

2022年8月9日放送

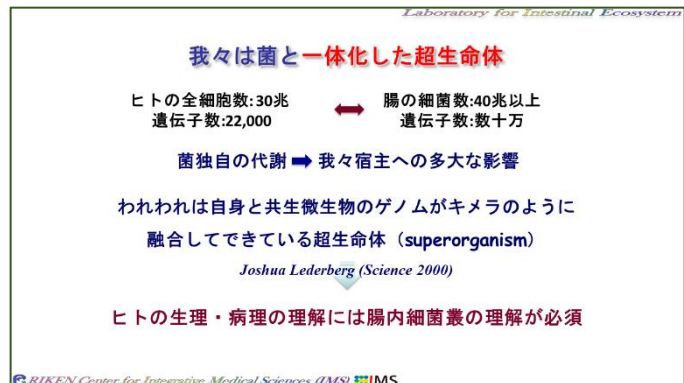
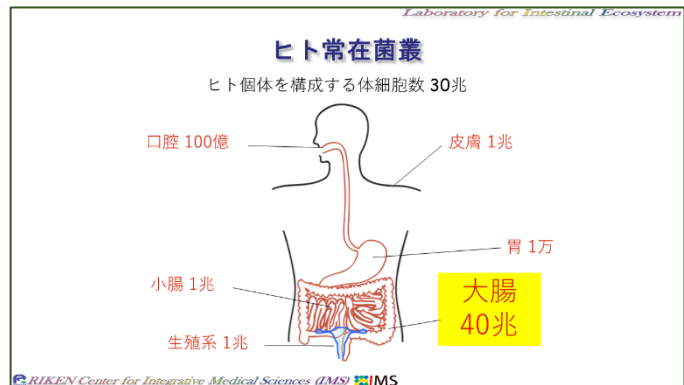
腸内細菌叢の生理的意義と疾患とのかかわりについて

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
チームリーダー 大野 博司

常在細菌叢について

皆さんご存知のように、皮膚や粘膜といった我々の体と外環境との境界をなす部分には、たくさんの細菌が常在細菌叢として存在しています。中でも大腸には 40 兆個という膨大な数の菌が住みついています。人の個体を構成する体細胞が 30 兆と言われてしますので、それよりも多い菌がいるわけです。さらに、その遺伝子の数に目を向けますと、人の場合、単一の受精卵からできていますので、全体として約 22,000 という遺伝子をどの細胞も持っています。腸内細菌は 1,000 種類ぐらいの異なる菌がいると考えられていますので、その遺伝子数も数 10 万から 100 万近くあるということで、我々の遺伝子よりも圧倒的に多いことになります。その腸内細菌は、全体として独自の代謝で、我々にはできないような、例えば必須アミノ酸やビタミンなども作るということで、私たちに多大な影響を与えているわけです。

ですので、Joshua Lederberg というアメリカのノーベル賞を取った分子生物学者・微生物学者が、2000年に「私たちというのは自分自身と共生微生物のゲノムがあたかもキメラのように融合してできている超生命体と考えるべきである」と



述べています。ということで、人の生理や病理の理解には腸内細菌叢の理解が必須になるわけです。

例えば腸内細菌叢の生理的な意義として、免疫系の発達に関係しているということが分かっています。無菌マウスという全く菌のいないマウスを作って、実験に使うことができますが、そうするとパイエル板という腸の壁の中にあるリンパ節のようなものは、皆さんご存知だと思いますが、パイエル板が未発達で、腸管の T 細胞、B 細胞も少ないということが分かっています。また脾臓でも CD 4 陽性のヘルパー T 細胞の数が少なく、さらに Th バランスが Th1 から Th2 に傾くということが知られています。実際、無菌マウスだけではなく、ヒトでも新生児から乳児では同様に、Th2 に傾いています。正常では Th1 の方が優位なのですが、これらの現象は腸内細菌がいることによって、そのような正常な免疫系が発達していると考えられているわけです。

今お話しした腸内細菌叢が、免疫系の発達に関わるというのは、腸内細菌叢が全体として存在するか全く存在しないかというお話でしたが、腸内細菌叢の役割を研究するためには、どんな菌がどのくらいいるのかといったことを理解する必要もあります。しかし、腸内細菌の大部分は、培養できない菌からできています。

Laboratory for Intestinal Ecosystem

腸内細菌叢と免疫系の発達

無菌マウスではパイエル板は未発達で、腸管の T, B リンパ球も少ない

脾臓でも CD4⁺ヘルパー T 細胞は少なく、Th バランスは Th2 に傾く
(新生児～乳児でも同様に Th2 に傾く)

Troy EB, Kasper LK Front. Biosci 2010; 15: 25-34.
Chinen T, Rudensky AY. Immunol. Rev 2012; 245: 45-55.

3

RIKEN Center for Integrative Medical Sciences (IMS)

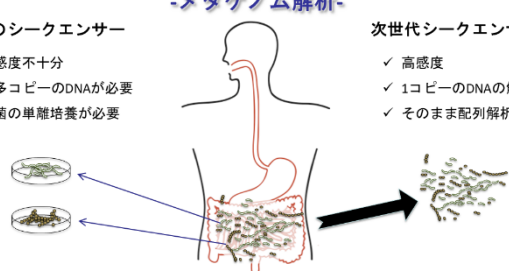
メタゲノム解析

従来のシーケンサーでは感度が不十分だったので、多コピーの全く同一の DNA が必要で、菌の単離培養が必要だったわけですが、今世紀になって開発された、いわゆる次世代シーケンサーの登場によって、これは好感度でたった 1 コピーの DNA でもその配列解析が可能ということで、腸内細菌をそのまま取ってきて、そのまま DNA を抽出して、まるごと解析する、いわゆるメタゲノム解析というものが開発されました。メタゲノム解析は広い意味では、ショットガン配列解析と 16S アンプリコン解析、あるいはメタ 16S 解析と言われているもの両方を含みます。ショットガン配列解析は抽出した DNA をそのまま断片化して全部を網羅

Laboratory for Intestinal Ecosystem

**腸内細菌叢まるごと解析！
-メタゲノム解析-**

<p>従来のシーケンサー</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 感度不十分 ✓ 多コピーの DNA が必要 ✓ 菌の単離培養が必要 	<p>次世代シーケンサー</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ 高感度 ✓ 1コピーの DNA の解析可能 ✓ そのまま配列解析
--	---



RIKEN Center for Integrative Medical Sciences (IMS)


Laboratory for Intestinal Ecosystem

メタゲノム解析 (ショットガン配列解析)

- ✓ 抽出した DNA を断片化し、そのゲノム配列を網羅的に配列解析する手法。ある環境に存在する全生物のゲノム配列がわかる。
- ✓ 経費負担大

メタ 16S 解析 (16S アンプリコン解析)

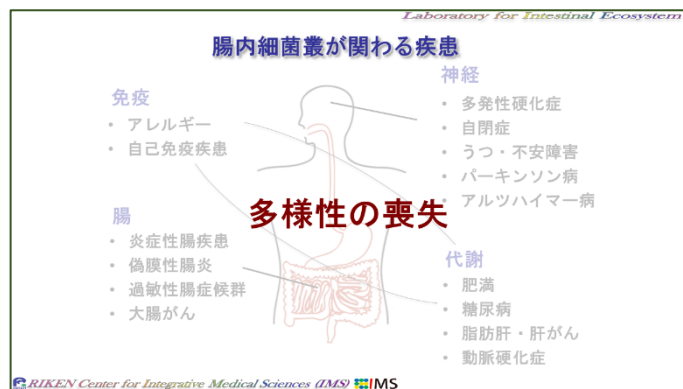
- ✓ 細菌の遺伝的分類に利用される 16S リボソーム RNA 遺伝子をコードする DNA の断片を PCR で増幅し、配列解析する。ある環境に存在する細菌の種類と数が推定できる。
- ✓ 経費負担は少ない



RIKEN Center for Integrative Medical Sciences (IMS)

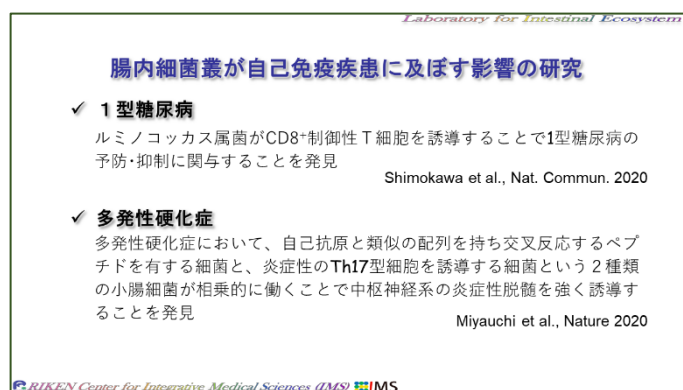
的に配列解析するということなので、ある環境に存在する全生物、全微生物のゲノム配列がわかる、全部の遺伝子がわかるわけです。ただし、たくさん読まないといけないので、経費も膨大になってきます。一方メタ 16S 解析の方は、細菌の遺伝的分類に利用される 16S リボソーム RNA という遺伝子がありますが、その遺伝子の領域を PCR で増幅します。この遺伝子領域には、可変領域 (V 領域) とユニバーサル領域があって、ユニバーサル領域はほとんどの菌で保存されているため、そこにプライマーを設定し、その間に挟まれた V 領域をシーケンスすることで、どんな菌がどのくらいいるかというのがわかります。配列の総数が少ないので、経費負担も少なく、これら両方をうまく組み合わせて研究を進めるということになるわけです。

そのような研究から、腸内細菌叢が関わる疾患として、腸なのでもちろん腸の疾患として、炎症性腸疾患や癌がありますが、それ以外にも免疫アレルギー疾患、アレルギーの話は少し最後にしますが、自己免疫疾患、あるいは代謝性疾患として肥満や糖尿病など諸々の疾患、さらにはうつ、自閉症、アルツハイマーやパーキンソンといった神経疾患も腸内細菌が関わるということが言われてきました。その多くの共通キーワードとしては、「腸内細菌の多様性の喪失」ということがあります。



自己免疫疾患に及ぼす影響

私たちの例を少しご紹介しますと、私たちは自己免疫疾患について研究していて、例えば一型糖尿病においては、ルミノコッカス属菌が増えることによって、CD 8 陽性の制御性 T 細胞を誘導します。この制御性 T 細胞は自己免疫反応を抑えますので、それで一型糖尿病の予防や抑制に関与することを発見しました。また、中枢神経系の脱髄疾患である多発性硬化症においては、その原因となる自己抗原と類似の配列を持っていることで、抗原交差反応を示すペプチドを持つ細菌と、もう一つ別に自己反応性の炎症を起こす炎症性の Th17 型細胞を誘導する細菌が小腸に存在していて、それが相乗的に働くことでひどい中枢神経系の炎症性脱髄をおこすということも発見しています。



小児領域に少し目を移しますと、The neonatal Window of opportunity という概念、これは Renz という人たちが『JACI : The Journal of Allergy and Clinical Immunology』に 2018 年に提唱していますが、これは出生早期の短いウインドウ、その時に存在する環境因子の刺激が免疫や組織の成熟に関係してくるので、それを促しますが、環境因子が乱れてしまうと、その後の免


疫が関連する疾患やその他の疾患に関する感受性に影響を与えます。つまり、ごく短い、幼少期・乳児期・乳幼児期の、あるいは授乳期の腸内細菌の環境が乱れてしまうことが、成長してからのアレルギーや、その他いろいろな疾患に関わってくるということが言われています。

Laboratory for Intestinal Ecosystem

The neonatal Window of opportunity

Renz et al., J Allergy Clin Immunol, 2018

生後早期の環境因子が免疫および組織の成熟を促し、その後の免疫が関連する疾患やその他の疾患に対する感受性に影響を与える



これまでの食物アレルギー関連の研究

これまでの食物アレルギーに関連する研究をまとめてみますと、食物アレルギー群で、アレルギーに対する感作あるいは診断のついたものも混ざっていますが、酪酸やプロピオン酸、乳酸といった腸内細菌が産生する主要な物質、代謝物を産生するような Clostridia に含まれるような菌、Negativicutes に含まれるような菌、あるいは Lactobacillales に関係するような菌が減ることが言われています。一方、別にプロピオン酸や酪酸が減ることと、食物抗原に対する感作の増強ということも言われています。


このように、腸内細菌そのものの変動や、それが産生する短鎖脂肪酸や乳酸の変動が、疾患と関係するという報告がありますが、これらは相関関係の報告です。また、腸内細菌叢に影響を与える因子は、交絡因子が多いので、その食物アレルギーとの相関を見ているにすぎず、原因か結果かということを見る、あるいは原因か結果かということを理解するには、ヒトの研究だけでは難しく、マウスを用いたメカニズム研究というのが重要になってくるわけです。

Laboratory for Intestinal Ecosystem

これまでの研究のまとめと課題

- ✓ 食物アレルギー群（感作 or 診断）では
Clostridia網↓：酪酸産生
Negativicutes網↓：プロピオン酸産生
Bacilli網（Lactobacillales目）↓：乳酸産生
- ✓ プロピオン酸↓・酪酸↓では、
食物抗原に対する感作の増強

腸内細菌叢に影響を与える因子の交絡が大きく
食物アレルギーとの相関をみているに過ぎない



小児コホート研究

私どもは千葉大学の小児科との共同研究で、出生時のコホート研究をしています。この研究では妊婦さんをリクルートしてきて、新生児から幼児の便を定期的に採取して、先ほどのメタゲノム解析あるいは網羅的な代謝物解析であるメタボローム解析を行うことで、疾患の発症に関わる可能性のある腸内細菌関連バイオマーカーを探索します。そして、得られた菌そのもの、あるいは得られた代謝物をマウスに投与することで、そのメカニズムを検証しようということを進めています。

例えば、アトピー性皮膚炎において、水酸化脂肪酸である HYA というものがありますが、それがその後のアトピー性皮膚炎の発症を抑えるということがマウスの実験から示唆されています。また、喘息においては、これも幼少期、生まれて結構早期のプロピオン酸が高いことがその後の

喘息の発症と負に相関すること、高い方が発症しにくいということが、この小児コホートで分かっています。実際、マウスにプロピオン酸を投与することによって、好酸球の気道への移行を抑え、そのことによって喘息の発症を抑制することが、ダニアレルゲンを用いた気道炎症マウスモデルで証明されました。



このような研究を進めていくことによって、ヒトでの観察と、そこから得られた知見をマウスで検証することによって、腸内細菌叢が実際にどのように疾患と関係しているかがわかり、それをもとにして新たな予防法や治療法の開発にもつながるといことが考えられるわけです。

Laboratory for Intestinal Ecosystem

小児コホートによる研究
(千葉大学小児科との共同研究)

新生児~幼児の便を定期的に採取し、メタゲノム・メタボローム解析することで、疾患の発症に関わる可能性のある腸内細菌関連バイオマーカーを探索し、マウスでメカニズムを検証

- ✓ **アトピー性皮膚炎**
水酸化脂肪酸であるHYAがその後のアトピー性皮膚炎の発症を抑制
- ✓ **喘息**
プロピオン酸が好酸球の気道への移行を抑えることで喘息の発症を抑制

 *RIKEN Center for Integrative Medical Sciences (IMS)* 

「小児科診療 UP-to-DATE」

<http://medical.radionikkei.jp/uptodate/>