007**
	Sleep efficiency	0.8 ± 0.9	0.0 ± 0.0	**0.023**
	Difficulty sleeping	1.2 ± 0.4	0.8 ± 0.4	**0.046**
	Use of sleep inducers	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.000
	Daytime difficulty waking	1.3 ± 0.9	0.3 ± 0.5	**0.010**
	PSQIG	8.8 ± 1.9	3.8 ± 1.3	**0.002**

Results are expressed as mean ± SD, Wilcoxon signed-rank test, n = 12. PSQI-J, Pittsburgh Sleep Quality Index (Japan version) questionnaire; PSQIG, PSQI global score; SD, standard deviation.

Table 2. Anthropometry.

	Before	8 weeks	p-value
Bodyweight (kg)	72.1 ± 10.9	72.1 ± 10.9	0.9821
Body fat (%)	32.8 ± 6.0	32.9 ± 6.3	0.7112
BMI	26.9 ± 1.6	26.9 ± 1.8	0.9498
Blood pressure			
systolic (mmHg)	125.7 ± 12.2	121.9 ± 11.3	0.2118
diastolic (mmHg)	79.8 ± 7.9	77.3 ± 7.4	0.1718
Pulse (/min)	69.9 ± 9.3	69.1 ± 9.7	0.6319

Results are expressed as mean ± SD, Wilcoxon signed-rank test, n = 12. BMI, body mass index; SD, standard deviation.

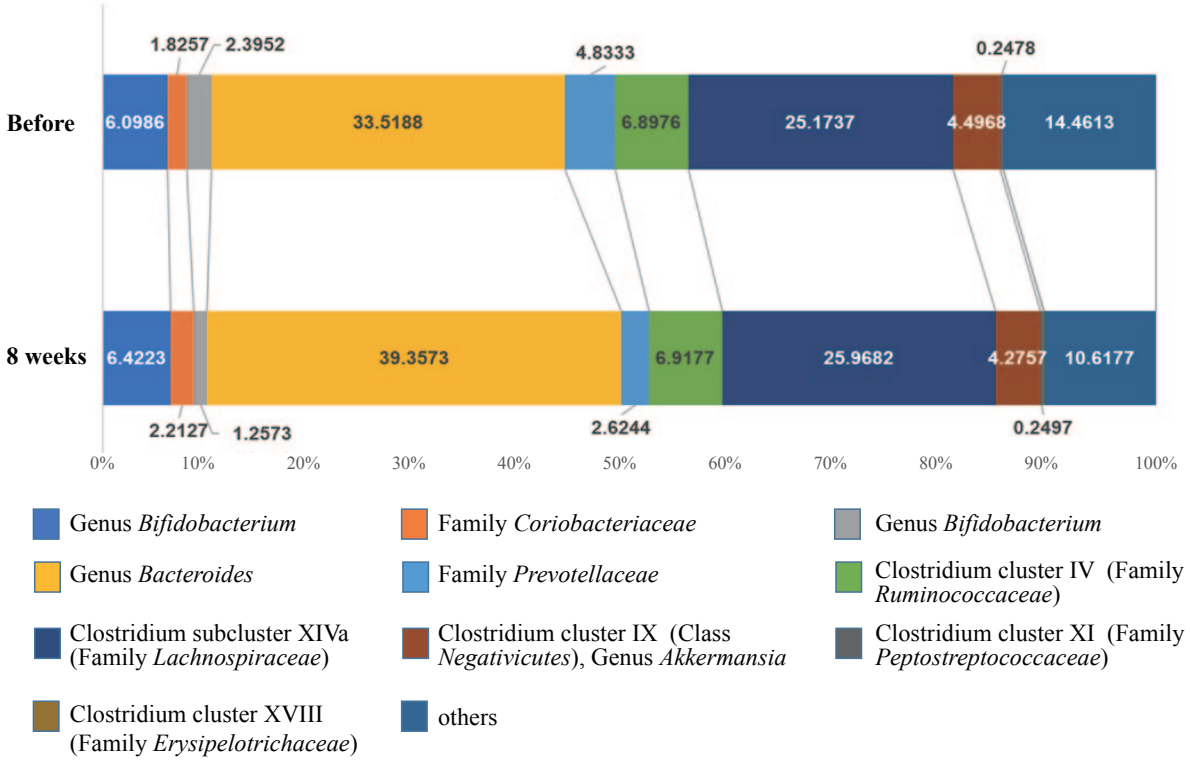

Fig. 2. **Distribution of the gut microbiota.**

Results are expressed as average values, n = 12. Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis.

Table 3. Plasma Aβ examination

		Before	8 weeks	p-value
Aβ40	(pg/mL)	294.1 ± 37.6	313.0 ± 25.0	**0.040**
Aβ42	(pg/mL)	31.7 ± 5.9	33.6 ± 3.0	0.255
Aβ40/42		9.53 ± 1.77	9.35 ± 0.74	0.752

Results are expressed as mean ± SD, paired t-test, n = 12. Aβ, amyloid-beta; SD, standard deviation.

腸脳連関を介して中枢神経系に双方向性に影響を及ぼしている[17,18]。

腸内細菌叢には地域差、個人差や民族差があり、多様な文化や食習慣によって多く影響をうける。2009年にアジア乳酸菌学会連盟の基に設立されたアジア人の腸内細菌叢調査プロジェクト“Asian Microbiome Project (AMP)”（http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/microbt/AMP_HP.html）は、全地域及び年齢層を網羅するアジア人の基本的な腸内細菌叢データベースを構築することを目指している。現在では、東アジアと東南アジアの計10ヶ国がAMPに参加している。これまでに新生児から高齢者まで、併せて1,000人以上の腸内細菌叢のデータを収集している。

これらのプロジェクトでは、次世代型DNAシーケンサーの技術が使用され、16S rRNAアンプリコン解析、ショットガン全メタゲノム解析が行われている。16Sリボソーム RNA遺伝子は細菌の必須遺伝子といわれ、塩基配列の類似度を指標に細菌を分類する。細菌の16Sリボソーム RNA遺伝子の塩基配列をコンピュータ上でその類似度（一般的には96-97％）を指標に分類したときに得られる単位をOTU（operational taxonomic unit）という。OTU数は細菌叢を構成する菌種の数を表し、同一のOTUに属するリード数はその種の相対的な存在量を表していると考えられている。各OTUに属するリード数の中から代表的な配列を選び、データベース検索により属種名を同定することができる。ただし、細菌学における分類とは厳密には一致しないOTUもありうる。

本試験においてもヒト腸内細菌叢の主要な分類群（Bifidobacterium属、Bacteroides属など）をOTUとして解析している。本試験では試験品寝具を8週間使用して、睡眠の質の向上が腸内細菌叢へ及ぼす影響を検証すること目的とした。今回用いた試験品寝具については、過去の臨床試験ならびに今回のPSQI-Jおよび抗加齢QOL共通問診票によって、「睡眠の質」向上効果を有することを確認している。睡眠の質が改善した結果、Bacteroides属の有意な増加、その他に属する細菌（others）の有意な減少が認められた。

腸内細菌叢の主体は、新生児期の通性嫌気性菌から乳児期のBifidobacterium属、そして成人型のClostridia綱とBacteroidetes門へと変遷する[19]。しかし、個人差があり、このパターンを逸脱している乳幼児も多く存在する[20]。通性嫌気性菌とは、エネルギー獲得のため、酸素が存在する場合には好気的呼吸によってATPを生成するが、酸素がない場合においても発酵によりエネルギーを得られるように代謝を切り替えることのできる細菌のことである。乳酸桿菌、大腸菌、腸球菌通常などがこれに該当する。

Bacteroidesについて

Bacteroidesは免疫やアレルギーとの関係性の観点からよく研究されている[21]。乳幼児期においては食物アレルギー発症の原因となる食物特異的なIgE抗体を作り易い一方で、このアレルギー反応を抑制する機能である消化管粘膜によるバリア機能や経口免疫寛容の働きが弱く、消化酵素、分泌型IgAの生産が少ない。IgE依存型アレルギー乳児において、BacteroidesとClostridium クラスターXVIIIの減少、特にClostridium sensu stricto及びAnaerobibactorの増加が示されている[22]。乳児期以降では、アレルギー群でBacteroides属は少なく、Enterobacteriaceae科は多いことが知られている。

腸内細菌叢とアレルギー発症の関係については年齢差がみられ、新生児ではアレルギー群でBacteroides属は多かった[23]。腸内細菌叢とアレルギー発症の関係については地域差もみられ、ロシア、フィンランド、エストニアの3国のコホート研究で、アレルギーの多いフィンランドとエストニアの乳幼児はロシアの乳幼児と比較してBacteroides属が顕著であった[21]。

Bacteroides属はProteobacteria門と同じグラム陰性細菌で、細胞外膜を有し、その成分としてのリポポリサッカライド（LPS）を生産する。LPSはToll様受容体（TLR）を介して自然免疫を誘導する。しかし大腸菌LPSと比較してBacteroidetes門LPSは免疫賦活が弱く、大腸菌LPSによる自然免疫が十分に獲得できない。フィンランドやエストニアの小児は、乳幼児期に腸内細菌による免疫系刺激が弱く、自然免疫獲得が不十分である可能性が指摘されている。

腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸（SCFA）も免疫調節機能を有する。酢酸・酪酸・プロピオン酸などのDCFAは、細胞膜上の七回膜貫通型受容体であるG蛋白共役受容体（G protein- coupled receptors; GPCRs）を介して宿主の恒常性維持に関与している。GPCRsにはGPR43、GPR41、GPR109Aなどがある。酢酸は大腸上皮細胞のバリア機能を高め、病原菌感染を抑制する[24,25]。酢酸は、GPR43を介して腸管樹状細胞によるB細胞のImmunoglobulin A（IgA）クラススイッチを制御することで、腸管でのIgA分泌を促進する[26]。プロピオン酸は、肺樹状細胞のGPR41

を介して、気道上皮炎症を制御している[27]。

Bacteroidesは腸管免疫系に対して免疫修飾作用を有し、小腸パイエル板細胞に対するIgA産生誘導能はLactobacillusよりも強い[28]。腸管リンパ組織の形成が未熟な無菌マウスに対してはBacteroides投与によって小腸および盲腸のリンパ節における胚中心の形成を誘導し、腸管粘膜固有層でのIgA産生を増やす[29]。Bacteroidesは腸管免疫系において免疫感作する際に抗原提示細胞に対する修飾作用を示す。Bacteroidesの菌体成分（主にLPS）によって、抗原提示細胞を介した 制御性T細胞（Treg）応答の活性化や炎症反応の制御、免疫寛容といった免疫修飾作用が発揮される。腸管の制御性T細胞（Treg）の分化誘導に腸内細菌が産生した短鎖脂肪酸が関与する報告がSmithにより示されている[30]。

生活習慣とBacteroides

乳児腸内細菌叢では、母乳中のヒトミルクオリゴ糖を優占的に利用（資化）するBifidobacterium属細菌が有意に増殖する[31, 32]。離乳食が始まり離乳が進むにつれて、このBifidobacterium属主体の細菌叢“ビフィズスフローラ”は成人型の腸内細菌であるBacteroidetes門やFirmicutes門の細菌に置き換わっていく[33-35]。

Bacteroidesはオリゴ糖をはじめとする難消化性糖類を資化することができる。特にフラクトオリゴ糖やその構成糖（1-kestose [GF2] および nystose [GF3]）を利用して腸内で増殖する。難消化性糖類が腸管内で増加すると腸内異常発酵を誘発する場合があることから、Bacteroidesによる難消化性糖類の資化作用が腸内環境を健全に保つために一役買っている可能性がある。

ビタミンKは特定の腸内細菌によって産生され、骨の質を維持する役割を果たしている。閉経後女性38例（平均年齢62.9歳）を対象に骨代謝指標と腸内差菌叢との関係を解析した報告がある[36]。Bacteroides属は高ビタミンK2群（血中Vit K 0.06 ng/mL以上）で多かった。骨折の発生率は低Bacteroides群で有意に高く、骨折既往のリスク比は高Bacteroides群に比べて5.6倍高かった。骨密度（BMD）には群間有意差はなかった。

食事の影響は腸内細菌叢に影響を及ぼす。Bacteroides属が多いタイプの人は蛋白質や脂質を多く摂取しており、Prevotella属が多いタイプの人は食物繊維をより多く摂取している傾向がある[37]。イタリアの小児とブルキナファソ（アフリカの国名）の小児（主食はソルガム等の穀類）は、それぞれBacteroides型とPrevotella型の細菌叢を有する[14]。高脂肪・低炭水化物の現代食がエンテロタイプPタイプ（Prevotellaを多く保有）からBBタイプ（BacteroidesとBifidobacteriumを多く保有）へシフトさせている。肥満者では健常者に比べて、Bacteroidetesが低発現で、Firmicutesの発現が高い特徴がある[38]。高脂肪食の影響が大きいと思われる。

高度肥満者に対する肥満手術として、胃バイパス手術（Roux-en-Y gastric bypass; RYGB）がある。摂取食物の通過様式が変化することにより、胃からグレリン分泌の低下、小腸のGLP-1やGIP分泌増加によりインスリン抵抗性が改善する。GLP-1（グルカゴン様ペプチド-1）は小腸L細胞から分泌され、膵臓のβ細胞表面にあるGLP-1受容体に結合して、β細胞内からのインスリン分泌を助ける働きがある。GIP（グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド）は小腸上部に存在するK細胞から分泌されるホルモンで、食事摂取に伴い分泌され、膵β細胞に作用しインスリンの分泌を促進する。RYGB手術後の腸内細菌叢の変化として、Bacteroidetes門の増加、Firmicutes門の減少が観察される[39]。2型糖尿病患者に対するRYGB手術においても、Bacteroidetes門および大腸菌が増加し、腸内細菌叢の多様性が高まる[40]。但し乳酸菌やビフィズス菌は減少する。

これまで睡眠とBacteroidesとの関係を示す報告はなく、睡眠の質の改善がBacteroidesを増加させるというのは新規所見である。腸脳連関が関与すると予想されるが、詳細な機序の究明については今後の研究が待たれる。

Bacteroidesと認知症・パーキンソン病

腸内細菌叢と様々な形態の認知機能低下との関係は多くの研究の焦点となっている。アルツハイマー病（AD）のモデルマウスでは、バクテロイデス門とその亜分類群の病因に及ぼす影響が明らかにされている。ADの遺伝子導入（トランスジェニック）マウスモデルでは、ヒトアミロイド-β（Aβ）前駆体が腸と脳で発現し、腸内細菌叢のバクテロイデス門は9週齢で有意に減少する[41]。別の遺伝子導入モデル研究[42]では、出生後の抗生物質治療で腸内細菌叢を変化させることにより、アミロイド蓄積が改善された。このモデルでは、治療群のBacteroidaceae科の菌量の増加を示した。食事に誘発されたバクテロイデスの菌量低下（バクテロイデスとプレボテラの順に低下）も、認知テストの結果の低下と関連している[43]。

Bacteroidesのこれらの変化はヒト臨床研究でも観察されている。佐治らは腸内細菌叢と認知症の関係について解析を行った[44]。物忘れ外来受診患者から128例（平均年齢74歳）を対象として、検便サンプルを採取、腸内細菌叢と認知機能との関連を分析した。認知症と診断されたのは34例、非認知症は94例であった。細菌の割合により、エンテロタイプI（バクテロイデスが30％以上）、エンテロタイプII（プレボテラが15％以上）、エンテロタイプIII（その他の細菌が多いタイプ）の3タイプに分類した。その結果、認知症の患者では、バクテロイデス（エンテロタイプI）の数が少なく、「その他」の細菌（エンテロタイプIII）の数が多かった。

ADおよび軽度認知障害の研究でも同様の結果が報告されており、AD患者は健常者と比較してバクテロイデスが減少している[45, 46]。しかし、軽度認知障害に関する佐治らの別の研究では[47]、認知症患者の結果とは対照的に、認知機能低下の初期兆候を示す患者では、対照群と比較してバクテリオイドの菌量が増加していた。Liuらは、

軽度認知障害の患者ではバクテロイデス門が増加したが、進行したAD患者では増加しなかったと報告している[48]。認知症が進行するにつれて、腸の微生物プロファイルが認知機能低下の進行とともに時間とともに変化する可能性がある。

しかし、相反する結果を示す報告もある。Haranら[49]およびVogtら[50]は、AD患者でバクテロイデス菌量が有意に高いことを見出した。Manderinoら[51]は、健常高齢者を対象とした研究で、バクテロイデス門の菌量が増加した人の認知機能のテストスコアが有意に低いことを報告した。これらの研究で観察された微生物プロファイルの違いは、アメリカ人対象者における人口分布や食事などの要因の差が原因である可能性がある。詳細な分析のために考慮すべき要因の一つは、属レベルで認識されないバクテロイデス属の異なる種の存在である。B. fragilisなどのバクテロイデスのいくつかの種は抗炎症性を有し[52]、その菌量はアミロイドーシスと負の相関がある[53]。反対に、*B. dorei*や*B. uniformis*のような種は、アテローム性動脈硬化症[55]や高脂肪食誘発性肥満[56]などの他の疾患モデルで有益な役割を果たしているにもかかわらず、認知症に関連している[54]。

腸管全体の細菌代謝物レベルも認知症の有用なバイオマーカーとなるとの報告がある[57]。糞便中のアンモニア（塩基性）濃度の上昇と乳酸濃度の低下の両方が認知症リスクの増加と関連している。2つの代謝物のリスク予測強度は、従来の認知症バイオマーカーの予測強度と同程度であった。特定の種の影響とは関係なく、常在菌の影響を受けた腸管内pHも認知症の発症に寄与する可能性がある。

パーキンソン病（PD）は、加齢とともに増加する神経変性疾患であり、その発症は中枢神経からではなく、消化管上皮細胞に異常蓄積したα-synuclein（Lewy小体）が次第に中枢神経系に拡大することが明らかにされつつある。PDでは腸管の透過性が亢進しており、腸管壁では過剰な酸化ストレスによって腸粘膜にα-synucleinが蓄積すると考えられる[58]。PD患者とその配偶者（対照）からなる30組（計60人の被験者）の腸内細菌叢を分析した結果、クロストリジウム（C. coccoidesグループとC. leptumグループ）とB. fragilisグループの菌量がPDで有意に減少したことが示された。一方、PD患者でLactobacillusの菌量は増加したが、保菌率に有意差はなかった。プレボテラ属の菌量と保菌率はPD患者で減少したが、有意差はなかった。全体的に見ると、グラム陰性菌の菌量は大幅に減少した。

フィルミクテス門／バクテロイデス門の比率は、PDに関する研究間で多少の変動がみられ[59]、大規模研究でない限り、それ自体では信頼できる測定基準ではない可能性がある。Ungerら[60]は、PD患者の腸内細菌叢では、対照と比較して、SCFA産生の減少とバクテロイデス門の菌量増加が特徴的であることを示した。分類学的に詳細レベルの研究では、いくつかのバクテロイデス種の減少が報告されている[61]。さらに、PD患者におけるdysbiosisについて2年間の観察研究[62]では、B. fragilis群は安定患者と比較して増悪患者で有意に減少したことが示された。そして彼らは、研究開始時のB. fragilisの菌量が少ないことが、2年後の病気の進行と重症度の増加と関連していることを見出した。

腸管に生息する多種の細菌の複雑な相互作用はまだ完全には解明されていない。腸内細菌はSCFA産生、腸管内皮の透過性、酸性度などに影響を及ぼし、これらの因子がが神経変性疾患の病態に重要な役割を果たすことは明らかである。

今回の試験結果では12例の推移は下記の通りであった。

エンテロタイプI　8例 → 12例
エンテロタイプII　2例 → 1例（バクテロイデス30％以上あり）
エンテロタイプIII　2例 → 0例

本試験では認知症指標として、Aβ40/42比を用いた。Aβ40の有意の上昇にもかかわらずAβ40/42比に変化がなかったことから、Aβ40クリアランスが上昇し、脳から血中への移行が増えた可能性がある。我々の研究室ではAβ40/42比の年齢推移について検討し、加齢にともなって増加する所見を得ている[63,64]。有隣地区の自立高齢者は10年近くウォーキング運動を実践し、糖化ストレスが低い集団であるため、他の集団に比べてAβ40/42比は下方にシフトしている。今回の被験者は「睡眠の質」が低下傾向にある集団であるが、他の集団に比べてAβ40/42比が高い例が散見される。「睡眠の質」がAβ40/42比を高める要因であるか否かについては、今後の検証が必要である。本試験では「睡眠の質」が高まったにもかかわらずAβ40/42比は変化なかった。8週間という短期間ではAβ40/42比の変化を検知できなかったと推測している。

Bacteroidesと短鎖脂肪酸

近年のメタゲノミクス、プロテオミクスやメタボロミクスなどのオミクス解析や分析技術の発展に伴い、腸内細菌叢における単一菌種の同定や変動だけでなく腸内細菌由来の代謝物が宿主のエネルギー代謝と密接に関与することがわかってきた。SCFAは、食物繊維を基質とし、腸内細菌の発酵によって生じる代表的な腸内細菌由来代謝物である。宿主のエネルギー代謝機能、免疫機能、エピゲノム制御にまで影響を及ぼす。SCFAは脂肪酸受容体やG蛋白共役受容体（G protein-coupled receptors; GPCRs）に認識されることにより機能が発揮される。なかでもGPR41やGPR43は宿主のエネルギー代謝恒常性維持に深く関わっている[8]。GPCRsのシグナルにより基礎代謝の増加、体温上昇、インスリン感受性の改善、脂肪分解の促進が惹起される。

ヨーロッパと中国における2型糖尿病患者を対象とした大規模コホート研究では、2型糖尿病患者の腸内細菌叢において酪酸産生クロストリジウム属の割合が低く、非

酪酸産生クロストリジウム属の割合が高いことが示されている[65, 66]。2型糖尿病患者の糞便中では短鎖脂肪酸量が低下している[67]。

BcteroidesはSCFAに深く関わっている。SCFAの産生は、摂取された栄養成分の利用具合、腸内細菌叢の細菌構成および腸内通過時間に左右される。腸内SCFAの大部分は、近位腸での炭水化物の細菌分解に由来するが、蛋白やペプチドの消化産物はSCFA産生に促進的に作用する[68]。炭水化物の中でフラクトオリゴ糖（FOS）は、ヒトが経口摂取することによって宿主の消化酵素によって分解されにくい難消化性糖類である。オリゴ糖の大部分は腸管下部に到達し、主に大腸内のBifidobacteriumなどが産生するβ-fructosidaseによってグルコースとフラクトースに分解される。それにより腸内細菌叢が変化し、腸内細菌によるSCFAや乳酸の産生が増える[69-71]。その結果、腸管内は弱酸性に保たれ、便性や排便回数の恒常性が保たれる。FOSは腸内のBifidobacteriumだけでなく、Bacteroidesの増殖を活性化する[72]。HMOシアリルラクトース（SL）やガラクトオリゴ糖（GOS）の添加は、バクテロイデスとビフィズス菌の増殖を促進し、SCFA産生が増え、腸管上皮の創傷治癒促進や上皮バリア機能を強化することが示されている。ビフィズス菌（*Bifidobacterium*）によって産生されるエキソポリサッカライド（微生物が菌体外に産生する多糖体の総称）はB.フラジリス（*B. fragilis*）によるプロピオン酸および酢酸の産生を増やすため、2つの属は協力してさらにSCFA産生が促進する[73]。

今回の試験結果ではBacteroides属の割合が増えていることから、Bacteroides属由来SCFAの割合は増加していると推測できる。

Bacteroides属以外の細菌の変動ついてSCFA産生の観点から考察する。

Bifidobacterium属は酢酸と乳酸を産生する[74]。乳酸は厳密に言えばSCFAに属さないが、腸管内を弱酸性に保つことで他のSCFA産生菌の繁殖を助け、乳酸を資化する酢酸産生菌の繁殖を助ける。本試験ではBifidobacterium属の割合に有意な増加所見は見られなかったが、少なくとも減少はしていない。

Coriobacteriaceae科のCollinsella aerofaciensは90％以上のヒトの腸内に広く分布しており、大便1gあたり約10億個もの高菌数で検出される。ブドウ糖や乳糖を資化して有機酸や水素ガスを産生する[75]。同科のCollinsella tanakaeiはグルコースを代謝して乳酸、酢酸およびギ酸を産生する[76]。Coriobacteriaceae科の割合に有意な増加所見は見られなかったが、少なくとも減少はしていない。本試験では腸内細菌叢の全細菌数の1.8％から2.2％への変化であり、全体からみた割合は小さい。

Lactobacillales目は乳酸菌を主とした菌を含むフィルミクテス門の細菌の目の一つである[77, 78]。乳酸菌のほとんどがLactobacillales目に含まれる。乳酸菌は文字とおり乳酸を産生する。本試験ではLactobacillales目の割合は若干減っているように見えるが、有意差はついていない。腸内細菌叢の全細菌数の2.4％から1.3％への変化であり、全体からみた割合は小さい。

Prevotellaceae科はヒト腸管内では蛋白質や炭水化物の食品の分解を助ける[79]。日和見病原体である可能性があり、歯周病にも関与する[80]。SCFAとの関連は少ない細菌である。本試験ではPrevotellaceae科の割合に有意な減少所見は見られなかったが、少なくとも増加はしていない。

Clostridium cluster IV（Ruminococcaceae科）に属するFaecalibacterium prausnitziiは、ヒトの腸内細菌叢の豊富な共生細菌である[81]。本菌は全腸内細菌のおよそ5％を占める。本菌は酢酸を資化して酪酸を産生する。Ruminococcaceae科に属するButyricicoccus faecihominisは腸管上皮細胞から分泌される粘液成分ムチンを資化して酪酸を産生する[82]。本菌はヒト腸内に広く分布するが、糞便中の生菌数は少ない。本試験ではRuminococcaceae科の割合に有意な増加所見は見られなかったが、少なくとも減少はしていない。

Clostridium subcluster XIVa（Lachnospiraceae科）は様々な植物由来の多糖類を資化してSCFA（酪酸、酢酸）を産生する[83]。一部は発酵によるエタノールになる。本試験においてもLachnospiraceae科は約25％を占める豊富な細菌群であることがわかる。本科の割合に有意な増加所見は見られなかったが、少なくとも減少はしていない。

Clostridium cluster IX（Negativicutes綱）Akkermansia属細菌はムチン分解性でムチンを唯一のエネルギー源としている。ムチンの分解は腸管バリアの破壊につながるため病原性因子とみなされるが、一方でムチン分解生成物が他の常在細菌の栄養を提供するとの見方もある[84]。SCFAとの関連は少ない。本試験では有意な変化は認められなかったが、12例中8例で減少していた。

Clostridium cluster XI（Peptostreptococcaceae科）は大腸癌患者の腸管内で多く認められる[85]。SCFAとの関連は少ない細菌である。本科に属するClostridium difficileはトキシンAおよびトキシンBを産生し、偽膜性大腸炎の原因菌としても知られる。抗菌薬の投与により腸内細菌叢のディスバイオシスが生じると、多剤耐性ディフィシル菌が増殖する[86]。本試験では12例中6例に検出され、そのうち4例で減少、うち3例は検出されなくなった。「睡眠の質」向上に伴う好影響と考えられる。

Clostridium cluster XVIII（Erysipelotrichaceae科）は腸内細菌としてヒトでも検出される場合があり、豚丹毒を引き起こす豚丹毒菌などヒトや動物に感染症を引き起こすものも存在する[87]。SCFAとの関連は少ない細菌である。高脂質食飼育マウスでは本科の細菌が増加する[88]。本試験では12名中2例に検出され、1例は8週後に消失、もう1例は増加した。前値で非検出であった10例のうち1例で8週後に陽性化を認めた。

SCFA産生に貢献するBifidobacterium属、Coriobacteriaceae科、Lactobacillales目、Bacteroides属、Clostridium cluster

IV（Ruminococcaceae 科）、Clostridium subcluster XIVa（Lachnospiraceae 科）の合計割合を比較すると、前値（75.9％）から8週後（82.1％）に有意に増加していた（p = 0.029、*Table 4*）。「睡眠の質」向上によりSCFA産生の増加を示唆する所見と思われる。過去の臨床試験にて示された「睡眠の質」向上に伴う免疫能改善効果[6]、耐糖能改善効果[7]の作用機序については、その一部に腸内細菌が産生するLPSやSCFAが関与する可能性がある。

結論

試験品寝具の8週間の使用により「睡眠の質」が向上することがPSQI-J評価により再確認された。認知機能指標として測定した血漿Aβ40/42比には有意な変化はなかったが、腸内細菌叢解析ではBacteroides科細菌の割合、SCFA関連細菌群の割合が有意に増加した。これらの所見より、「睡眠の質」向上が腸脳連関を介して腸内細菌叢の変化を惹起し、細菌代謝産物（LPS、SCFA）を介して免疫能ならびに糖代謝・エネルギー代謝の恒常性維持に好影響をもたらす可能性が示唆された。睡眠障害は認知症リスク増大となることが近年明らかになっており[8,9]、睡眠研究は今後増々重要となるだろう。

利益相反申告

本研究を遂行するにあたり西川株式会社より研究支援を受けた。

謝辞

本研究の一部は文部科学省研究助成（20K11593）によって実施された。本論文の内容の一部は2020年第1回人間ドック健診専門医研修会（2021年5月WEB講演）にて発表した。

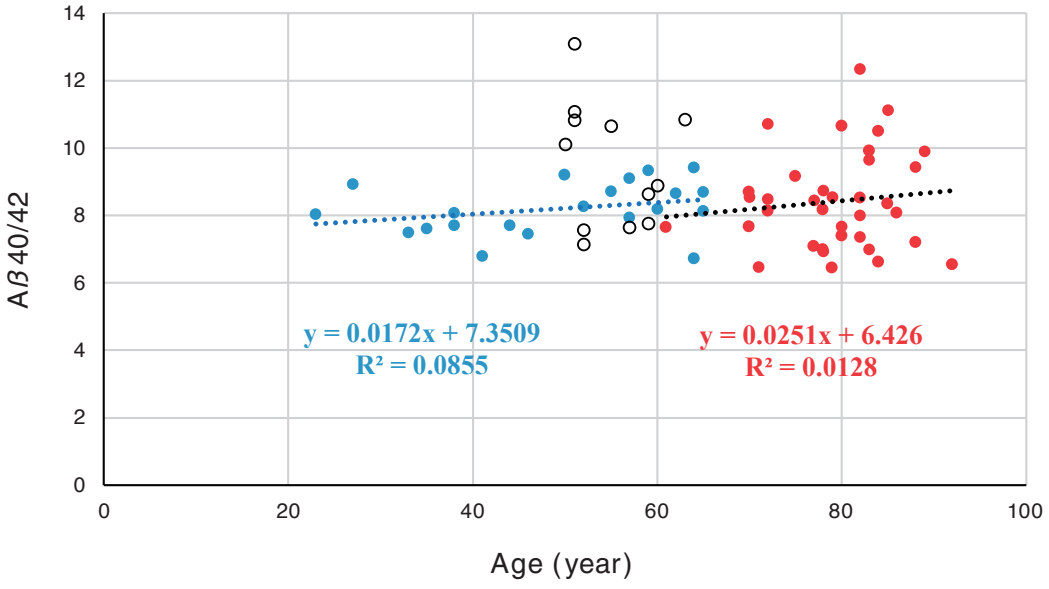

Fig. 3. **Aging transition of Aβ40/42.**

●University faculty and staff (n = 21), ●Independent elderly in the Yurin area (n = 36), ○Subjects with sleep disorders (n = 12 in the present study). The plasma Aβ40/42 ratio shows a gradual upward trend with aging. The elderly in the Yurin area is a group of people who walk about 7,000 steps a day more than the average of the same generation and have less glycative stress. Data quoted from References 63, 64).

Table 4. Changes of the gut microbiota by T-RFLP analysis.

Age	Gender	Genus *Bifidobacterium*		Family *Coriobacteriaceae*		Order Lactobacillales		Genus *Bacteroides*		Family *Prevotellaceae*		*Clostridium* cluster IV (Family *Ruminococcaceae)*		*Clostridium* subcluster XIVa (Family *Lachnospiraceae)*		*Clostridium* cluster IX (Class *Negativicutes)*, Genus *Akkermansia*		*Clostridium* cluster XI (Family *Peptostreptococcaceae)*		*Clostridium* cluster XVIII (Family *Erysipelotrichaceae)*		others		SCFA related	
		%		%		%		%		%		%		%		%		%		%		%		%	
		Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week	Pre	8 week
50	Male	1.0	7.6	1.3	3.2	14.1	8.1	18.4	30.4	22.4	0.0	0.8	6.7	13.3	21.1	12.1	4.3	0.2	0.0	0.0	0.0	16.5	18.5	48.8	77.2
52	Female	11.4	6.9	2.8	1.8	1.2	0.4	42.4	44.9	0.0	0.0	3.0	1.9	17.2	14.0	8.7	20.7	0.0	0.0	0.0	0.0	13.5	9.4	77.8	69.9
51	Female	2.4	8.2	1.9	2.1	0.6	0.3	28.7	30.6	0.0	0.3	15.0	11.3	35.7	35.3	1.9	1.9	0.7	0.5	0.0	0.0	13.2	9.6	84.2	87.7
51	Male	9.2	20.1	1.8	1.8	1.3	1.3	35.3	35.5	0.0	0.0	4.5	5.7	28.5	20.6	3.4	1.8	0.3	0.0	0.0	0.7	15.7	12.7	80.5	84.9
63	Male	9.4	0.7	1.3	1.7	0.8	0.0	51.9	56.9	0.0	0.0	0.9	2.5	16.4	28.6	1.6	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	17.7	8.1	80.7	90.5
59	Female	1.8	7.1	1.3	1.4	1.5	0.4	33.6	33.9	0.0	0.0	8.6	9.9	24.6	30.9	4.6	3.1	0.3	0.0	0.0	0.0	23.6	13.4	71.5	83.5
55	Male	10.9	8.8	3.3	2.8	1.2	0.7	32.9	40.8	0.0	0.0	1.5	3.2	29.3	25.6	8.9	9.7	0.0	0.0	0.0	0.0	12.1	8.4	79.0	81.9
51	Female	0.5	0.6	1.7	1.9	4.0	0.5	27.1	37.4	30.4	24.7	1.1	0.8	22.4	23.9	1.5	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	11.3	9.0	56.8	65.1
59	Female	8.0	2.2	2.0	2.0	1.2	1.4	29.1	39.4	5.2	6.5	10.3	11.0	26.9	21.7	2.7	3.0	0.0	0.8	0.3	0.5	14.3	11.5	77.6	77.7
52	Female	3.8	0.2	1.8	2.1	0.6	0.0	36.3	44.1	0.0	0.0	13.0	8.2	29.7	34.5	1.7	1.5	0.7	0.8	0.3	0.0	12.0	8.5	85.2	89.2
57	Female	10.0	8.7	0.8	1.0	1.7	0.2	34.4	41.8	0.0	0.0	6.2	5.8	29.2	29.9	2.9	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	14.7	11.2	82.4	87.3
60	Female	4.9	6.1	2.0	4.6	0.5	1.8	32.1	36.6	0.0	0.0	17.9	16.1	28.9	25.5	4.1	1.3	0.7	0.9	0.0	0.0	8.8	7.1	86.4	90.7

T-RFLP, Terminal restriction fragment length polymorphism analysis; SCFA, short-chain fatty acid.

参考文献

1) 田島朋知, 和田裕雄, 木村真奈, 他. 睡眠障害とストレス. *ストレス科学*. 2018; 33: 1-9.
2) 後藤伸子. 糖代謝における睡眠の重要性. *慶應保健研究*. 2019; 37: 23-28.
3) 得能智武. 睡眠時無呼吸症候群と高血圧. *臨床検査*. 2019; 63: 1465-1469.
4) 宮田聖子, 野田明子, 岩本邦弘, 他. 睡眠と脂質代謝との関連. *オレオサイエンス*. 2019; 63: 1465-1469.
5) Takabe W, Ogura M, Yagi M, et al. Effect on sleep quality of bedding with a high user rating in a post-marketing survey: A non-controlled open-label study. *Glycative Stress Res*. 2016; 3: 110-123.
6) Ogura M, Takabe W, Yagi M, et al. Effect of mats with "A Distinctive 4-Layer 3-Dimensional Structure" on sleep quality, anti-oxidative and immunological function. *Glycative Stress Res*. 2017; 4: 172-183.
7) Ogura M, Hattori A, Yagi M, et al. Effect of mats with "A Distinctive 4-Layer 3 -Dimensional Structure" on sleep quality and nocturnal blood glucose: A crossover trial. *Glycative Stress Res*. 2019; 6: 49-63.
8) Ando M, Yagi M, Takabe W, et al. Effects of mats with "A Distinctive 4-Layer 3-Dimensional Structure" on sleep quality, skin function, and fatigue: A non-controlled open-label study. *Glycative Stress Res*. 2020; 7: 75-87, 2020.
9) 土井由利子. ピッツバーグ睡眠質問票日本語版の作成. *精神科治療学*. 1998; 13: 755-763.
10) 許斐氏元, 鈴木 衞, 小川恭生, 他. ピッツバーグ睡眠質問票日本版を用いためまい患者における睡眠障害の検討. *Equilibrium Res*. 2014; 73: 502-511.
11) Takeshita T, Nakano Y, Yamashita Y. Improved accuracy in terminal restriction fragment length polymorphism phylogenetic analysis using a novel internal size standard definition. *Oral Microbiol Immunol*. 2007; 22: 419-428.
12) Seura T, Fukuwatari T. Japanese diet score is associated with gut microbiota composition in young Japanese adults. *J Nutr Sci Vitaminol* (Tokyo). 2019; 65: 414-420.
13) Kinross J, Darzi A, Nicholson J. Gut microbiome-host interactions in health and disease. *Genome Med*. 2011; 3: 14.
14) Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiome shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9: 313-323.
15) Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*. 2012; 108: 1262-1268.
16) Shimizu H, Ohue-Kitano R, Kimura I. Regulation of host energy metabolism by gut microbiota-derived short-chain fatty acids. *Glycative Stress Res*. 2019; 6: 181-191.
17) Sudo N. Role of gut microbiota in brain function and stress-related pathology. *Biosci Microbiota Food Health*. 2019; 38: 75-80.
18) MishimaY, IshiharaS. Molecular mechanisms of microbiota-mediated pathology in irritable bowel syndrome. *Int J Mol Sci*. 2020; 21: 8664.
19) Mitsuoka T. Development of functional foods. *Biosci Microbiota Food Heal*. 2014; 33: 117-128.
20) Nakayama J. Pyrosequence-based 16S rRNA profiling of gastrointestinal microbiota. *Biosci Microflora*. 2010; 29: 83-96.
21) 細野 朗. バクテロイデスと免疫. *腸内細菌学雑誌*. 2013; 27: 203-209.
22) Ling Z, Li Z, Liu X, et al. Altered fecal microbiota composition associated with food allergy in infants. *Appl Environ Microbiol*. 2014; 80: 2546-2554.
23) Nakayama J, Kobayashi T, Tanaka S, et al. Aberrant structures of fecal bacterial community in allergic infants profiled by 16S rRNA gene pyrosequencing. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2011; 63: 397-406.
24) Macia L, Tan J, Vieira AT, et al. Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nat Commun*. 2015; 6: 6734.
25) Fukuda S, Toh H, Hase K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature*. 2011; 469: 543-547.
26) Wu W, Sun M, Chen F, et al. Microbiota metabolite short-chain fatty acid acetate promotes intestinal IgA response to microbiota which is mediated by GPR43. *Mucosal Immunol*. 2017; 10: 946-956.
27) Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med*. 2014; 20: 159-166.
28) Yanagibashi T, Hosono A, Oyama A, et al. *Bacteroides* induce higher IgA production than Lactobacillus by increasing activation-induced cytidine deaminase expression in B cells in murine Peyer's patches. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2009; 73: 372-377.
29) Yanagibashi T, Hosono A, Oyama A, et al. IgA production in the large intestine is modulated by a different mechanism than in the small intestine: *Bacteroides* acidifaciens promotes IgA production in the large intestine by inducing germinal center formation and increasing the number of IgA+B cells. *Immunobiology*. 2013; 218: 645-651.
30) Smith PM, Howitt MR, Panikov N, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science*. 2013; 341: 569-574.
31) Bry L, Falk PG, Midtvedt T, et al. A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem. *Science*. 1996; 273: 1380-1383.
32) Ivanov II, Atarashi K, Manel N, et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*. 2009; 139: 485-498.
33) Hidaka H, Eida T, Takizawa T, et al. Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria Microflora*. 1986; 5: 37-50.
34) Atarashi K, Tanoue T, Shima T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*. 2011; 331: 337-341.
35) Yanagibashi T, Hosono A, Oyama A, et al. *Bacteroides* induce higher IgA production than Lactobacillus by increasing activation-induced cytidine deaminase expression in B cells in murine Peyer's patches. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2009; 73: 372-377.
36) Ozaki D, Kubota R, Maeno T, et al. Association between gut microbiota, bone metabolism, and fracture risk in postmenopausal Japanese women. *Osteoporos Int*. 2021; 32: 145-156.
37) Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011; 334: 105-109.

38) Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006; 444: 1022-1023.
39) Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009; 106: 2365-2370.
40) Furet JP, Kong LC, Tap J, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: Links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*. 2010; 59: 3049-3057.
41) Brandscheid C, Schuck F, Reinhardt S, et al. Altered Gut Microbiome Composition and Tryptic Activity of the 5xFAD Alzheimer's Mouse Model. *J Alzheimers Dis*. 2017; 56: 775-788.
42) Minter MR, Hinterleitner R, Meisel M, et al. Antibiotic-induced perturbations in microbial diversity during post-natal development alters amyloid pathology in an aged APPSWE/PS1ΔE9 murine model of Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 2017; 7: 10411.
43) Magnusson KR, Hauck L, Jeffrey BM, et al. Relationships between diet-related changes in the gut microbiome and cognitive flexibility. *Neuroscience*. 2015; 300: 128-140.
44) Saji N, Niida S, Murotani K, et al. Analysis of the relationship between the gut microbiome and dementia: A cross-sectional study conducted in Japan. *Sci Rep*. 2019; 9: 1008.
45) Zhuang ZQ, Shen LL, Li WW, et al. Gut Microbiota is Altered in Patients with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2018; 63: 1337-1346.
46) Li B, He Y, Ma J, et al. Mild cognitive impairment has similar alterations as Alzheimer's disease in gut microbiota. *Alzheimers Dement*. 2019; 15: 1357-1366.
47) Saji N, Murotani K, Hisada T, et al. The relationship between the gut microbiome and mild cognitive impairment in patients without dementia: a cross-sectional study conducted in Japan. *Sci Rep*. 2019; 9: 19227.
48) Liu P, Wu L, Peng G, et al. Altered microbiomes distinguish Alzheimer's disease from amnestic mild cognitive impairment and health in a Chinese cohort. *Brain Behav Immun*. 2019; 80: 633-643.
49) Haran JP, Bhattarai SK, Foley SE, et al. Alzheimer's Disease Microbiome Is Associated with Dysregulation of the Anti-Inflammatory P-Glycoprotein Pathway. *mBio*. 2019; 10: e00632-19.
50) Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 2017; 7: 13537.
51) Manderino L, Carroll I, Azcarate-Peril MA, et al. Preliminary Evidence for an Association Between the Composition of the Gut Microbiome and Cognitive Function in Neurologically Healthy Older Adults. *J Int Neuropsychol Soc*. 2017; 23: 700-705.
52) Ramakrishna C, Kujawski M, Chu H, et al. *Bacteroides fragilis* polysaccharide A induces IL-10 secreting B and T cells that prevent viral encephalitis. *Nat Commun*. 2019; 10: 2153.
53) Cattaneo A, Cattane N, Galluzzi S, et al. Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. *Neurobiol Aging*. 2017; 49: 60-68.
54) Stadlbauer V, Engertsberger L, Komarova I, et al. Dysbiosis, gut barrier dysfunction and inflammation in dementia: a pilot study. *BMC Geriatr*. 2020; 20: 248.
55) Yoshida N, Emoto T, Yamashita T, et al. *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides dorei* reduce gut microbial lipopolysaccharide production and inhibit atherosclerosis. *Circulation*. 2018; 138: 2486-2498.
56) Cano PG, Santacruz A, Moya Á, et al. *Bacteroides uniformis* CECT 7771 ameliorates metabolic and immunological dysfunction in mice with high-fat-diet induced obesity. *PLoS One*. 2012; 7: e41079.
57) Saji N, Murotani K, Hisada T, et al. Relationship between dementia and gut microbiome-associated metabolites: a cross-sectional study in Japan. *Sci Rep*. 2020; 10: 8088.
58) Hasegawa S, Goto S, Tsuji H, et al. Intestinal dysbiosis and lowered serum lipopolysaccharide-binding protein in Parkinson's disease. *PLoS One*. 2015; 10: e0142164.
59) Unger MM, Spiegel J, Dillmann KU, et al. Short chain fatty acids and gut microbiota differ between patients with Parkinson's disease and age-matched controls. *Parkinsonism Relat Disord*. 2016; 32: 66-72.
60) Gerhardt S, Mohajeri MH. Changes of colonic bacterial composition in Parkinson's disease and other neurodegenerative Ddiseases. *Nutrients*. 2018; 10: 708.
61) Petrov VA, Saltykova IV, Zhukova IA, et al. Analysis of gut microbiota in patients with Parkinson's disease. *Bull Exp Biol Med*. 2017; 162: 734-737.
62) Minato T, Maeda T, Fujisawa Y, et al. Progression of Parkinson's disease is associated with gut dysbiosis: Two-year follow-up study. *PLoS One*. 2017; 12: e0187307.
63) Meno M, Yokota S, Hashimoto M, et al. Plasma amyloid β 40/42 ratio and its characteristics. *Glycative Stress Res*. 2021; 8: 62-72.
64) Yonei Y, Yagi M, Meno M. Anti-aging medical checkup and its evidence. *Ningen Dock International*. 2020; 8: 1-6.
65) Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013; 498: 99-103.
66) Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012; 490: 55-60.
67) Sato J, Kanazawa A, Ikeda F, et al. Gut dysbiosis and detection of "live gut bacteria" in blood of Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2014; 37: 2343-2350.
68) Macfarlane S, Macfarlane GT. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc*. 2003; 62: 67-72.
69) Hidaka H, Eida T, Takizawa T, et al. Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria Microflora*. 1986; 5: 37-50.
70) 光岡知足. 腸内フローラの研究と機能性食品. *腸内細菌学雑誌*. 2002; 15: 57-89.
71) Perdijk O, van Baarlen P, Fernandez-Gutierrez MM, et al. Sialyllactose and galactooligosaccharides promote epithelial barrier functioning and distinctly modulate microbiota composition and short chain fatty acid production in vitro. *Front Immunol*. 2019; 10: 94.
72) 光岡知足. プレバイオティクスと腸内フローラ. *腸内細菌学雑誌*. 2002; 16: 1-10.
73) Rios-Covian D, Cuesta I, Alvarez-Buylla JR, et al. *Bacteroides fragilis* metabolises exopolysaccharides produced by bifidobacteria. *BMC Microbiol*. 2016; 16: 150.
74) 牛嶋 彊. 成人と母乳栄養新生児の腸管内容物模擬培地による嫌気連続培養における腸内常在菌の腸管出血性大腸菌に対する拮抗作用の差異. *医学と生物学*. 1997; 134: 149-154.

75) Qin P, Zou Y, Dai Y, et al. Characterization a novel butyric acid-producing bacterium *Collinsella aerofaciens* Subsp. *Shenzhenensis* Subsp. Nov. *Microorganisms*. 2019; 7: 78.
76) Nagai F, Watanabe Y, Morotomi M. *Slackia piriformis* sp. nov. and *Collinsella tanakaei* sp. nov., new members of the family *Coriobacteriaceae*, isolated from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010; 60: 2639-2646.
77) 遠藤明仁. Dicks L.M.T. 乳酸菌の分類・同定法の変遷と Lactobacillus 属再分類の動き. *日本乳酸菌学会誌*. 2020; 31: 3-9.
78) Mokoena MP. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: Classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini-review. *Molecules*. 2017; 22: 1255.
79) Morotomi M, Nagai F, Sakon H, et al. *Paraprevotella clara* gen. nov., sp. nov. and *Paraprevotella xylaniphila* sp. nov., members of the family '*Prevotellaceae*' isolated from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009; 59: 1895-1900.
80) Branchereau M, Reichardt F, Loubieres P, et al. Periodontal dysbiosis linked to periodontitis is associated with cardiometabolic adaptation to high-fat diet in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016; 310: G1091-1101.
81) Fujimoto T, Imaeda H, Takahashi K, et al. Decreased abundance of Faecalibacterium prausnitzii in the gut microbiota of Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013; 28: 613-619.
82) Takada T, Watanabe K, Makino H, et al. Reclassification of *Eubacterium desmolans* as *Butyricicoccus desmolans* comb. nov., and description of *Butyricicoccus faecihominis* sp. nov., a butyrate-producing bacterium from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016; 66: 4125-4131.
83) Morimura K, Ueda K. Whole-genome sequence of *Lachnospiraceae* bacterium NBRC 112778, isolated from a mesophilic methanogenic bioreactor. *Microbiol Resour Announc*. 2020; 9: e01412-19.
84) Derrien M, Vaughan EE, Plugge1 CM, et al. *Akkermansia* muciniphila gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004; 54: 1469-1476.
85) Ahn J, Sinha R, Pei Z, et al. Human gut microbiome and risk for colorectal cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2013; 105: 1907-1911.
86) Cole SA, Stahl TJ. Persistent and recurrent *Clostridium difficile* colitis. *Clin Colon Rectal Surg*. 2015; 28: 65-69.
87) Ogawa Y, Ooka T, Shi F, et al. The genome of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, the causative agent of swine erysipelas, reveals new insights into the evolution of *firmicutes* and the organism's intracellular adaptations. *J Bacteriol*. 2011; 193: 2959-2971.
88) Davis JJ, Xia F, Overbeek RA, et al. Genomes of the class Erysipelotrichia clarify the firmicute origin of the class Mollicutes. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2013; 63: 2727-2741.
89) Sabia S, Fayosse A, Dumurgier J, et al. Association of sleep duration in middle and old age with incidence of dementia. *Nat Commun*. 2021; 12: 2289.