

食を介した腸内環境の制御による健康維持基盤技術の創出

福田 真嗣

慶應義塾大学先端生命科学研究所 特任准教授

要 約

ヒトの腸管内には多種多様な腸内細菌が生息しており、これらが宿主細胞と密に相互作用することで、複雑な腸内生態系、すなわち腸内エコシステムを形成している。われわれはこれまでに、腸内エコシステムにおける異種生物間相互作用の詳細を明らかにするため、腸内細菌叢の代謝動態に着目したメタボロミクスを基盤とする統合オミクス解析技術を構築し^{1,2)}、善玉菌であるビフィズス菌と病原菌である腸管出血性大腸菌O157:H7の2種類を無菌マウスに定着させた*in vivo*マウスモデル実験系において、ビフィズス菌が産生する酢酸が宿主腸管上皮細胞に作用することで、O157腸管感染症を予防することを明らかにした^{3,4)}。また、乳酸菌が腸管内で産生する乳酸が、絶食後の再摂食時に生じる腸管上皮細胞の過増殖を促し、大腸癌発症リスクを増大させることも明らかにした⁵⁾。さらには、主要な腸内細菌群であるクロストリジウム目細菌群が食物繊維の発酵により腸管内で産生する酪酸が、免疫応答の抑制に重要な制御性T細胞の分化をエピジェネティックに誘導し、大腸炎抑制に寄与することも明らかにした^{6,7)}。以上のことから、腸内細菌が腸管内で産生する代謝産物が、生体恒常性維持に重要な役割を担うことが明らかとなったことから、適切な食品・サプリメントの摂取による腸内環境の改善が、新たな健康維持基盤技術の創出につながると考えられる。

はじめに

ヒトの腸管内には、1,000種類以上、総数にして100兆個もの細菌が生息しており、これら腸内細菌叢が、宿主腸管に局在する免疫細胞や神経細胞、内分泌細胞と相互作用することで、腸管内における複雑な生態系、すなわち「腸内エコシステム」を形成している（図1）。腸内エコシステムは通常はこれら異種細胞間の絶妙なバランスのもとに恒常性を維持しており、外界からの様々な刺激や外部ストレス、老化などによりそのバランスが多

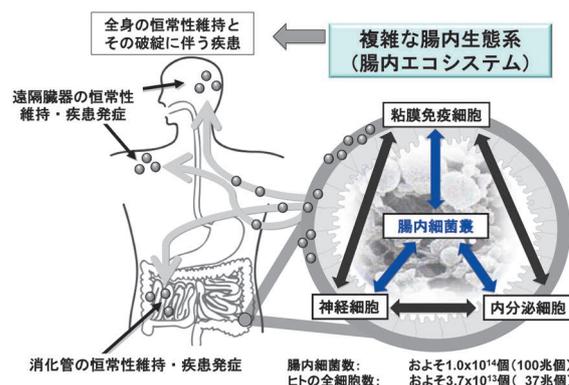


図1 腸内エコシステムによる生体の恒常性維持とその破綻による疾患発症

腸内細菌叢が粘膜免疫細胞や神経細胞、内分泌細胞などと密接に相互作用することで、複雑な腸内エコシステムを形成している（右）。これらの異種生物間相互作用により生体の恒常性が維持されているが、そのバランスが崩れると消化管での疾患発症のみならず、自己免疫疾患や代謝疾患などの全身性疾患を発症する（左）。（文献8より改変し、転載）

少崩れても元に戻すロバスト性を有するが、過度の遺伝的あるいは外的環境要因によりその恒常性が破綻すると、最終的には粘膜免疫系や神経系、内分泌系の過剰変動に起因すると考えられる炎症性腸疾患や大腸癌などの腸そのものの疾患に加えて、自己免疫疾患や代謝疾患といった全身性の疾患につながる事が知られている⁸⁾。したがって、腸内エコシステムの破綻に起因するこれらの疾患を正しく理解し制御するためには、その構成要素である腸内細菌叢と宿主腸管細胞との相互作用について統合的な観点からアプローチする必要がある。

本稿では、種々の次世代ハードウェアを利用することで得られる網羅的情報を、統計科学的に集約する統合オミクス研究により、われわれがこれまでに明らかにしてきた分子レベルでの腸内細菌叢機能について報告する。

1. ビフィズス菌が産生する酢酸が腸管バリア機能を高め、腸管感染症を予防する

腸内細菌が病原菌による腸管感染症の予防に寄与し

ていることは古くから知られていたが、その分子機構の詳細については不明な点が多かった。われわれは病原性大腸菌の一種である腸管出血性大腸菌 O157:H7 感染マウスモデルを用いて、ビフィズス菌による腸管感染症予防機構について検討した。無菌マウスに O157 を経口投与すると、投与後 7~8 日で死に至るが、O157 感染前にあらかじめビフィズス菌を無菌マウスに投与しておく、O157 感染によるマウス感染死を防止できた。興味深いことに、この O157 感染死予防作用はビフィズス菌の菌株によって異なったことから、O157 感染死予防株ビフィズス菌（予防株）または非予防株ビフィズス菌（非予防株）定着マウスの生化学的・細菌学的性状を調べた。その結果、O157 感染死を予防できるか否かにかかわらず、糞便中のビフィズス菌および O157 の菌数や毒素濃度に有意差は見られなかったが、一方で毒素の血中濃度が予防株の存在下では非予防株と比較して著明に低値を示していた³⁾。このことから、予防株は O157 に直接作用してその増殖や毒素産生能を抑えるのではなく、マウスの腸管上皮に作用して毒素の体内への侵入を阻止することで間接的に O157 感染死を防いでいる可能性が示唆された。

予防株ビフィズス菌による宿主腸管上皮への保護作用はビフィズス菌が産生する代謝産物によるものと予想し、予防株および非予防株ビフィズス菌定着マウス糞便中の代謝産物をメタボローム解析により網羅的に比較検討した。その結果、予防株定着マウスでは非予防株と比べて果糖やショ糖などの糖質の量が糞便中で有意に減少するとともに、ビフィズス菌による糖代謝産物であり短鎖脂肪酸（SCFA）の一つである酢酸の量が増加していた³⁾。そこで酢酸が O157 感染死予防の本体であるか否かを検証するため、ヒト大腸上皮細胞株 Caco-2 細胞を用いた *in vitro* 試験を実施したところ、培地中に添加した酢酸の濃度依存的に O157 感染による Caco-2 細胞の細胞死が抑制されることが明らかとなった³⁾。

O157 感染予防効果を規定する予防株および非予防株ビフィズス菌の違いについて検討するため、予防株および非予防株ビフィズス菌の全ゲノム解析を実施し、糖質の代謝に関わる遺伝子群の詳細な比較解析を行ったところ、予防株にのみ存在する ATP 結合カセット型の果糖トランスポーターをコードする遺伝子を見出した。この果糖トランスポーター遺伝子を非予防株へ遺伝子導入すると弱いながらも感染死の予防効果が認められたが、逆に予防株における当該遺伝子の破壊により感染死予防能

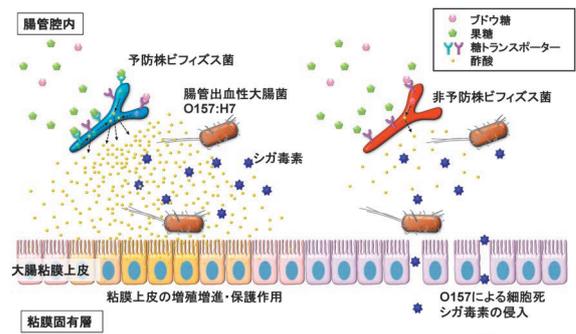


図2 ビフィズス菌による腸管出血性大腸菌 O157:H7 感染死予防機構

予防株（左）、非予防株（右）ともにブドウ糖のトランスポーター（ピンク）は発現しているため、ブドウ糖が十分存在する小腸~大腸上部では両者とも腸管上皮保護に必要な量の酢酸をブドウ糖から産生でき、O157 感染による腸管上皮細胞死とそれに引き続く炎症は抑制される。しかし、ブドウ糖の多くは小腸で宿主に吸収されたり菌に代謝されるため、大腸下部では枯渇した状態になる。果糖のトランスポーター（ブルー）を持つ予防株（左）は、大腸下部にも比較的豊富に存在する果糖を利用できるため、腸管上皮細胞保護に十分な酢酸を産生でき、O157 感染死を予防できるが、果糖トランスポーターを持たない非予防株（右）は十分量の酢酸を産生できず、O157 感染による腸管上皮細胞死・炎症の結果生じる大腸バリアーの破綻に伴い毒素が腸管内から血中に移行し、マウスは感染死を引き起こす。（文献3より改変し、転載）

が完全に失われたことから、果糖を利用した酢酸産生能がビフィズス菌によるマウス O157 感染死予防には重要であることが強く示唆された。さらに、人工的に酢酸基を付加することにより腸管内で酢酸を徐々に遊離することができる酢酸化デンプンを非予防株定着マウスに摂取させると、糞便中の酢酸濃度が増加するとともに O157 感染死も予防された³⁾。以上のことから、酢酸そのものがマウス腸管内で大腸上皮に作用することで、O157 感染によって生じる腸管上皮の細胞死に対する抵抗性を付与することにより、マウス O157 感染死を予防できることを実証した（図2）。

2. 腸内細菌が産生する酪酸が制御性 T 細胞の分化を誘導し、大腸炎を抑制する

腸管感染症の予防以外にも腸内細菌叢は多様な機能を有しており、特に近年注目されているのが、粘膜免疫システムの制御機能である。主要な腸内細菌群の一種であるクロストリジウム目細菌群は、免疫応答の抑制に重要な役割を担う制御性 T 細胞（Treg）の分化・誘導を促すことが報告されたが⁶⁾、どのような分子メカニズムで Treg の分化を誘導するのか、すなわち宿主免疫システム-腸内細菌間クロストークの分子機構は不明であっ

た。そこでわれわれは、クロストリジウム目細菌群によるTregの分化誘導機構に焦点を当て、メタボロミクスを基盤とする統合オミクスにより、その分子機構の解明を試みた。

クロストリジウム目細菌群は腸内細菌叢の中でも特に多様な代謝物質を産生することが知られていたことから、クロストリジウム目細菌群が産生する代謝産物が大腸粘膜におけるTregの分化・誘導に重要な役割を果たしているのではないかと予想し、クロロホルム耐性菌定着マウス（CRBマウス）に高繊維食（HFD）または低繊維食（LFD）を摂食させた。その結果、LFD摂食群において大腸粘膜におけるTreg数がHFD摂食群の半分以下にまで有意に減少した⁷⁾。このことから、クロストリジウム目細菌群が繊維の発酵代謝により産生する代謝産物が、大腸粘膜におけるTreg誘導に寄与する可能性が示唆された。

次にHFDおよびLFD摂食CRBマウスの盲腸内容物中の代謝産物についてメタボロミクスにより網羅的に解析した結果、酢酸やプロピオン酸、酪酸などのSCFAや、ロイシンやイソロイシン、 γ -アミノ酪酸といったアミノ酸の含量が、HFD摂食CRBマウスの盲腸内で増加していた。これらの代謝産物のうちのどれが大腸粘膜におけるTreg誘導に寄与するのかを調べるため、ナイーブT細胞を用いた*in vitro*試験系で評価した。その結果、SCFAの一つである酪酸にTreg誘導能があることが明らかとなった⁷⁾。

では酪酸は、大腸粘膜においてどのようにナイーブT細胞からTregへの分化を誘導するのだろうか？ これまでの報告で、酪酸はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤として機能することが知られていた。そこで*in vitro*実験系において、ナイーブT細胞からTregを誘導し、酪酸添加の有無におけるエピゲノム状態の差異をゲノムワイドに解析した。その結果、酪酸と共培養することで、Tregのマスター転写因子である*Foxp3*遺伝子領域のアセチル化が亢進することが明らかとなった⁷⁾。興味深いことに、Th1やTh2、Th17などのヘルパーT細胞を誘導する培養条件下では、それぞれのマスター転写因子であるT-betやGATA3、ROR γ tをコードする遺伝子領域のアセチル化は亢進しなかったことから、酪酸による作用はTreg特異的である可能性が示唆された。

酪酸により大腸粘膜で分化誘導されたTregが、免疫反応を抑制できるかどうかを調べるため、T細胞移入大腸炎マウスモデルを用いてその機能を評価した。T細胞

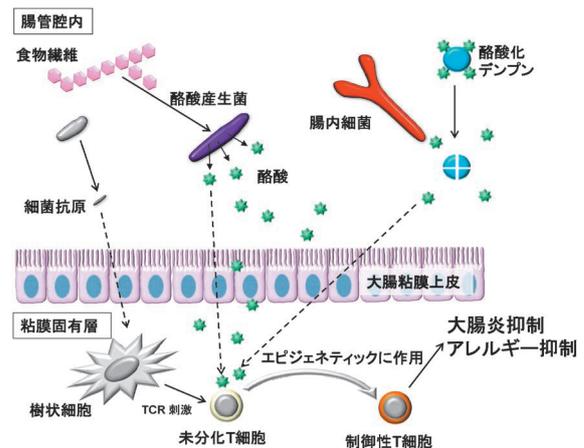


図3 酪酸による制御性T細胞誘導機構

クロストリジウム目細菌群などの酪酸産生菌が食物繊維の代謝により腸管内で酪酸を産生する。大腸粘膜固有層において酪酸がナイーブT細胞にエピジェネティックに作用することで、制御性T細胞のマスター転写因子である*Foxp3*遺伝子の発現を誘導し、ナイーブT細胞から制御性T細胞への分化を誘導する。大腸局所で誘導された制御性T細胞は、大腸炎やアレルギーなどの免疫応答を抑制する。酪酸化デンプンの摂取により腸管内の酪酸濃度を高めた場合にも同様に大腸炎を抑制できる。(文献7より改変し、転載)

移入大腸炎マウスに酪酸化デンプンを摂取させたところ、対照群と比較して体重の減少が抑えられ、大腸炎によって増加する大腸粘膜における免疫細胞の数や病理組織学的スコアも有意に抑制された⁷⁾。これらのことから、クロストリジウム目細菌群が腸管内で特徴的に産生する酪酸が、Tregの分化誘導を担う免疫修飾因子の実体であることを証明した(図3)。

おわりに

食生活の欧米化とともに、我が国でもメタボリックシンドロームや大腸がん、アレルギーや炎症性腸疾患は増加の一途をたどっている。しかし、医療費は削減傾向にあり、加えてさらなる少子高齢化社会を迎えることから、予防医学や健康増進の見地に立った、機能性食品などによる“セルフメディケーション”は今後その重要性が増すことは明らかである。上述したように、腸内エコシステムの乱れがこれらの疾患につながるものが続々と報告されていることから、腸内エコシステムを一つの主要な臓器として捉え、その機能を包括的に理解し制御することが、今後の生体の恒常性維持や疾患治療の新たな戦略になると考えられる。食を介した腸内エコシステムの制御技術が、人類のQuality of Lifeの向上につながることを期待したい。

謝 辞

この度は大変栄誉ある第3回三島海雲学術賞を賜りまして、公益財団法人三島海雲記念財団の今関博理事長、上野川修一選考委員長をはじめ、関係各位の諸先生方に心より感謝申し上げます。また本学術賞にご推薦いただきました、慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科委員長 徳田英幸教授にも厚く御礼申し上げます。本研究の一部は第49回（平成23年度）三島海雲記念財団学術助成によって行われたものであり、研究奨励金を賜りました三島海雲記念財団に重ねて御礼を申し上げます。

本研究の多くは理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センターで実施されたものであり、本研究を遂行するに当たりまして格別のご指導とご高配を賜りました、理化学研究所統合生命医科学研究センター 大野博司グループディレクターに厚く御礼を申し上げます。また、本研究に多大なるご助言、ご協力をいただきました

慶應義塾大学薬学部 長谷耕二教授、東京大学大学院新領域創成科学研究科 服部正平教授、東京大学大学院農学生命科学研究科 伊藤喜久治教授、理化学研究所環境資源科学研究センター 菊地淳チームリーダーに心より御礼申し上げます。本研究の実施にあたり、ご指導とご協力をいただきました大学や研究機関の諸先生方と共同研究者の皆様にも深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) S. Fukuda, et al.: *PLoS ONE*, **4**, e4893, 2009.
- 2) Y. Nakanishi, et al.: *J. Proteome Res.*, **10**, 824–836, 2011.
- 3) S. Fukuda, et al.: *Nature*, **469**, 543–547, 2011.
- 4) S. Fukuda, et al.: *Gut Microbes*, **3**, 449–454, 2012.
- 5) T. Okada, et al.: *Nat. Commun.*, **4**, 1654, 2013.
- 6) K. Atarashi, et al.: *Nature*, **500**, 232–236, 2013.
- 7) Y. Furusawa, et al.: *Nature*, **504**, 446–450, 2013.
- 8) S. Fukuda, et al.: *Semin. Immunopathol.*, **36**, 103–114, 2014.