

総説

腸内フローラの健康と
病気への関わり

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 神奈川県立産業技術総合研究所 腸内細菌叢プロジェクト
大野博司

要約

ヒトを含む動物の腸内に共生する膨大な数の腸内フローラは、宿主との相互作用によりその健康や疾患と密接に関わっている。近年のメタゲノム解析や無菌マウスへの糞便移植などから、種々の疾患でみられる腸内フローラのバランスの異常、dysbiosisは疾患の発症や増悪の原因となり、dysbiosisを是正してバランスを正常(symbiosis)に戻してやることで疾患の治療に繋がるのが明らかとなりつつある。メタゲノム解析は腸内フローラ遺伝子のカタログ作りであり、それだけでは腸内フローラの機能の解明には十分ではない。メタゲノム解析に加え、網羅的遺伝子発現定量解析(トランスクリプトーム)、網羅的代謝物定量解析(メタボローム)など、異なる階層の網羅的解析を組み合わせた統合オミクス解析は、宿主-腸内フローラ相互作用の分子メカニズムを理解する上で有用な手法である。統合オミクス解析をヒト疾患に応用することで、疾患発症関連バイオマーカーの同定やそれに基づく新たな治療法、予防法の開発が期待される。

KEY WORDS 腸内フローラ, メタゲノム, トランスクリプトーム, メタボローム,
統合オミクス解析

はじめに

われわれヒトを含む動物の消化管には膨大な数の細菌が共生している。この腸内フローラは、ヒト大腸では40兆以上にもおよび、約30兆とされるヒトのからだを形成しているヒトの細胞数を超える数であることがわかる¹⁾(図1)。腸内フローラはわれわれ宿主との相互作用により、宿主の健康や疾患と密接に関わっている。本稿では、腸内フローラ研究の最近の進展や疾患との関わりについて概説すると共に、筆者らの統合オミクス手法による腸内フローラの機能解析について、特に腸内細菌が産生する主要な短鎖脂肪酸(図2)と生体防御・免疫系との関係を紹介する。

1. メタゲノム解析

腸内フローラを形成する細菌は500~1000菌種以上にも及ぶとされ、その多くが難培養菌と考えられる。従前のDNAシーケンサーでは、同じ遺伝子配列を持つDNAが多コピー数ないと配列解析できなかったため、細菌のゲノム配列解析には純粋培養により多数の均一な細菌ゲノムを得る必要があった。しかし、いわゆる次世代シーケンサーでは、理論上1コピーのDNAの配列解析が可能のため、ある環境中の生物のゲノムDNAをまとめて抽出し配列解析することで、そこに存在する生物のゲノム配列を網羅的に取得できるようになった。この「メタゲノム」解析法を糞便中の

ヒトを構成する体細胞数 30兆

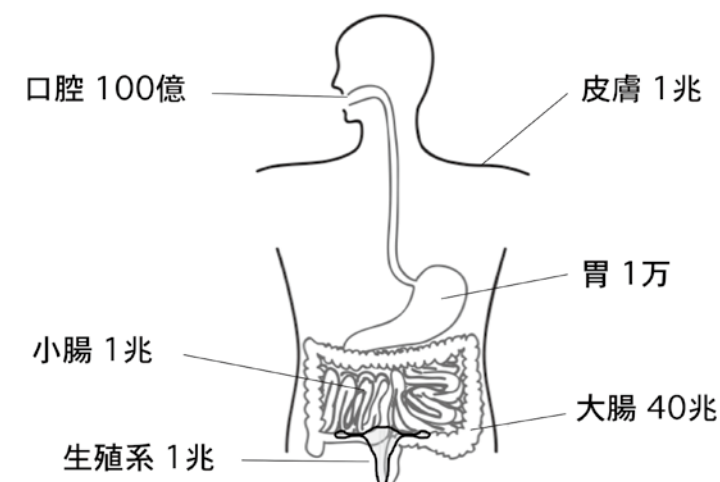


図1 ヒトの常在共生フローラ

ヒトの皮膚および粘膜面(呼吸器系は省略している)に常在する細菌の概数を示す。ヒト(白人の成人男性)のからだを構成する体細胞数は約30兆とされるのに対し、ヒト大腸にはそれを超える約40兆の細菌群が常在するとされる。

<http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>より転載(以下全ての図も同様)。

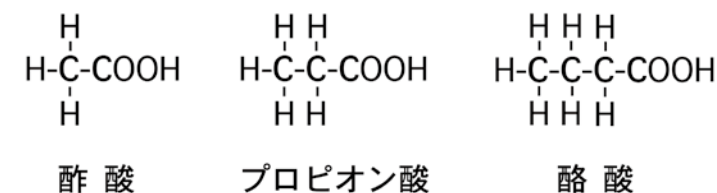


図2 酢酸, プロピオン酸, 酪酸の構造式

短鎖脂肪酸とは、一般的に炭素数6以下の直鎖状炭化水素の1価のカルボン酸を意味する。このうちでも、炭素数2~4の酢酸、プロピオン酸、酪酸が腸内フローラが産生する短鎖脂肪酸のほとんどを占める。

細菌叢に応用することで、腸内細菌叢がどのような遺伝子を持つ菌の集合体であるかということが明らかになると共に、健常群と疾患群との比較から腸内フローラが疾患に及ぼす影響も明らかになってきた。

2. 腸内フローラと疾患

例えば米国における病的肥満(BMI \geq 30)の研究では、双生児の成人女性で一方が正常範囲の体重、もう一方は病的肥満の腸内フローラ構成菌の組成を比較した結果、肥満群では腸内フローラ

の多様性が有意に低下すると共に、フィルミクテス門とバクテロイデス門の相対比が有意に高いことが示された²⁾。

炎症性腸疾患については、デンマーク人およびスペイン人のメタゲノム解析の結果から、健常対照群の腸内フローラ構成菌が保有する総遺伝子数が60万強なのに対し、患者群では約40万と、腸内フローラ遺伝子の多様性が約2/3に減少していた³⁾。また、炎症性腸疾患患者群では、健常群と比較して糞便中の酪酸産生菌や短鎖脂肪酸の濃度が減少しており、逆に炎症性腸疾患の一病型である若年性の潰瘍性大腸炎で酪酸の注腸により症状

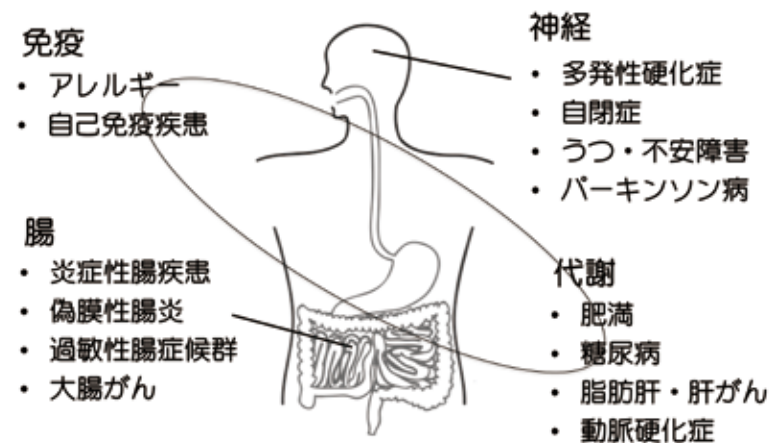


図3 腸内フローラの関与が示唆される疾患

近年の研究から、腸疾患のみならず、免疫関連疾患、代謝内分泌疾患、神経関連疾患など様々な疾患と腸内フローラとの関連が報告されている。

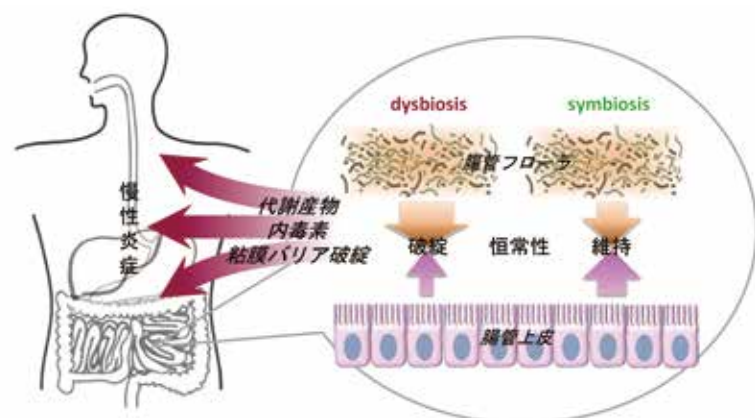


図4 symbiosis, dysbiosis と疾患

腸内フローラは正常なバランス (symbiosis) を保とうとするが、疾患の素因を持つ個体では時に異常なバランス (dysbiosis) が遷延すると、それが宿主の全身性の慢性炎症やそれに続く各種疾患の発症の原因となると考えられる。

が軽快することが報告されている⁴⁾。

腸内フローラの多様性の減少および酪酸産生菌の減少は2型糖尿病においても報告されている⁵⁾。このように、最近の研究から上記以外にも様々な疾患において、健康対照群と比較して腸内フローラの多様性の減少や組成の変化が報告されている (図3)。

では、上述のように偏った腸内フローラ、いわゆる dysbiosis は疾患の結果なのか、あるいは原因となり得るのだろうか。IL-2 欠損マウスや

IL-10 欠損マウスは腸炎を自然発症するが、これらを無菌化すると腸炎が見られなくなることは以前から知られている^{6,7)}。一方、腸炎や肥満モデルマウスの腸内細菌を無菌マウスの腸に定着させると腸炎や肥満の症状が再現される^{8,9)}。さらに、偽膜性腸炎としても知られる *Clostridium difficile* 感染症の難治例に健康者の糞便微生物を腸内移植すると著効することが最近示された¹⁰⁾。このように、dysbiosis はその疾患の症状を形成する原因となっており、糞便微生物移植などにより

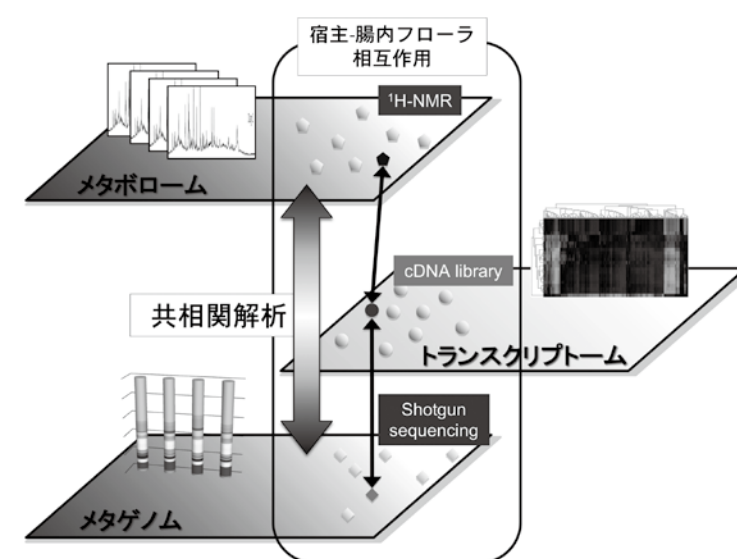


図5 統合オミクス解析

異なる階層の網羅的解析を組み合わせた統合オミクス解析は、宿主-腸内フローラ相互作用の解析に適した手法と考えられる。

dysbiosis を是正し正常なバランスの取れた状態、つまり symbiosis に戻してやることは疾患の治療や予防に繋がると考えられる。すなわち、健康な宿主の腸内フローラは symbiosis の状態にあり、宿主との相互作用のもとに恒常性が保たれている (図4)。健康な腸内フローラは、例えば腸管感染症による下痢や抗生物質の経口摂取などによりその組成が乱れても一定期間内に symbiosis に戻る復元力を有する (この復元力には正常な免疫系などが関与すると考えられる)。しかし何らかの疾患素因のある個体の腸内フローラは、上記のようなきっかけで dysbiosis 状態に陥ると疾患素因のため復元力が弱く dysbiosis が長く続いてしまい、それが原因で腸管バリアの破綻や、dysbiosis の結果異常に増加した細菌毒素や代謝物の体内への移行などが引き金となり、全身性の慢性炎症から炎症性・代謝性疾患の発症へとつながると考えられる。

3. 統合オミクス解析

メタゲノム解析により、細菌叢が全体としてど

のような遺伝子を持っているかといういわゆるカタログはできるが、それだけでは機能はわからない。

そこで筆者らは、宿主-腸内フローラ相互作用の機能解析法として、遺伝子レベル (ゲノム) での解析に加え、網羅的な遺伝子発現 (トランスクリプトーム) や代謝物 (メタボローム) 解析といった異なる階層の網羅的解析を組み合わせた、統合オミクス手法を提唱し、実践してきた (図5)。

4. ビフィズス菌が産生する酢酸によるマウス O157 感染死予防

統合オミクス解析が宿主-腸内フローラ相互作用の機能解析に適した手法であるか否かを検証するために、筆者らはまず、無菌マウスにビフィズス菌と腸管出血性大腸菌 O157:H7 (O157) のみを定着させたノトバイオート (既知の微生物のみを無菌マウスに定着させたモデル実験系をノトバイオートと呼ぶ) マウスモデルを解析した¹¹⁾。

O157 は代表的なヒトの食中毒菌であり、ヒトには水溶性あるいは血性の下痢を引き起こし時に

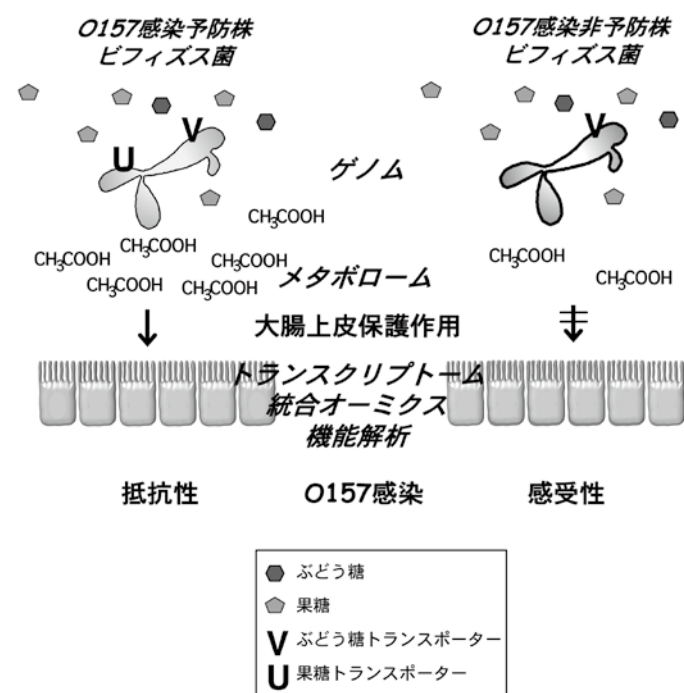


図6 ビフィズス菌が産生する酢酸によるマウス O157 感染死予防

統合オミクス解析により、酢酸がマウス O157 感染死を予防するメカニズムが明らかにされた。詳細は本文参照。

死に至らしめることもあるが、腸内細菌を有する SPF マウスでは経口感染させても不顕性であり、腸管を通過するだけである。しかし、無菌マウスに経口投与された場合 O157 は十分増殖し、産生されたペロ毒素によりマウスは毒素死する。O157 を経口投与する 1 週間前にビフィズス菌を投与しておく、その後の無菌マウスの感染死を予防できる株（予防株）とできない株（非予防株）が存在する。どちらのビフィズス菌を投与したマウスにおいても、腸内での O157 の増殖やペロ毒素の産生量には大きな違いはないが、血中ペロ毒素濃度は予防株ビフィズス菌投与マウスで非予防株投与マウスと比較して著しく低く抑えられていることから、予防株ビフィズス菌がマウス大腸に何らかの作用を及ぼすことでペロ毒素の吸収が抑制されていることが示唆された。

そこで、メタボローム解析により予防株・非予防株投与マウスの糞便中の代謝物を網羅的に解析したところ、予防株定着マウスの糞便中には非予

防株定着マウスと比較してより高濃度の酢酸が存在していた（図6）。実際、非予防株定着マウスに酢酸を徐放性に放出するアセチル化でんぷんを餌に混ぜて投与することで、その後の O157 感染死を予防できる。次に、予防株・非予防株定着マウスの大腸上皮細胞のトランスクリプトーム解析、ならびに腸管上皮細胞株を酢酸ナトリウム存在下で培養した際の遺伝子発現解析から、酢酸により大腸上皮細胞のエネルギー代謝・抗炎症作用関連遺伝子の発現が増強され、その結果 O157 による上皮細胞死が抑制されることがわかった（図6）。最後に、予防株・非予防株の比較ゲノム解析の結果、予防株に存在する果糖のトランスポーター遺伝子が非予防株では欠損しており、その結果、予防株はブドウ糖、果糖の両者を代謝して酢酸を産生できるが非予防株はブドウ糖しか代謝できないことが示された（図6）。その結果、非予防株では酢酸濃度が不十分となり O157 感染時に上皮細胞死が起こり、破綻した上皮バリアからペ

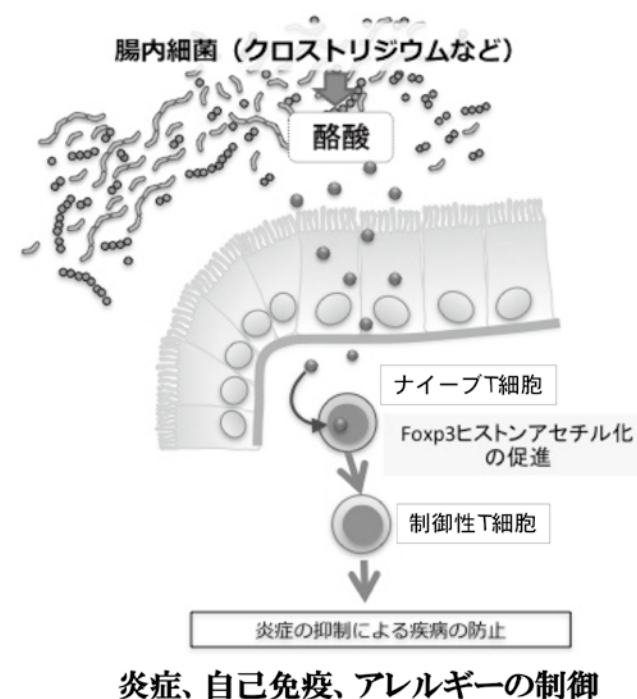


図7 酢酸により大腸制御性 T 細胞の分化促進と免疫恒常性の維持

クロストリジウム目などの細菌群が産生する酢酸が存在すると、ナイーブ T 細胞から制御性 T 細胞への分化が促進されてより多くの制御性 T 細胞が集積し、過剰な免疫応答を抑制して免疫恒常性の維持に寄与する。詳細は本文参照。

ロ毒素が血中に吸収されてマウスの感染死を起こすことが明らかとなった。

このように、統合オミクス解析は、最初からある物質（この例では酢酸）に着目しなくとも、網羅的な解析から酢酸にたどり着き、酢酸による O157 感染死予防の分子メカニズムに繋がる上皮細胞の遺伝子発現の違いやビフィズス菌の保有遺伝子の違いをも見いだすことができる、宿主-腸内フローラ相互作用の分子的理解に適した解析法であると言える。

5. 腸内細菌由来の酢酸による大腸制御性 T 細胞分化促進

腸内フローラ構成菌であるクロストリジウム目 (order Clostridiales) 細菌の中には、マウス大腸粘膜固有層におけるナイーブ T 細胞から制御性 T 細胞への分化を促進する菌群が存在するが、そのメカニズムは不明であった。そこで、統合オミ

クス解析を応用した結果、ナイーブ T 細胞から制御性 T 細胞への分化の過程で、クロストリジウム目が産生する酢酸が存在すると分化が促進されることがわかった。制御性 T 細胞は、自己反応性やアレルギー反応、過剰・遷延する炎症などの異常・過剰な免疫応答を負に制御することで、自己免疫疾患やアレルギー、炎症性疾患などの発症や増悪を抑え、免疫恒常性のバランスを保つために重要な細胞である。酢酸はヒストン脱アセチル化酵素の阻害剤であることが知られている。酢酸により制御性 T 細胞のマスター転写因子である Foxp3 遺伝子のヒストンアセチル化が亢進し、Foxp3 遺伝子の発現増強が起こることで大腸制御性 T 細胞の分化が促進する。その結果大腸局所で増加した制御性 T 細胞によりマウスの実験腸炎の症状が軽快することも示され、酢酸が制御性 T 細胞の分化促進により腸管免疫恒常性の維持に働いていることが示唆された¹²⁾（図7）。

おわりに

以上述べてきたように、腸内フローラは宿主との相互作用により、様々な疾患の発症や増悪の原因となっている可能性がある。ヒトのゲノムワイド関連解析 (GWAS) と同様、メタゲノム解析のみでは疾患との因果関係を直接示すことはできないが、異なる階層の網羅的解析を組み合わせた統合オミクス解析により、宿主-腸内フローラ相

相互作用の因果関係を明らかにできる可能性が大である。今後、遺伝子発現量 (トランスクリプトーム)、代謝物定量 (メタボローム) に遺伝子発現調節 (エピゲノム)、タンパク質発現量 (プロテオーム) を加え、より網羅性や精度の高い統合オミクス解析へとグレードアップを図り、様々な疾患やコホートに応用することで、疾患発症関連バイオマーカーの同定やそれに基づく新たな治療法、予防法の開発が期待される。

◆文献

- 1) Sender R, Fuchs S, Milo R : Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. PLoS Biol 14 : e1002533, 2016
- 2) Turnbaugh PJ, et al : A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature 457 : 480, 2009
- 3) Qin J et al : A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464 : 59, 2010
- 4) Kaunitz J, Nayyar P : Bugs, genes, fatty acids, and serotonin : Unraveling inflammatory bowel disease? F1000Res 4(F1000 Faculty Rev) : 1146, 2015
- 5) Forslund K et al : Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. Nature 545 : 116, 2015
- 6) Sadlack B et al : Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. Cell 75 : 253, 1993
- 7) Shouval DS et al : Interleukin 10 receptor signaling: master regulator of intestinal mucosal homeostasis in mice and humans. Adv Immunol 122 : 177, 2014
- 8) Garrett WS et al : Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. Cell 131 : 33, 2007
- 9) Turnbaugh PJ et al : An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 444 : 1027, 2006
- 10) van Nood E et al : Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. N Eng J Med 368 : 407, 2013
- 11) Fukuda S et al : Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. Nature 469 : 543, 2011
- 12) Furusawa Y et al : Commensal microbe-derived butyrate induces colonic regulatory T cells. Nature 504 : 446, 2013

Impact of gut microbiota on health and diseases

Hiroshi Ohno^{1, 2)}

1) Laboratory for Intestinal Ecosystem, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences

2) Intestinal Microbiota Project, Kanagawa Institute of Industrial Science and Technology

Gut microbiota, a huge number of commensal bacteria in animal guts including humans, deeply affect the host physiology and pathology. Recent studies with metagenomics and fecal microbiota transplantation in germ-free mice have revealed that dysbiosis, or abnormal composition of gut microbiota, could be pathogenic; in addition, normalization of dysbiosis into symbiosis can cure diseases. Metagenomics is to make a gene catalogue of gut microbiota, which is not enough to understand the functions of gut microbiota. To overcome this, we combine other cyclopedic approaches such as transcriptomics and metabolomics with metagenomics. This 'integrated omics' approach is useful for understanding molecular mechanisms of the host-but microbiota interaction, which may result in identifying gut microbiota-associated pathogenic biomarkers potentially leading to a new therapeutic or preventive strategies.

Keyword : gut microbiota, metegenomics, transcriptomics, metabolomics, integrated omics approach

Address for correspondence

1-7-22 Suehiro, Tsurumi, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan

Phone : +81 45 503 7031

E-mail address

hiroshi.ohno@riken.jp

◆大野博司略歴



- | | |
|--------|---|
| 1983 年 | 千葉大学医学部卒業 |
| 1991 年 | 千葉大学大学院医学研究科博士課程修了 |
| 1997 年 | 千葉大学医学部 助教授 |
| 1999 年 | 金沢大学癌研究所 教授 |
| 2005 年 | 横浜市立大学大学院 客員教授 |
| 2007 年 | 千葉大学大学院医学研究院 客員教授 |
| 2013 年 | 理化学研究所統合生命医科学研究センター
粘膜システム研究グループグループディレクター |
| 2017 年 | 神奈川県立産業技術総合研究所腸内細菌叢プロジェクト
プロジェクトリーダー兼務 |