

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380072

研究課題名(和文)腸内共生細菌が有する免疫修飾因子の解析

研究課題名(英文)Exploring the gut microbiota-derived immunomodulation factors

研究代表者

福田 真嗣 (Fukuda, Shinji)

慶應義塾大学・政策・メディア研究科・准教授

研究者番号：80435677

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：腸内細菌叢と宿主粘膜免疫系に関連する近年の報告から、主要な腸内細菌群の一つであるクロストリジウム目細菌群が、アレルギーや炎症性腸疾患などの抑制に重要な役割を担う制御性T細胞(Treg細胞)の分化・誘導を促すことが報告されたが、その分子機構は不明であった。そこでクロストリジウム目細菌群定着マウスに、高繊維食または低繊維食を与えることで腸内環境に摂動を与え、その変化を統合オミクスにより解析した。その結果、腸管内でクロストリジウム目細菌群が食物繊維の発酵代謝により産生する酪酸が、大腸粘膜におけるナイーブT細胞からのTreg細胞への分化をエピジェネティックに誘導することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Gut commensal microbes shape the mucosal immune system by regulating the differentiation and expansion of several types of T cell. Clostridia, a dominant class of commensal microbe, can induce colonic regulatory T (Treg) cells, which have a central role in the suppression of inflammatory and allergic responses. However, the molecular mechanisms by which commensal microbes induce colonic Treg cells have been unclear. We show that a large bowel microbial fermentation product, butyrate, induces the differentiation of colonic Treg cells in mice. An integrated omics approach identified gut microbiota-derived butyrate epigenetically induced the differentiation of Treg cells in vitro and in vivo, and ameliorated the development of colitis in mice. Our findings provide new insight into the mechanisms by which host-microbe interactions establish immunological homeostasis in the gut.

研究分野：腸内環境システム学

キーワード：メタボロミクス 統合オミクス 腸内細菌 腸内代謝産物 短鎖脂肪酸 酪酸 炎症 制御性T細胞

## 1. 研究開始当初の背景

われわれの腸管内には、数百種類以上でおおよそ 100 兆個もの細菌が生息しており、それら腸内細菌叢は宿主腸管上皮細胞や粘膜免疫細胞、神経細胞や内分泌細胞などと複雑に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。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元にその恒常性を維持することで宿主の健康維持に寄与しているが、そのバランスが一度破綻すると、大腸がんや大腸炎といった腸管関連疾患だけでなく、自己免疫疾患や代謝疾患といった全身性疾患につながる事が報告されている。したがって、腸内エコシステムの全容を理解し、宿主 - 腸内細菌叢間相互作用に基づく宿主恒常性維持技術を確立することは、新たな疾患予防・治療技術の創出につながると考えられる。

## 2. 研究の目的

腸内細菌叢と宿主粘膜免疫系に関連する近年の報告から、複数のクロストリジウム属細菌種のみで構成された腸内細菌群が、アレルギーや自己免疫疾患、炎症性腸疾患などの抑制に重要な役割を担う制御性 T 細胞 ( $T_{reg}$  細胞) の分化・誘導を促すことが報告された (Atarashi, *et al.*, **Science**, 331:337, 2011)。しかしながら、これらの腸内細菌群が有するどのような因子が宿主粘膜免疫系にどのように作用することで、 $T_{reg}$  細胞の分化・誘導を促し、最終的な腸内エコシステムの恒常性の維持に寄与しているのか、といった分子レベルでの詳細なメカニズムは不明のままであった。そこで本研究では、われわれがこれまでに独自に構築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適用することで、腸内細菌群が産生する  $T_{reg}$  細胞の分化・誘導因子を同定し、その振る舞いを人為的に操作することで、腸内エコシステムの調節に基づく免疫システムの新たな制御基盤を創

出することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究では、 $T_{reg}$  細胞の分化誘導を促す芽胞形成能を有するクロストリジウム目細菌群を無菌マウスに定着させたクロストリジウム目細菌群定着マウスを試験に用いた。これらのマウスに高繊維食あるいは低繊維食を与えることで腸内環境に摂動を与え、変化した  $T_{reg}$  細胞数と腸内細菌叢および腸内代謝産物の挙動について、統合オミクス解析技術によりアプローチした。

## 4. 研究成果

メタボロミクスを基盤とする統合オミクス解析技術を適用することで、クロストリジウム目細菌群定着マウスが摂取した食物繊維が、腸管内でクロストリジウム目細菌群による嫌気発酵代謝を受け、産生された短鎖脂肪酸の一つである酪酸が、大腸粘膜における  $T_{reg}$  細胞の分化誘導を促すことを明らかにした。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以前より知られていたが、ナイーブ T 細胞を用いた *in vitro* でのトランスクリプトーム解析およびゲノムワイドなエピゲノム解析から、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、 $T_{reg}$  の分化誘導のマスター転写因子である *Foxp3* 遺伝子領域のヒストンアセチル化を促進し、*Foxp3* 遺伝子発現量を増加させることを明らかにした。T 細胞依存性大腸炎モデルマウスに酪酸を架橋したデンブンを食餌として与えて腸管内での酪酸量を増加させたところ、大腸粘膜における  $T_{reg}$  細胞数が増加し、それに伴って大腸炎も抑制されたことから、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、 $T_{reg}$  細胞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 (Furusawa, Obata, Fukuda *et al.*, **Nature**, 504:446, 2013)。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 11 件)

1. †Mishima, E., †Fukuda, S. (†co-first author), Shima, H., Hirayama, A., Akiyama, Y., Takeuchi, Y., Fukuda, N. N., Suzuki, T., Suzuki, C., Yuri, A., Kikuchi, K., Tomioka, Y., Ito, S., Soga T., Abe, T. Alteration of the intestinal environment by lubiprostone is associated with amelioration of adenine-induced CKD. **J. Am. Soc. Nephrol.** in press. doi: 10.1681/ASN.2014060530 査読有
2. †Aw, W. and †\*Fukuda, S. (†co-first and \*corresponding author) Toward the comprehensive understanding of the gut ecosystem via metabolomics-based integrated omics approach. **Semin. Immunopathol.** 37: 5-16, 2015. 総説 査読有
3. Fukuda, S. and Ohno, H. Gut microbiome and metabolic diseases. **Semin. Immunopathol.** 36: 103-114, 2014. 総説 査読有
4. 福田真嗣 もう一つの臓器：腸内細菌叢の機能に迫る、**化学と生物**、52: 565-567, 2014. 総説 査読無
5. 福田真嗣 メタボロミクスによる腸内エコシステムの理解、**医学のあゆみ**、249: 13780-13785, 2014. 総説 査読無
6. 福田真嗣、長谷耕二、大野博司 統合オミクスが解き明かす腸内細菌叢の機能、**実験医学**、32 : 726-732, 2014. 総説 査読無
7. †Furusawa, Y., †Obata, Y., †\*Fukuda, S. (†co-first and \*corresponding author), Endo, T. A., Nakato, G., Takahashi, D., Nakanishi, Y., Uetake, C., Kato, K., Kato, T., Takahashi, M., Fukuda, N.N., Murakami, S., Miyauchi, E., Hino, S., Atarashi, K., Onawa, S., Fujimura, Y., Lockett, T., Clarke, J.M., Topping, D.L., Tomita, M., Hori, S., Ohara, O., Morita, T., Koseki, H., Kikuchi, J., Honda, K., †\*Hase, K., \*Ohno, H. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. **Nature** 504: 446-450, 2013. 査読有
8. Atarashi, K., Tanoue, T., Suda, W., Oshima, K., Nagano, Y., Nishikawa, H., Fukuda, S., Saito, T., Narushima, S., Hase, K., Kim, S.W., Fritz, J.V., Wilmes, P., Ueha, S., Matsushima, K., Ohno, H., Olle, B., Sakaguchi, S., Taniguchi, T., Morita, H., Hattori, M., Honda, K. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. **Nature** 500: 232-236, 2013. 査読有
9. Okada, T., Fukuda, S., Hase, K., Nishiumi, S., Izumi, Y., Yoshida, M., Hagiwara, T., Kawashima, R., Yamazaki, M., Oshio, T., Otsubo, T., Inagaki, O. K., Kakimoto, K., Higuchi, K., Kawamura, Y. I., Ohno, H., Dohi, T. Microbiota-derived lactate accelerates colon epithelial cell turnover in starvation-refed mice. **Nat. Commun.** 4: 1654, 2013. 査読有
10. 福田真嗣、大野博司 統合オミクスによる腸エコシステムの全容理解に向けた取り組み、**細胞工学**、32:1138-1142, 2013. 総説 査読無
11. 福田真嗣、大野博司 統合オミクスによる腸エコシステムの理解、**実験医学** 30: 3255-3260, 2012. 総説 査読無

〔学会発表〕(計 21 件)

1. 福田真嗣 腸内細菌叢由来代謝産物もたらす宿主 - 腸内細菌間共生機構 第 88 回日本細菌学会総会、長良川国際会議場(岐阜) 2015 年 3 月 26-28 日 招待講演

2. 福田真嗣 腸内エコシステムの理解による新たな健康維持基盤技術の創成 第 62 回日本生態学会、鹿児島大学(鹿児島) 2015 年 3 月 18-22 日 招待講演
3. Fukuda, S. Shedding light on the function of gut microbiota, another organ in our body. The Immunology Institute Seminar at the Mount Sinai School of Medicine, NY, USA, March 10th, 2015. 招待講演
4. Fukuda, S. Shedding light on the function of gut microbiota, another organ in our body. 14<sup>th</sup> Japanese-American Frontiers of Science (JAFoS), Hotel New Otani (Tokyo), December 4-7th, 2014. 7 日 招待講演
5. 福田真嗣 もう一つの臓器 - 腸内細菌叢の機能に迫る - 日本食物繊維学会第 19 回学術集会、大妻女子大学(東京) 2014 年 11 月 29-30 日 招待講演
6. 福田真嗣 メタボロゲノミクスがもたらず腸内細菌叢機能の包括的理解 2<sup>nd</sup> Japanese Consortium for Human Microbiome、東京工業大学(東京) 2014 年 11 月 28 日 招待講演
7. 福田真嗣 Gut microbiota-derived metabolites shape host physiological homeostasis. 第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜(横浜) 2014 年 11 月 25-27 日 招待講演
8. 福田真嗣 トランスオミクスによる腸内エコシステムがもたらず免疫修飾機構の理解 第 87 回日本生化学会大会、国立京都国際会館(京都) 2014 年 10 月 15-18 日 招待講演
9. 福田真嗣 統合オミクスによる腸内エコシステムの理解 第 14 回抗加齢医学の実際 2014、時事通信ホール(東京) 2014 年 9 月 15 日 招待講演
10. 福田真嗣 哺乳動物の腸内エコシステムがもたらず生体恒常性維持機構 第 66 回日本生物工学会、札幌コンベンションセンター(北海道) 2014 年 9 月 9-11 日 招待講演
11. 福田真嗣 統合オミクスが解き明かす腸内エコシステムの生体恒常性維持機構 2014 年度生物工学フォーラム、理化学研究所大河内記念ホール(埼玉) 2014 年 7 月 25 日 招待講演
12. Fukuda, S. Elucidation of the beneficial effect of probiotics and prebiotics on host physiology via integrated omics approach. International Conference on Beneficial Microbes, Penang, Malaysia, May 27-29th, 2014. 招待講演
13. 福田真嗣 統合オミクスによる宿主 - 腸内細菌間相互作用の理解 日本農芸化学会 2014 年度大会、明治大学(東京) 2014 年 3 月 27-30 日 招待講演
14. 福田真嗣 Understanding the complex gut ecosystem via integrated omics approach 第 87 回日本細菌学会総会、タワーホール船堀(東京) 2014 年 3 月 26-28 日 招待講演
15. 福田真嗣 腸内細菌叢がもたらず生体修飾機構の理解 第 8 回獣医アトピー・アレルギー・免疫学会 第 8 回シンポジウム、KFC ホール(東京) 2014 年 1 月 19 日 招待講演
16. 福田真嗣 統合オミクスによる腸内共生システムの理解 第 5 回慶應義塾生命科学シンポジウム 食と医科学フォーラム、慶應義塾大学(東京) 2013 年 12 月 4 日 招待講演
17. 福田真嗣 統合オミクスによる腸内エコシステムの理解 第 29 回日本微生物生態学会、鹿児島大学(鹿児島) 2013 年 11 月 23-25 日 招待講演
18. 福田真嗣 Human Microbiome と生体応答の理解による新たな健康増進ストラテジー 第 13 回抗加齢医学の実際、THE GRAND HALL(東京) 2013 年 9 月 15-16

日 招待講演

19. 福田真嗣 マルチオミクスによる腸内共生システムの理解 第 35 回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場(福岡)、2012 年 12 月 11-14 日 招待講演
20. Fukuda, S. Multiple omics approach identified acetate produced by probiotic bifidobacteria to protect host from enteropathogenic infection. International Conference and Exhibition of Probiotics, San Antonio, USA, November 19-21th, 2012. 招待講演
21. Fukuda, S. Understanding the gut ecosystem via multiple omics approach. The International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics 2012. Kosice, Slovakia June 12-14th, 2012 招待講演

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.iab.keio.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

福田 真嗣 ( FUKUDA, Shinji )

慶應義塾大学・政策・メディア研究科・特任  
准教授

研究者番号：80435677

(2)研究分担者

長谷 耕二 ( HASE, Koji )

慶應義塾大学・薬学部・教授

研究者番号：20359714