

第5期 第8回創発セミナー

腸内細菌をめぐる最新の話

大隅基礎科学創成財団 理事
大谷清

大隅基礎科学創成財団は2022年6月21日午後4時からオンラインで第5期第8回創発セミナー「腸内細菌をめぐる最新の話」を開きました。冒頭、大隅良典理事長より「今回はたいへん身近なテーマでもあり、多くの参加者との間で活発な議論が交わされることを期待しています」との挨拶があり、飯田秀利理事の司会で二人の講師から最先端の研究成果が披露されました。全国から210人の参加者が視聴、数多くの質問や議論が午後6時まで続きました。以下にその要旨を報告します。

宿主－腸内細菌相互作用

理化学研究所 生命医科学研究センター
粘膜システム研究チームリーダー
大野 博司

細菌類は地球上に登場した最初の生物で、あらゆる自然環境に合わせて進化してきた。現在、地球上の全生物のバイオマスの3分の1から2分の1が細菌類と言われている。ヒトの個体を構成する細胞の数は30兆だが、大腸に常在する細菌叢（腸内フローラ）は500-1000種類、数は細胞数より多い40兆以上と言われる。

こうした多種多様な菌は互いに作用し合うとともに宿主であるヒトに共生して宿主の生理、病理に大きな影響を与えている。ヒトは菌と一体化した超生命体ともいふべき存在で、菌独自の代謝が宿主としてのヒトに多大な影響を与え、従ってヒトの健康には腸内細菌の理解が不可欠だ。

腸内細菌の研究は1681年にヒトの糞便を顕微鏡観察して多数の細菌が発見されたのが始まりで、1885年にパスツールが動物の生存には腸内細菌が不可欠とする論を展開したが、1945年の無菌ラットの繁殖成功でそれが覆された歴史がある。

最近では次世代ゲノムシーケンサーの登場と進化で腸内細菌叢の遺伝子情報の総体を明らかにするメタゲノム解析ができるようになり、健康な人と疾患のある人のメタゲノム比較解析から、腸内細菌叢のバランスの乱れが消化器疾患だけでなく免疫・アレルギーや糖尿病、肥満などのメタボリック症候群、さらにはうつ病や脳神経疾患など多種多様な疾患の要因となることが次々に明らかになってきた。

ただメタゲノム解析では遺伝子の組成や配列情報は得られるが、あくまで遺伝子のカタログ作りで、それぞれの遺伝子から転写されるメッセンジャーRNA (mRNA) の量や、そこからタンパク質がどのくらい発現するか、どのような代謝物がどれくらい産生され、宿主の生体活動にどんな影響を与えるか、といった腸内細菌叢と宿主の相互作用までは解析できない。

そこで我々は遺伝子配列の網羅的解析（ゲノミクス）に加え、ゲノムにどのような修飾がなされるかの網羅的解析（エピゲノミクス）、遺伝子発現の網羅的解析（トランスクリプトミクス）、代謝産物の網羅的解析（メタボロミクス）などを組み合わせ多重相関分析する「統合オミクス手法」でアプローチした。

ヒトの腸内常在細菌のうち、ある種のビフィズス菌はO157（腸管出血性大腸菌）によるマウス



の感染死を防ぐ。その仕組みを無菌マウスを使って統合オミクス手法で解析すると、ビフィズス菌が作り出す酢酸が腸の粘膜上皮の抵抗力を増強することがわかった。我々が世界で初めて明らかにした仕組みだ。

ビフィズス菌は糖を食べて酢酸を作る。糖にはブドウ糖や果糖があり、ビフィズス菌は初めブドウ糖を食べて酢酸を作り、ブドウ糖がなくなると果糖を食べて酢酸を作る。しかしビフィズス菌の中には果糖トランスポーター遺伝子を持たず果糖を食べられないものもあり、そうした菌は酢酸の濃度を維持することができない。O157 に対する抵抗力は腸の末端部まで酢酸が十分にあることが重要で、酢酸が少ないと抵抗性が保てなくなる。

我々はまた、腸内細菌による制御性 T 細胞の誘導も明らかにした。腸内細菌由来の酪酸が大腸内で制御性 T 細胞を誘導し、過剰な免疫応答、免疫異常を防ぐこともわかった。

転写因子の Foxp3 を発現する制御性 T 細胞は異常な、あるいは過剰な免疫反応を制御することで自己免疫疾患や炎症、アレルギーなどの様々な病的免疫応答を制御することがわかっている。

マウスに難消化性食物繊維の豊富な餌を与えて盲腸内容物を調べると、ある種のアミノ酸が増え、中でも酪酸が制御性 T 細胞を最も強く誘導していた。腸炎を起こしたマウスに酪酸を与えると症状が軽減された。ヒトにおいても炎症性腸疾患患者では健常者などと比較して酪酸産生菌が減少していること、潰瘍性大腸炎患者に酪酸を注腸すると軽快することなどが報告されている。

腸内細菌叢が関わる疾患には腸では炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、大腸がん、免疫ではアレルギーや自己免疫疾患のほか、神経系では多発性硬化症、自閉症、うつ・不安障害、パーキンソン病、代謝系では肥満、糖尿病、脂肪肝・肝がん、動脈硬化症など数多くある。その原因は多くの場合腸内における細菌叢の多様性の喪失だ。

無菌マウスに糖尿病患者の便を移植すると同じ症状が出て、健常者の便を移植すると症状は抑えられることがわかった。肥満に伴う腸内細菌の変化が肝がんの発症を促進する。マウスに高脂肪食を食べさせると、脂肪食によって増える細菌の働きでデオキシコール酸（2 次胆汁酸）が増え、DNA を損傷してがんの発症を促進する。動脈硬化もまた、細胞膜糖脂質の腸内細菌による代謝物が吸収され、宿主の肝臓の酵素でさらに代謝されてできた物質が動脈硬化巣を悪化させる。

腸内のエコシステムの破綻が慢性疾患をもたらしている。しかしそのメカニズムはまだ明らかにされていない。我々は「衛生環境が改善して感染性微生物や寄生虫への暴露が減り、そこに腸内細菌叢の変調が加わって免疫系の正常な発達が阻害され、その結果、先進国における自己免疫疾患やアレルギーなどの免疫異常が急増している」を作業仮説にして糖尿病と多発性硬化症を分析した。

1 型糖尿病 (T1D) はインスリンを分泌する膵臓の細胞が自己の免疫細胞によって破壊され、高血糖が引き起こされる自己免疫疾患の一つだ。T1D のモデルマウスに腸管寄生線虫の Hp を感染させると発症が抑制される。そのメカニズムは、寄生虫がトレハロースという糖を分泌することでルミノコッカス (*Ruminococcus*) 属の腸内細菌が増殖し、この菌によって制御性 T 細胞 (CD8Treg) が誘導されることにより膵臓の細胞破壊が食い止められ、発症が抑えられる。このことを下川周子客員研究者らと共同で明らかにした。

1 型糖尿病患者では CD8Treg やルミノコッカスが有意に少ないこともわかった。この研究成果は、現代病と言われる自己免疫疾患や花粉症などが増加したのは感染症が減少したからだ、という「衛生仮説」を科学的に証明したことにもなる。

もう一つの自己免疫疾患である多発性硬化症は有髄神経繊維を形成するミエリン鞘に対する自己免疫により、脳脊髄に多発性の障害をきたし、視覚障害や四肢の麻痺などを引き起こす疾患で、

近年増加している。実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) を発症させた動物モデルではヘルパーT細胞、特に細胞間の情報伝達などを担うサイトカインのインターロイキン-17 (IL-17) を産生するTh17細胞が、病気の発症や進行に大きく寄与していることがわかっていた。

我々は宮内栄治研究員らと共同で EAE を発症させたマウスを使い、自分自身の細胞や組織の抗原に反応する T 細胞 (自己応答性 T 細胞) が小腸に内在する細菌によって活性化され、中枢神経系の自己免疫性炎症を悪化させることを明らかにした。

多発性硬化症は神経軸索を覆うミエリン (髄鞘) に特異的な T 細胞によって引き起こされると考えられている。我々は種類の異なる抗生物質を投与したマウスを用意し、ミエリンを構成するタンパク質の一つである MOG を投与して EAE を発症させて調べたところ、アンピシリンという抗生物質を投与したマウスだけは EAE の症状が緩和された。アンピシリンは炎症性サイトカイン産生を抑制する働きを持っていることがわかった。

さらに近年、多発性硬化症の患者の腸内細菌叢が健常者と異なることも明らかになっていた。そこで次世代シーケンサーを用いて各マウスの小腸内細菌叢を解析したところ、アンピシリン投与マウスでのみ OTU0002 と呼ぶ菌が著しく減少していることがわかった。OTU0002 はマウスの小腸内に最も多く存在する菌の一つで、小腸上皮に接着して Th17 への分化を促進し、EAE の発症を誘導することが推測された。

ただ OTU0002 を定着させただけでは EAE の症状は軽いことから、他の菌も関与している可能性があると考え、候補となるペプチドを探索したところ、乳酸桿菌 (*L. reuteri*) が発現する UvrA ペプチドが MOG に特異的な T 細胞と交差反応することがわかった。

これらの結果から Th17 細胞を誘導する細菌 (OTU0002) と、抗原特異的に T 細胞の増殖を誘導する細菌 (*L. reuteri*) という作用の異なる二つの腸内細菌が、相乗的に自己抗原特異的な T 細胞を活性化することが明らかになった。このことは小腸内細菌叢を制御することが多発性硬化症の発症や進行の緩和に寄与する可能性を示唆している。ヒトとマウスでは常在する腸内細菌が異なるものの、そうしたギャップを埋めることで多発性硬化症の新しい予防や治療の開発につながると期待される。

今後は小児コホートによるアレルギー研究や糖尿病発症因子の研究、炎症性腸疾患、膵臓腫瘍に関する研究などをヒトサンプルで追求していきたい。

用語解説 (編集者)

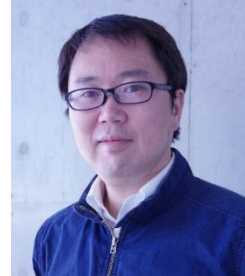
- ・腸内フローラ：顕微鏡で覗くと細菌がまるで植物の群生するお花畑 (フローラ) のように見えることから命名
- ・ヘルパーT細胞：免疫応答に関与する T 細胞の一つで、抗原の情報を B 細胞に伝えて抗原の産生を誘導したり、免疫応答を誘導するサイトカインを放出することにより、免疫応答の司令塔として働く。Th17 細胞はその一種
- ・サイトカイン：細胞から分泌されるタンパク質で細胞間の情報伝達を担い、さまざまな種類が存在し、それぞれに作用が異なる

細菌がヒトを作る：

ヒト腸内細菌から日本の漬物文化まで

東京工業大学生命理工学院 准教授
山田 拓司

細菌の 99%は培養が難しく、微生物研究を行う上での大きな制約になっていた。そのような中、2004 年にメタゲノム解析技術が登場して培養が難しい菌も対象にした研究を行うことができるようになった。



メタゲノムとは「土壌や海洋、便などの環境サンプル中に含まれる遺伝子配列を直接シーケンスして得られる遺伝子断片群」のこと。土、海、ヒトに存在する細菌の群集（複合微生物と呼ぶ）の研究は社会的利用価値や新規発見に繋がる可能性が期待されており、ヒト腸内環境の研究以外でも様々な分野に広がっている。例えば、地下鉄の駅構内から細菌を取って、それぞれの駅の細菌プロファイルを調べる研究は世界的な共同研究として進められている。我々も日本の発酵漬物の発酵過程での微生物群集構造変化を報告している。

我々の研究室では、このメタゲノム解析の技術を利用し、ヒト腸内細菌の研究を進めている。メタゲノム解析という技術革新と、ヒトの腸内細菌（Gut microbiome）と疾患との関係が広く注目されはじめたことなどから、ヒト腸内細菌の研究論文は 2010 年頃から急増している。腸内細菌が宿主であるヒトに与える影響はまだ未解明な点も多く、これからもますます研究が進められていくだろう。

腸内細菌と疾病との関連は肥満、糖尿病だけでなく自閉症、鬱、アルツハイマーなど多岐にわたって報告されている。我々の研究グループでは「大腸がん」を対象として、その原因の一つとして腸内細菌由来の何かがある、という仮説のもの研究を進めている。そのため、ヒトの腸内環境情報に加えて臨床データや食習慣、生活習慣など多次元の情報を収集しデータベース化を行い、そこから新たな仮説を見出すボトムアップ型解析を行っている。データベース化している情報としては、メタゲノムデータ（細菌組成、遺伝子組成）、メタボロームデータ（低分子化合物）、臨床データ（内視鏡所見）、生活習慣データ（血液型、出身地、職業、など 230 項目）、食生活データ（飲酒量、肉摂取量など 245 項目）と巨大なデータとなっている。

このデータベースを用いた研究例として、1) 大腸がんと腸内細菌の関連研究、及び 2) 胃切除が与える腸内細菌への影響、について紹介する。

1) 大腸がん和腸内細菌の関連：上記データベースから 631 人の被験者の情報を得て解析した結果、フソバクテリウム・ヌクレアタムやソロバクテリウム・モオレイなど 4 種類の細菌が、大腸がんのステージが上がるとそれにつれて増えていることがわかった。また初期にのみ増加する菌や、進行に伴って減少する菌も見出すことができた。

2) 胃切除が与える腸内細菌への影響：胃がんの治療として、胃切除を行った患者 50 人と健常人 56 人の腸内細菌、代謝物質、遺伝子を比較すると、胃切除者は健常人に比べて腸内細菌の種類や多様性、口腔内最近の相対的存在量が高かった。大腸がんの進行によって増加するフソバクテリウムは口腔内細菌の一つであり、胃切除後の患者で有意に増加していることも明らかとな

った。さらに胃切除後の患者の便にデオキシコール酸（2次胆汁酸）も多く、デオキシコール酸は肝臓がんや散発性大腸がんにおいて発がん性が指摘されている。胃がん患者が大腸がんを発症するリスクの高いことは知られていたが、大腸がんとの関連が指摘された細菌が増えていることは発症予防につながることを期待できる。

我々は今後もデータドリブン、データ駆動型、ボトムアップの研究を発展させ、病気になる前に治す「先制医療」を目指している。軽度な認知症（MCI）やアルツハイマー（AD）についても便を採取して腸内細菌を調べ、有意に減っている菌をみつけてマウスに投与、比較ゲノム解析をして発症のメカニズムに迫りたい。

用語解説（編集者）

- ・フソバクテリウム・ヌクレアタム (*Fusobacterium nucleatum*)：本来、歯周病に関連する口腔内常在菌として知られていたが、大腸がんの発症や進行との関連が数多く報告されている。