

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2017

課題番号：26700029

研究課題名(和文) ヒトマイクロバイオームによる疾患因子プロファイリング

研究課題名(英文) Profiling of disease factors in human microbiome

研究代表者

奥田 修二郎 (Okuda, Shujiro)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：00512310

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,900,000円

研究成果の概要(和文)：腸内細菌叢を始めとしたヒトマイクロバイオームの研究を推進する上で非常に重要なことが、どの細菌がどのような相互作用をしてその細菌叢を構築しているか、を推定することである。そのために必要となる基盤的手法の開発を実施した。細菌種間の相互作用を担う可能性の高い代謝上の接点を推測し、これらの相互作用点を元に細菌種間相互作用ネットワークを推定する手法を開発した。これにより複雑なマイクロバイオーム内での細菌間の関係を解析および可視化できるようになる。

研究成果の概要(英文)：An important factor in promoting the research of human microbiome including gut microbiome is to estimate what interaction between bacteria are needed and how bacterial community are built. We have developed the fundamental method that is necessary for that purpose. We infer the interaction points on the metabolic pathways which are likely to be responsible for the interaction among bacteria and also developed a method to estimate the bacterial interaction network based on these interaction points. This makes it possible to analyze and visualize the relationships between bacteria in complex microbiome systems.

研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：腸内細菌 マイクロバイオーム

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトの身体には、様々な微生物が共生している。腸内細菌であれば、1000種100兆個体にも登る細菌が共生している。口腔内や皮膚など、人体のあらゆる部分に微生物が存在し、ヒトの代謝物質と相互作用を行うことでそのバランスを保っていると考えられる。しかしながら、これらの微生物の多くは難培養性であるため、詳細な研究は困難であった。近年のDNAシーケンサーの技術革新により、ある環境中の微生物DNAをすべてシーケンスするメタゲノム解析という手法が確立された。この手法により、人体のあらゆる部位における微生物の遺伝子・生物種の組成の解析が可能になった。共生微生物による代謝産物が宿主であるヒトに吸収され、ヒトの代謝系に影響を与え、病気にまで発展する可能性がある。共生微生物がヒトの健康状態に与える影響を解明するためには、これらの代謝系の理解が必須である。しかしながら、共生細菌による化合物の代謝経路や関連する酵素遺伝子の多くは解明されておらず、また、上記MGWAS解析法も物質循環を観測するには未だ不十分である。そこで、本研究ではどの共生微生物種が、どこで、どういう代謝機能を担うことによって、健康に影響を与える、あるいは、病気の原因となるかの解明を目的として、ヒト-微生物間の代謝ネットワークの構築、および、病気特異的な化合物因子、あるいは機能モジュールを特定することで、あらゆるヒトマイクロバイオームにおける疾患因子プロファイリングを実施する。

## 2. 研究の目的

ヒトマイクロバイオームにおける代謝機能の全容解明に向けて、まず、微生物間相互作用を推定する。得られる代謝ネットワークは、その環境中の微生物種コミュニティ全体としての機能であるが、それぞれの生物種は、その部分構造(モジュール)を担っている。どの微生物種がどのモジュール機能を担っているかを推定し、微生物種間での物質のやりとりを明確にする。さらに、疾患特異的マーカーの同定を試みる。疾患の患者と健康な人のサンプルを比較することで、疾患特異的な遺伝子や化合物を特定出来る。また、1塩基多型やリン酸化などの遺伝子機能に直接影響を与える情報が様々なデータベースに蓄積されている。遺伝子やタンパク質配列中でのそれらの位置が、進化の過程でどの程度保存されているかを調べることで、その変異や修飾によってもたらされる機能的な重要性を評価できる。疾患に特異的な遺伝子の中でも、進化的にも重要度の高い因子の特定を行う。

## 3. 研究の方法

本研究計画では、ヒトマイクロバイオームから構築される代謝系ネットワーク内の各要素について疾患に対する影響力を評価し、疾患因子のプロファイリングを実施する。具体的には以下の点を中心に研究を行った。

(1) ヒトマイクロバイオームから代謝ネットワークの構築：現在公開されているヒトの各部位におけるメタゲノムデータをKEGGデータベースにマッピングし代謝系ネットワークを推定した。メタゲノムデータのアノテーションには、申請者らが開発したKEGG KAASシステム[Moriya et al. J. Chem. Inf. Model. 2016]を利用した。再構成した代謝系ネットワーク内で、各遺伝子により代謝される化合物のプロファイルを得た。

(2) 微生物間相互作用の推定：代謝ネットワーク内での部分構造である機能モジュールをどの微生物が担っているかを推定した。また、代謝系全体にわたるモジュール構造は、系統プロファイルにおける類似度と代謝ネットワーク上での隣接関係から作成した。

(3) 化合物・酵素の影響力評価：代謝系ネットワーク内で化合物・酵素がどの程度影響力を持っているかを、先行研究[Tanaka et al. Genome Informatics 2006]で利用しているネットワーク拡張アルゴリズムによって評価した。

(4) 進化パターンによる影響力の評価：GWASやエキソーム解析で得られる1塩基変異の情報、およびリン酸化の情報をデータベースより収集し、遺伝子・タンパク質配列にマッピングした。様々な生物種の配列とのアラインメントから、変異・修飾のサイト毎に、進化パターンを計算した。

## 4. 研究成果

微生物種間の相互作用ネットワークとしてKEGGパスウェイデータベースを利用した。Liらにより再解析された約千人分の腸内細菌メタゲノムデータ(Li et al Nature Biotech 2014)をパスウェイネットワークにマッピングした。ここから各遺伝子の系統プロファイルの類似度とパスウェイネットワークの隣接関係から、微生物種間の相互作用を担う可能性の高いネットワーク上の接点を推測した。その結果、これらの接点に跨る遺伝子は、実際に相互作用に利用される可能性が示唆されるような機能のものに偏りがあることが判明した。このことから微生物種間相互作用ネットワークの推定に本手法で得られたネットワーク構造を利用することが有効であると考えられた。

上記手法で得られた相互作用点の遺伝子ペアによってつながる生物種の相関解析を実施した。その結果、ある特定の細菌属において強い相互作用の可能性の存在が判明したが、同時に、別の細菌属ではネガティブな相互作用の可能性も示唆された。この結果から微生物コミュニティの構築の過程で、相互

作用のしやすい細菌種の組み合わせが存在する可能性が示唆された。これまで申請者が得てきた微生物コミュニティにおける研究結果では、コミュニティを形成する細菌種の組み合わせはランダムなものと比較して、非常によく最適化されている可能性があることを認めていたが、本研究結果はその結果を支持するものであった。これらの細菌種の組合せについて、理論だけでなく実証実験として実際に培養実験を実施するため、現在、共同研究を進めるに至っている。

上記の理論的な細菌種の相互作用ネットワークを元に、糖尿病のような患者と健常者の腸内細菌叢データを比較した。その結果、疾患にエンリッチする遺伝子マーカー・細菌マーカーが同定できた。その数は、以前までの解析に比べるとかなり減らすことができるということも判明した。

## 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)

Yoshizaki, H., and Okuda S. Elucidation of the evolutionary expansion of phosphorylation signaling networks using comparative phosphomotif analysis. *BMC Genomics*. 15:546 (2014). doi: 10.1186/1471-2164-15-546.

Yoshizaki, H. and Okuda, S. Large-scale analysis of the evolutionary histories of phosphorylation motifs in the human genome. *Gigascience*. 4:21 (2015). doi: 10.1186/s13742-015-0057-6.

Nagahashi, M., Wakai, T., Shimada, Y., Ichikawa, H., Kameyama, H., Kobayashi, T., Sakata, J., Yagi, R., Sato, N., Kitagawa, Y., Uetake, H., Yoshida, K., Oki, E., Kudo, S.E., Izutsu, H., Kodama, K., Nakada, M., Tse, J., Russell, M., Heyer, J., Powers, W., Sun, R., Ring, J. E., Takabe, K., Protopopov, A., Ling, Y., Okuda, S. and Lyle, S. Genomic landscape of colorectal cancer in Japan: clinical implications of comprehensive genomic sequencing for precision medicine. *Genome Med*. 8(1):136 (2016). doi: 10.1186/s13073-016-0387-8.

[学会発表](計10件)

Okuda, S. and Yoshizaki, H. Large-scale analysis of the evolutionary history of phosphorylation motifs. *ASCB/IFCB2014*, Philadelphia (2014)

Okuda, S., and Watanabe, Y. A web tool to infer metagenomic contents from 16S rRNA sequences. *ISME2014*, Seoul (2014)

Okuda, S., and Yoshizaki, H. Characterization of protein

phosphorylation in the context of evolution. *ISMB2014*, Boston (2014)

Okuda, S. and Yoshizaki, H. Evolutionary histories of phospho-motifs in the human genome. *ISMB2015*, Dublin (2015)

吉崎尚良、奥田修二郎、河野美幸、「ヒトゲノム上のリン酸化モチーフ解析」、第38回日本分子生物学会年会、神戸、(2015)

佃直紀、山本希、東光一、入江満、五斗進、奥田修二郎、守屋勇樹、森宙史、黒川顕、山田拓司、「ヒト腸内細菌の代謝反応データベース構築」、第10回日本ゲノム微生物学会年会、東京、(2016)

Ling, Y., Yoshizaki, H. and Okuda, S. Characterization of a large-scale phosphorylation motifs in human proteome. *HUP02016*, Taiwan (2016)

Okuda, S., Ling, Y., and Yoshizaki, H. Proteome-wide human phosphomotif analysis. *ISMB2016*, Florida (2016)

Watanabe, Y., Ling, Y. and Okuda, S. Inference of microbial interactions from human gut meta genome data. *ISMB/ECCB2017*, Plague (2017)

Yoshizaki, H., Ling Y., Kohno, M., Okuda, S. Genome-wide analysis of single nucleotide variants on phosphorylation motifs. *ASBMB2018*, San Diego (2018)

[図書](計1件)

奥田修二郎、「メタゲノム解析におけるデータベースの現状と課題」、*実験医学-メタゲノム解析実験ハンドブック-*、第5章-1:200-205 (2016)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥田修二郎 (OKUDA, Shujiro)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：00512310

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )