

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2015

課題番号：25710016

研究課題名(和文) ヒト腸内細菌叢代謝機構の解明

研究課題名(英文) Understanding metabolic systems for human gut microbiome

研究代表者

山田 拓司 (Yamada, Takuji)

東京工業大学・生命理工学研究科・講師

研究者番号：10437262

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,900,000円

研究成果の概要(和文)：腸内代謝経路データベースの基盤構築、及び代謝経路中における遺伝子未知の反応に対する遺伝子予測ツールを構築することができた。特に腸内代謝経路データベースは詳細な文献調査にもとづいて構築されており、これまで登録されている既知の反応情報と比較して、その2倍以上の反応経路を本研究によりデータ化している。また、各反応を担う遺伝子情報についても文献情報から抽出しており、非常に精度の高いデータベースとなっている。このデータを利用して、これまでに報告されている健康人のヒト腸内細菌メタゲノム配列情報をマッピングしたところ、新規登録反応に多くの多様性を確認することができた。

研究成果の概要(英文)：Human gut harbors millions of microbiome, and their functional ability have wide diversity. Most of related works are based on KEGG database for their functional annotation, however, most of functional modules are not well known. Here we developed the database for gut microbiome, called as "enteropathway", allows researchers uncover functionality of gut microbiome more clearly. For example, we suggested few modules have high diversity across 1000 individuals, showing the diverse metabolic potential. In addition, these novel defined modules are under represented in Obesity patients comparing with healthy individuals.

研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：バイオインフォマティクス メタゲノミクス ヒト腸内細菌 データベース

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒト腸内には 1000 種 100 兆個体を超える微生物群が共生していると言われている。糞便中に含まれる細菌を調べることで、どのような腸内細菌が共生しているかを知ることができる。しかしながら、多くの腸内細菌が嫌気性であり難培養性であるため詳細かつ網羅的な解析が非常に困難であった。

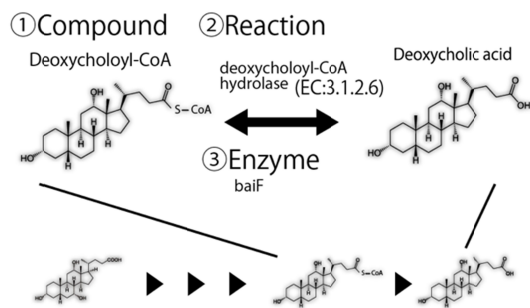
(2) 近年、遺伝子配列決定が比較的安価且つ高速に行えるようになり、ヒト糞便中に含まれる微生物群の遺伝子配列全てを一度に決定する**メタゲノム解析**と呼ばれる手法が確立された。この手法により糞便中の細菌組成及び遺伝子組成を比較的容易に得ることができるようになった。ヒト腸内細菌叢は独自の代謝系を持っており、葉酸などのビタミン合成系、二次胆汁酸合成系、さらには食物繊維を分解することによる酪酸などの短鎖脂肪酸合成系などの存在が報告されている。腸内細菌がヒトの健康状態に与える影響を解明するためにはこのような腸内代謝系の理解が必須である。しかしながら、腸内細菌による化合物の代謝経路及び関連する酵素遺伝子の多くは解明されていない。また、これまでに文献などで報告されている代謝経路をまとめて利用できるようなデータベースの整備もされていない。メタゲノム解析により大量の遺伝子配列を得ることができるが、現状ではそれらの遺伝子に対して割り当てることができる遺伝子機能が非常に少ない。

2. 研究の目的

(1) 本研究では腸内細菌叢における代謝反応経路の解明を目的として、文献情報などから腸内細菌叢における代謝反応経路を抽出し、腸内細菌叢代謝経路データベースを作成する。(2) また、情報学的手法を用いてビタミンなどのヒト腸管内で修飾を受ける化合物群を代謝する新たな反応経路を予測する。

3. 研究の方法

(1) 本研究ではまず文献調査および既存の



④Module

図 1 : エンテロパスウェイデータベースのエントリ概要

データベースに登録されているヒト腸内細菌由来代謝経路を網羅的に抽出した。2000 編以上の論文を調査対象とし、400 編以上の論文から実際に関連酵素および対応する遺伝子、基質、代謝産物、さらには生物種情報を取り出している。

既存のデータベースとしては、代謝経路データベースとして広く認知されている KEGG データベースを用いた。KEGG データベースに登録されていない酵素反応および化合物に対しては、独自に ID を整備しデータベース化を行った。データベースには化合物、酵素反応、酵素遺伝子、酵素反応群 (モジュール) がそれぞれエントリ化されている (図 1)。

(2) また、腸内細菌代謝経路は化合物をノード (点)、酵素反応をエッジ (線) としたネットワーク図として可視化し、JavaScript、CSS および HTML を用いたインタラクティブな web ベースのアプリケーションとして構築した。

4. 研究成果

(1) 719 の新規酵素反応、300 の新規遺伝子、500 の新規化合物、289 の新規酵素反応モジュールを加えたエンテロパスウェイデータ

	KEGG	New entries		sum
		Gene annotated	Gene unannotated	
reactions	2,651	300	419	3,370
Modules	217	154	133	504
Compounds	2,431	536		2,967
reference		547		547

図 2 : エンテロパスウェイデータベース統計値

ベースを構築した(図2)。

ヒト腸内環境由来のメタゲノムデータを用いて、これまでに約 1000 万の腸内細菌由来遺伝子の配列が公開されている。これらの遺伝子の大半は「機能未知」として公開されている。今回新たに機能付けされた遺伝子は、相同性検索により公開配列との対応付けを行い、それらの遺伝子リストに対しても機能アノテーションを行っている。

(2) また、反応のみ明らかになっている酵素反応に対して、その化合物構造の変化パターンを指標に遺伝子配列を予測するアルゴリズムを開発し、遺伝子配列アノテーションを行った。その結果、80 の酵素反応に対して遺伝子をアサインすることができた。

(3) 構築したヒト腸内環境代謝経路データベースは、代謝経路マップとしてまとめている(図3)。

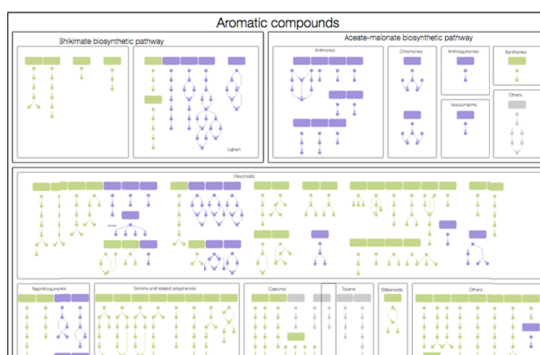


図3：エンテロパスウェイのダイアグラム

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 3 件)

1. Moriya Y, Yamada T, Okuda S., Nakagawa Z, Kotera M, Tokimatsu T, Kanehisa M. & Goto S. (2016). Identification of Enzyme Genes Using Chemical Structure Alignments of Substrate-Product Pairs. Journal of Chemical Information and Modeling. J Chem Inf Model. 査読あり, 2016 Mar 28;56(3):510-6. doi: 10.1021/acs.jcim.5b00216.
2. Uchiyama T, Irie M, Mori H, Kurokawa K, Yamada T. FuncTree: Functional Analysis and Visualization for Large-Scale Omics

Data. PLoS One. 査読あり, 2015 May 14;10(5):e0126967. doi:

10.1371/journal.pone.0126967.

3. Wang T, Mori H, Zhang C, Kurokawa K, Xing XH, Yamada T. DomSign: a top-down annotation pipeline to enlarge enzyme space in the protein universe. BMC Bioinformatics. 査読あり, 2015 Mar 21;16:96. doi: 10.1186/s12859-015-0499-y

〔学会発表〕(計 10 件)

1. 山田拓司、演題：ヒト腸内細菌代謝経路データベースの構築、第 366 回 CBI 学会講演会、グランフロント大阪、2015 年 11 月 5 日
2. 山田拓司、演題：Metabolic pathway database for Human gut microbiome、第 67 回日本生物工学会大会、城山観光ホテル(鹿児島)、2015 年 10 月 26 日-28 日
3. 山田拓司、演題：Fecal metagenomic analysis of colorectal cancer cohort、第 74 回日本癌学会学術総会、名古屋国際会議場、2015 年 10 月 8 日-10 日(招待講演)
4. 山田拓司、演題：ヒト腸内細菌代謝機能データベースの構築、第 15 回日本抗加齢医学会総会、福岡国際会議場、2015 年 5 月 29 日-31 日
5. 山田拓司、演題：ヒト腸内細菌代謝機能データベースの構築、第 88 回日本細菌学会総会、長良川国際会議場、2015 年 3 月 26 日-28 日
6. 山田拓司、演題：ヒト腸内細菌代謝経路データベース、第 18 回腸内細菌学会、東京大学「伊藤国際学術研究センター」、2014 年 6 月 11 日-12 日
7. 山田拓司、演題：ヒト腸内細菌代謝経路データベースの構築、第 17 回日本臨床腸内微生物学会総会・学術集会、東京慈恵会医科大学(西新橋キャンパス)、2014 年 10 月 4 日
8. 山田拓司、演題：ヒト腸内細菌代謝経路データベースの構築、第 97 回日本細菌学会関東支部総会、東京ドームホ

テル、2014年10月30日-31日（招待講演）

9. 山田拓司、演題：ヒト腸内細菌代謝経路データベースの構築、環境微生物系学会合同大会2014、アクトシティ浜松コンgresセンター、2014年10月21日-24日
10. 山田拓司、演題：腸内細菌代謝反応データベースの構築、第46回日本動脈硬化学会総会・学術集会、京王プラザホテル（新宿）、2014年7月10日-11日

〔図書〕（計 0件）

〔産業財産権〕
出願状況（計 0件）

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 拓司（Yamada, Takuji）
東京工業大学 生命理工学研究科 講師
研究者番号：10437262