

令和元年6月6日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04901

研究課題名(和文) 腸内細菌が有する腸内環境定着因子の網羅的解析

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of intestinal colonization factors derived from gut microbes

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(藤沢)・特任教授

研究者番号：80435677

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトの腸管内には多種多様な腸内細菌が生息しており、それらが宿主腸管細胞と密接に相互作用することで、複雑な腸内微生物社会が形成されている。しかし、この複雑で洗練された腸内微生物社会がどのようなメカニズムで形成・維持されているのかの詳細については不明な点が数多く残されている。そこで本研究では、大腸菌をモデル細菌として用い、無菌マウスや超並列シーケンサー、質量分析計といったツールを駆使することで、腸内細菌がどのように腸内に定着し、腸内微生物社会を形成するのかそのメカニズムについて解析を行った。その結果、腸内ミニマム生態系における初期状態を示す腸内変動のダイナミズムの一端を明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の意義は、腸内細菌が有する腸内環境定着因子を網羅的に解析し、腸内微生物共生社会形成機構を理解することで、腸内細菌叢のバランスの乱れが素因になる疾患の先制医療を目指した基盤技術の礎となると共に、予防医学や健康増進の見地に立ったサプリメントや機能性食品開発にも応用でき、それらの摂取によるセルフメディケーションにもつながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The gut microbiota form a highly complex ecological community together with host intestinal cells. The so-called gut ecosystem has a profound influence on human physiology, immunology, and nutrition. It has been reported that imbalance in the structure of gut ecosystem could be a risk factor in human disorders including not merely gut-associated diseases but also systemic disorders. However, the molecular mechanisms of the formation of complex intestinal microbial community remain obscure. To this end, we firstly established a highly integrated metagenomic and metabolomic approaches, metabologenomics, and found that the interaction between host-derived IgA and number of colonized bacteria are important to form initial state of gut ecosystem, indicating that host-microbial crosstalk is one of the key systems to form complex microbial community in gut.

研究分野：腸内環境制御学

キーワード：腸内細菌 代謝物質 メタゲノム メタボローム メタボロゲノミクス 相互作用 微生物社会 定着

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海洋や土壌など、地球上のあらゆる環境中には多種多様な微生物共生社会が形成されており、環境生態系を維持している。われわれヒトを含む哺乳類全般も例外ではなく、その消化管内にはおよそ 1,000 種類で 40 兆個にもおよぶとされる細菌群が生息しており (Sender, *et al.*, *PLOS Biol.* 14: e1002533, 2016) これらが複雑に相互作用しながら腸内微生物社会を形成している。バランスのとれた腸内微生物社会はヒトの健康維持・増進に有用であることが知られているが、加齢やストレスなどの外的環境要因によりそのバランスが崩れると、大腸癌や炎症性腸疾患などの腸管関連疾患や、アレルギーや代謝疾患などの全身性疾患が誘発されることが知られている (Fukuda and Ohno, *Semin. Immunopathol.*, 36: 103, 2014)。その一方で、ビフィズス菌や乳酸菌に代表されるプロバイオティクスの摂取が、バランスの崩れた腸内微生物社会を是正し、上述の疾患の予防や改善を行うセルフメディケーションとしての重要性も示唆されている (Jia, *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 7:123, 2008)。このように腸内微生物社会はわれわれの健康と密接にかかわっているが、個々の腸内細菌がどのように相互作用することで腸管内における複雑な共生微生物社会を形成しているのか、すなわち腸内微生物社会形成機構の分子基盤は不明であった。われわれはこれまでに、メタボロミクスを基盤とする統合オミクス解析手法を考案し (Fukuda *et al.*, *PLOS ONE* 4: e4893, 2009; *J. Proteome Res.* 10: 824, 2011) 腸内細菌叢から産生される酢酸や酪酸などの短鎖脂肪酸や、乳酸やコハク酸などの有機酸などの代謝物質が、宿主の腸管局所のみならず、全身の恒常性維持に重要であることを明らかにしてきた (Fukuda *et al.*, *Nature* 469: 543, 2011; *Nat. Commun.* 4: 1654, 2013; *Nature* 504: 446, 2013; *J. Am. Soc. Nephrol.*, 26: 1787, 2015; *Kidney Int.* 92: 634, 2017; *Science* 356: 315, 2017)。このような統合オミクスを基盤とするトップダウンアプローチにより、代謝物質を介した宿主-腸内細菌叢間相互作用に基づく腸内細菌叢の機能理解が進むにつれて、その次の課題として、複雑な腸内細菌叢をどのように制御するか、すなわち宿主-腸内細菌間および腸内細菌同士の相互作用に基づく個々の腸内細菌の機能理解という課題が挙げられる。

2. 研究の目的

これまでの研究で、腸内細菌叢から産生される代謝物質が宿主の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、本研究ではわれわれが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手法を適用することで、腸内微生物社会における微生物間、および宿主-微生物間相互作用の解析から、腸内細菌が有する腸内環境定着因子の探索を行い、その評価を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、腸内微生物社会形成機構の理解に向けて、まずはミニマム生態系における宿主-腸内細菌叢間相互作用の理解に向けて、網羅的解析を実施した。具体的には腸内微生物社会形成過程における初期状態を模倣し、微生物社会の最小単位である宿主と 2 種の腸内細菌間相互作用の詳細について、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手法を適用することで、以下の 3 つを実施した。すなわち、(1)腸内細菌との初めての出会いによる宿主応答の詳細、(2)宿主応答に対する腸内細菌の遺伝子・代謝適応、(3)両者の変遷の末に構築される定常状態の理解、の 3 点について解析を行った。供試する細菌種は、新生児が生まれた直後に腸管内で最初に定着する大腸菌と、その後のミルク摂取により増加してくるビフィズス菌との関係について、既にゲノム配列が明らかになっている菌株を選定し、無菌マウスを用いたミニマム生態系モデル試験を行うことで腸内細菌が有する腸内環境定着因子の網羅的解析を実施した。

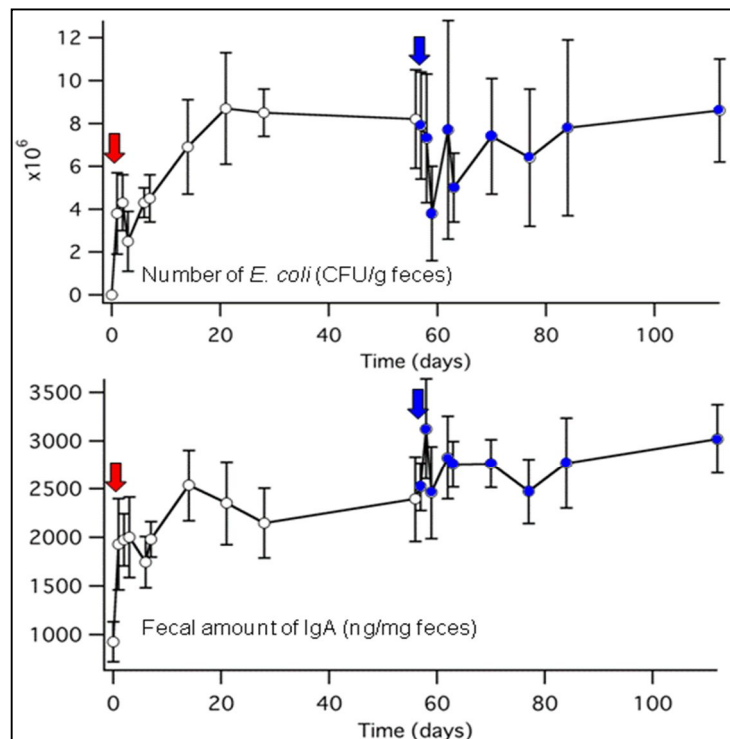


図 1: 腸内ミニマム生態系における大腸菌数と IgA 量の変動

上段: 糞中大腸菌数、下段: 糞中 IgA 量

赤矢印: 大腸菌投与、青矢印: ビフィズス菌投与

○: 大腸菌単独定着、●: 大腸菌+ビフィズス菌定着

4. 研究成果

腸内ミニマム生態系における大腸菌およびビフィズス菌各々の細菌数の変動や、腸内細菌の定着により宿主生体応答の結果として腸内細菌数の制御のために免疫細胞が腸管内に分泌する免疫グロブリン A (IgA) の定量を行ったところ、腸内ミニマム生態系における初期状態を示す腸内変動のダイナミズムの一端を明らかにすることができた (図 1)。すなわち、無菌マウスへの大腸菌の単独定着により、(1)腸管内への非特異的な IgA 分泌量が定着 1 日目から誘導され始め、(2)非特異的 IgA により大腸菌の増殖は一時的に抑制されるが、(3)定着 4 日目には大腸菌が非特異的 IgA に対する耐性を獲得し (代謝適応変異と仮定)、(4)14 日目までは腸管内での大腸菌数は増加の一途をたどる。(5)しかし 14 日目以降は獲得免疫機構が機能するため、大腸菌特異的な IgA が分泌されるようになり、(6)大腸菌数の増加は見掛け上停止し、定常状態を迎えた。その後、次の微生物刺激として大腸菌定着 57 日目にビフィズス菌を投与したところ、(7)ビフィズス菌の定着刺激により大腸菌特異的 IgA が一過性に分泌され、(8)大腸菌数が一時的に減少したものの、(9)その後大腸菌数は定常状態のレベルまで回復した。本研究ではこれらの基礎データを明らかにすることができたが、さらなる課題として、微生物社会形成に重要と考えられる宿主生体防御反応である(1)や(7)の宿主免疫細胞による IgA 産生誘導機構や、細菌側の防御反応 (腸内環境定着反応) と考えられる(3)の大腸菌の代謝適応変異機構についても、メタボロミクスを基盤とする統合オミクス解析技術を駆使してそのメカニズムを明らかにする必要がある。最終的には、代謝物質情報や細菌数、IgA 量の実測値に基づいた腸内ミニマム生態系のダイナミズムが記述された数理モデルを構築することで、微生物社会形成過程の初期状態やその破綻条件の理解を深めることができると考えている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

Ishii, C., Nakanishi, Y., Murakami, S., Nozu, R., Ueno, M., Hioki, K., Aw, W., Hirayama, A., Soga, T., Ito, M., Tomita, M., Fukuda, S. (*corresponding author) A metabologenomic approach reveals changes in the intestinal environment of mice fed on American diet. **Int. J. Mol. Sci.** 19: E4079, 2018. 査読有

Yamamoto, Y., Nakanishi, Y., Murakami, S., Aw, W., Tsukimi, T., Nozu, R., Ueno, M., Hioki, K., Nakahigashi, K., Hirayama, A., Sugimoto, M., Soga, T., Ito, M., Tomita, M., Fukuda, S. (*corresponding author) A metabolomic-based evaluation of the role of commensal microbiota throughout the gastrointestinal tract in mice. **Microorganisms**, 6: E101, 2018. 査読有

†Mishima, E., †Fukuda, S. (†equally contributed), Kanemitsu, Y., Saigusa, D., Mukawa, C., Asaji, K., Matsumoto, Y., Tsukamoto, H., Tachikawa, T., Tsukimi, T., Fukuda, NN., Ho, HJ., Kikuchi, K., Suzuki, C., Nanto, F., Suzuki, T., Ito, S., Soga, T., Tomioka, Y., Abe, T. Canagliflozin reduces plasma uremic toxins and alters the intestinal microbiota composition in a chronic kidney disease mouse model. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.** 315: F824-F833, 2018. 査読有

†Mishima, E., †Fukuda, S. (†equally contributed), Mukawa, C., Yuri, A., Kanemitsu, Y., Matsumoto, Y., Akiyama, Y., Fukuda, NN., Tsukamoto, H., Asaji, K., Shima, H., Kikuchi, K., Suzuki, T., Tomioka, Y., Soga, T., Ito, S., Abe, T. Evaluation of the impact of gut microbiota on uremic solute accumulation by CE-TOFMS-based metabolomics approach. **Kidney Int.** 92: 634-645, 2017. 査読有

Suzuki, K., Yoshida, K., Nakanishi, Y., Fukuda, S. An equation-free method reveals the ecological interaction networks within complex microbial ecosystems. **Methods Ecol. Evol.** 8: 1774-1785, 2017. 査読有

Kim, YG., Sakamoto, K., Seo, SU., Pickard, JM., Gilliland, M.G. 3rd, Pudlo, NA., Hoostal, M., Li, X., Feehley, T., Stefka, AT., Schmidt, TM., Martens, EC., Fukuda, S., Inohara, N., Nagler, CR., Núñez, G. Neonatal acquisition of clostridia species protects against colonization by bacterial pathogens. **Science** 356: 315-319, 2017. 査読有

[学会発表] (計 7 件) 全て招待講演

Fukuda, S. A metabologenomic approach reveals the function of gut microbiota in health and disease, The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Society Congress (FAOPS 2019), Kobe Convention Center, Hyogo, Japan, Mar. 29th, 2019.

Fukuda, S. The impact of gut microbiota-derived metabolites in tumorigenesis, U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 21th International Conference on Emerging Infectious Disease in the Pacific Rim, La Thanh hotel, Hanoi, Vietnam, Feb. 27th, 2019.

Fukuda, S. A metabologenomic approach reveals the function of gut microbiota in health and disease, The 3rd Kyoto Biomolecular Mass Spectrometry Society (KBMSS) Symposium 2019, Kyoto University Masukawa Hall, Kyoto, Japan, Feb. 23rd, 2019.

Fukuda, S. A metabologenomic approach reveals the function of gut microbiota in health and disease, Asia-Pacific Nutrigenomics and Nutrigenetics Organization (APNNO) 2018, Ito International Research Center, Tokyo, Japan, Dec. 3rd, 2018.

Fukuda, S. The importance of gut luminal metabolism in health and disease, FALK symposium 212 IBD and Liver: East meets West, Kyoto Hotel Okura, Kyoto, Japan, Sep. 7-8th, 2018.

Fukuda, S. Gut microbiota-derived metabolites shape host physiological homeostasis. 2016 International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology, COEX, Seoul, Korea, Oct. 12-14, 2016.

Fukuda, S. Gut microbiota-derived metabolites shape host physiological homeostasis. International Conference on Beneficial Microbes 2, Duangchanok Conference Hall, Phuket, Thailand, May 31-June 2, 2016.

〔図書〕(計 6 件)

福田真嗣(共著): 生命の教養学 13 「飼う」 V 飼い飼われる共犯関係 「もう一つの臓器」腸内細菌叢の機能に迫る pp.223-247 編集責任者 赤江雄一 慶應義塾大学出版会 2018. ISBN 978-4-7664-2537-6

福田真嗣(共著): 実験医学別冊メタゲノム解析実験プロトコール 第4章 メタボロミクスを基盤とした腸内環境研究 pp.181-186 編集責任者 服部正平 羊土社 2016. ISBN 978-4-7581-0197-4

福田真嗣(共著): 共生微生物 第3章 宿主-腸内細菌叢間相互作用 pp.25-36 編集責任者 大野博司 化学同人 2016. ISBN 978-4-75981-728-7

福田真嗣(共著): 獣医臨床のための免疫学 第2編第7章 腸内細菌叢がもたらす免疫系への影響 pp.138-143 編集責任者 長谷川篤彦、増田健一 学窓社 2016. ISBN 978-4-87362-753-3

福田真嗣(共著): ヒトマイクロバイオーム研究最前線 ~常在菌の解析技術から生態、医療分野、食品への応用研究まで~ 第6編第2章 プロバイオティクスと腸内代謝物質 pp.393-401 編集責任者 服部正平、エヌ・ティー・エス 2016. ISBN 978-4-86043-449-6

福田真嗣: おなかの調子よくなる本 KK ベストセラーズ 2016. ISBN 978-4584136775

〔産業財産権〕

○出願状況(計 3 件)

名称: 抗炎症剤

発明者: 福田真嗣、田中一己

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2018-224169 号

出願年: 2018

国内外の別: 国内

名称: D - ブシコース応答性増殖能を有する腸内細菌

発明者: 福田真嗣、竹内奈緒

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2018-131052 号

出願年: 2018

国内外の別: 国内

名称: 体力向上作用及び抗疲労作用のうちの一以上の作用を有する組成物

発明者: 福田真嗣、狩野智恵、森田寛人

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2017-193132 号

出願年: 2017

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

https://vu.sfc.keio.ac.jp/faculty_profile/cgi/f_profile.cgi?id=4b6eeaf56e240ec4

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 宮内 栄治

ローマ字氏名: (MIYAUCHI, Eiji)

所属研究機関名: 理化学研究所

部局名: 統合生命医科学研究センター

職名: 研究員

研究者番号(8桁): 60634706