



シリーズ 腸内細菌叢 3

ヒト腸内マイクロビオータの関与が疑われる話題の疾患

Contribution of gut microbiota to the etiology of human diseases outside of the gut

わた なべ くに とも
渡 邊 邦 友
Kunitomo WATANABE

<キーワード>

腸内マイクロビオータ、系統組成、機能組成、肥満関連代謝異常・慢性炎症性疾患、自己免疫疾患、アレルギー疾患、精神神経疾患

はじめに

ヒトの腸内マイクロビオータ (Gut Microbiota : GM) は、古細菌・細菌・真核細胞に属する 100 兆に及ぶ生物群から成る巨大な共同体である。GM は腸管上皮細胞のエネルギー源となる酪酸産生やビタミンの供給などヒトの健康に重要な役割を演じていることはよく知られてきたが、近年腸管免疫系の正常な機能の発揮のためにも重要な役割を演じていることの詳細が明らかになってきた。¹⁾ 現在 GM の系統組成の変化と疾患との関連に関する研究が活発に展開している理由の一つには、GM が疾病のプロセスで重要な役割を演じる腸管免疫系との関係が明らかになってきた点が大である。

さて、GM の系統組成の変化と疾患との関連に関する研究は消化管症状が主症状の疾患群 (潰瘍性大腸炎など) についての研究が先行したが、消化管症状が主症状とならない疾患群、例えば、代謝疾患、アレルギー疾患、自己免疫疾患、精神神経疾患についての研究へと活発な展開がみられている。²⁾

ここでは①肥満関連代謝異常・慢性炎症性疾患、②自己免疫疾患、③アレルギー疾患、そして④精神神経疾患に焦点をあてて、GM の系統組成における疾患特有の変化について、その変化が示唆する病因的意義について、主に pyrosequencing 法により得

られた研究結果に基づいて解説する。

I. GM の系統組成と機能

腸内マイクロビオータ (GM) の構成の変化と疾患の病因との関連性をみていくにあたり、いくつかのポイントとなると思われる事項、GM の系統 (起源を一定にする細菌の集団) 組成の全体像の概略、Arumgum Mらにより示されたヒトのエンテロタイプ、GM 由来の細菌因子と代謝産物の動態、GM と腸管免疫系とのかわりの一部について簡単に触れておくことにする。

1. GM の系統組成とエンテロタイプ

GM を構成する細菌は、門 (Phylum)、綱 (Class)、目 (Order)、科 (Family)、属 (Genus)、そして種 (Species) と「系統分類学」に従い、ランク別に整理されている。(図 1)

GM の最優勢な細菌 (全体の 95% 以上) は、Firmicutes 門 (F 門) と Bacteroidetes 門 (B 門) であり、亜優勢論 (残りの 5%) を Actinobacteria 門 (A 門)、Verrucomicrobia 門 (V 門)、Fusobacteria 門 (Fu 門)、Proteobacteria 門 (P 門) などが占めている。^{3,4)}

また、ヒトの腸管の系統組成は 3 つのエンテロタイプに分類することができる。*Bacteroides* (B 門)-*Parabacteroides* (B 門) 優勢のタイプ 1、*Prevotella* (B 門)-*Desulfovibrio* (P 門) 優勢のタイプ 2、*Ruminococcus* (F 門)-*Akkermansia* (V 門) 優勢のタイプ 3 である。タイプ 1 は炭水化物とタンパク質から発酵によって得られるエネルギーを原動力とする細菌主体のタイプ、タイプ 2 は糖タンパクムチンを利用する *Prevotella* と、その反応を調節できる *Desulfovibrio* が主

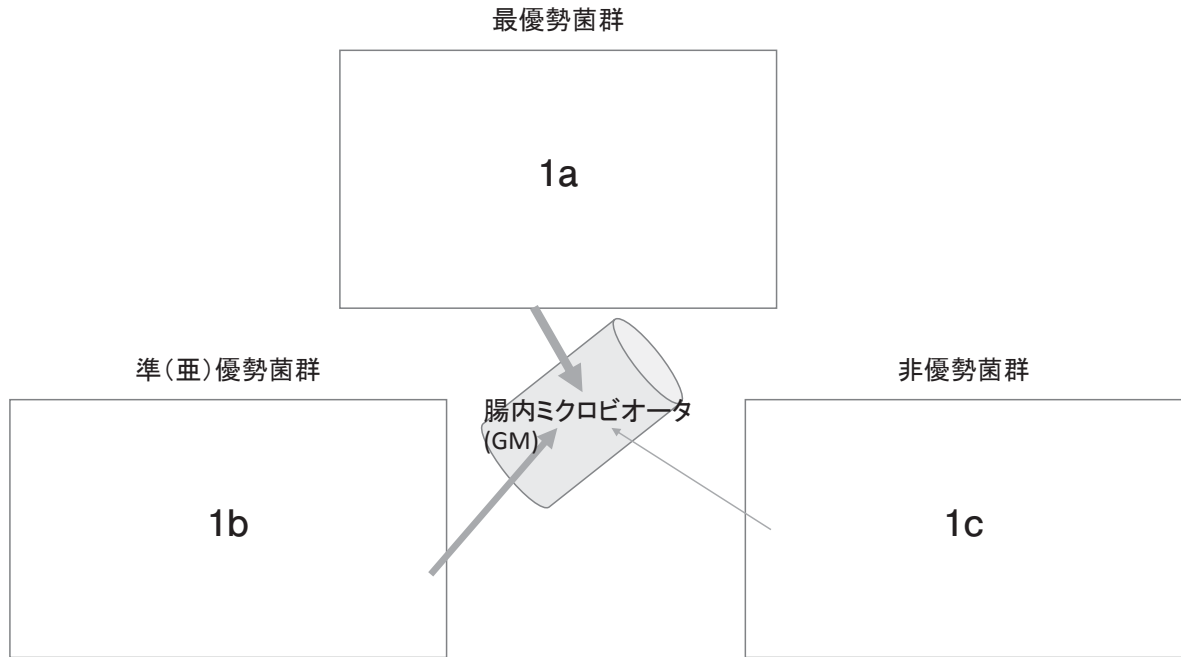
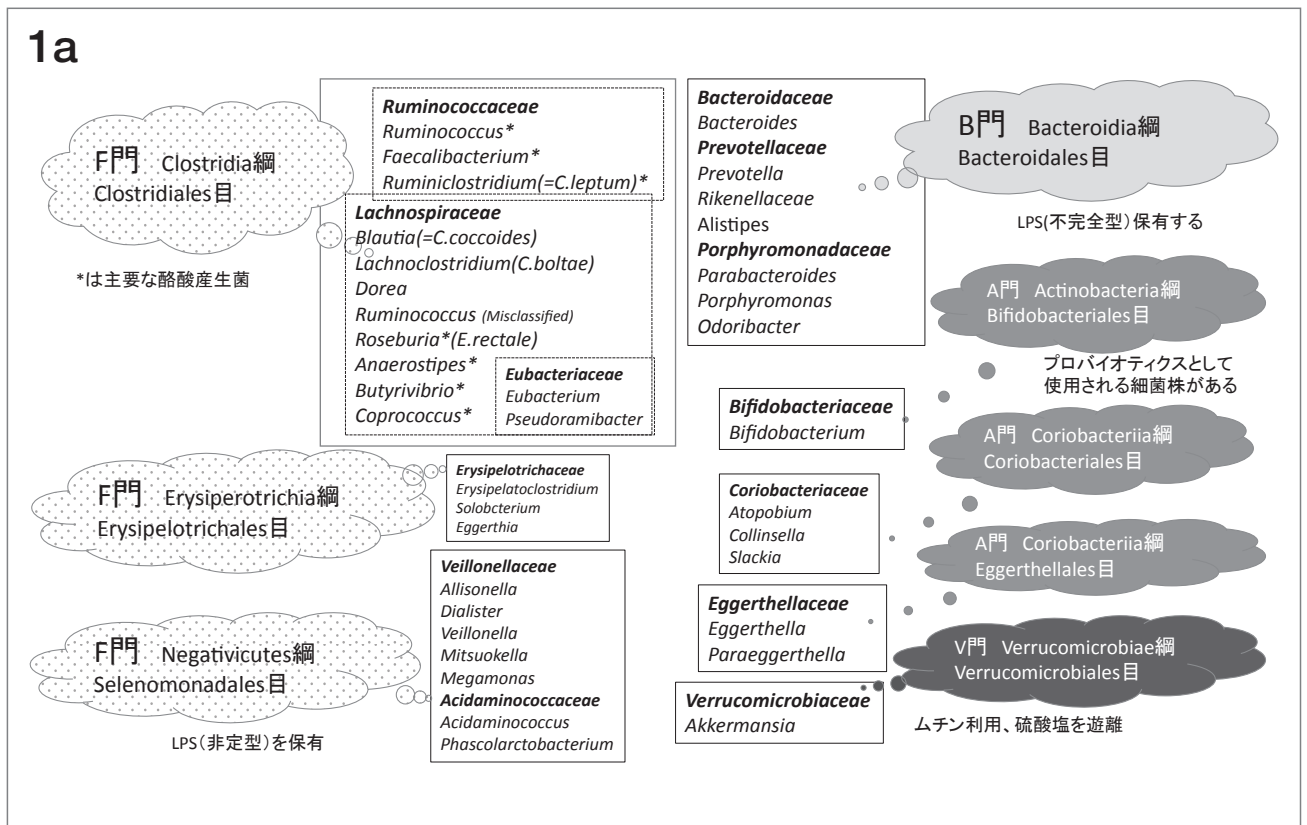


図1 GMを構成する微生物群の概略

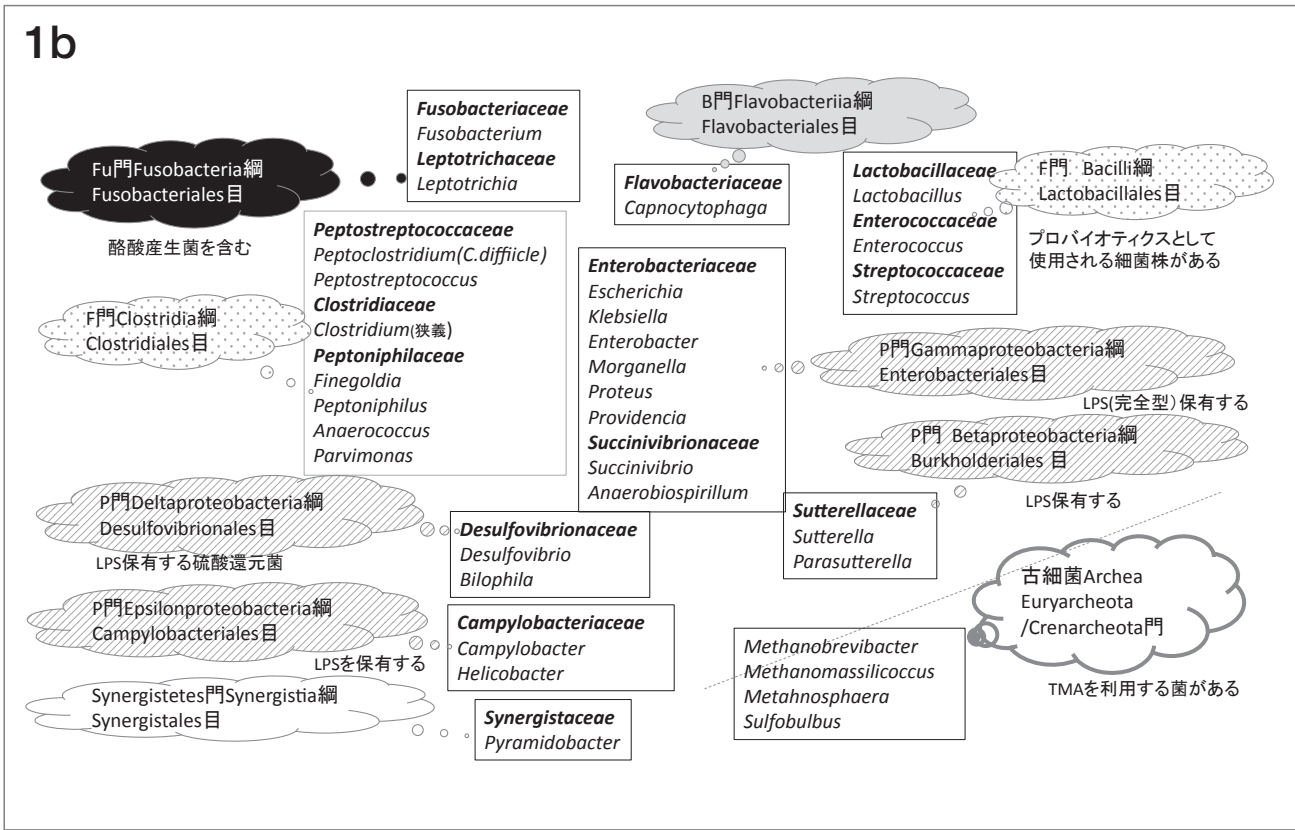
1a: 最優勢菌としては Firmicutes (F) 門 (Clostridia 綱、Erysipelotrichia 綱、Negativicutes 綱)、Bacteroidetes (B) 門の2門が大部分を占める。Actinobacteria (A) 門、Verrucomicrobia (V) 門がそれに次ぐ。

1b: 優勢菌に次ぐ亜優勢菌としては、Fusobacteria (Fu) 門、Proteobacteria (P) 門 (Deltaproteobacteria 綱、Epsilonproteobacteria 綱、Betaproteobacteria 綱、Gammaproteobacteria 綱)、Synergistetes 門、F 門 (Clostridia 綱 (一部)、Bacilli 綱 (Lactobacillales 目) など) があげられる。

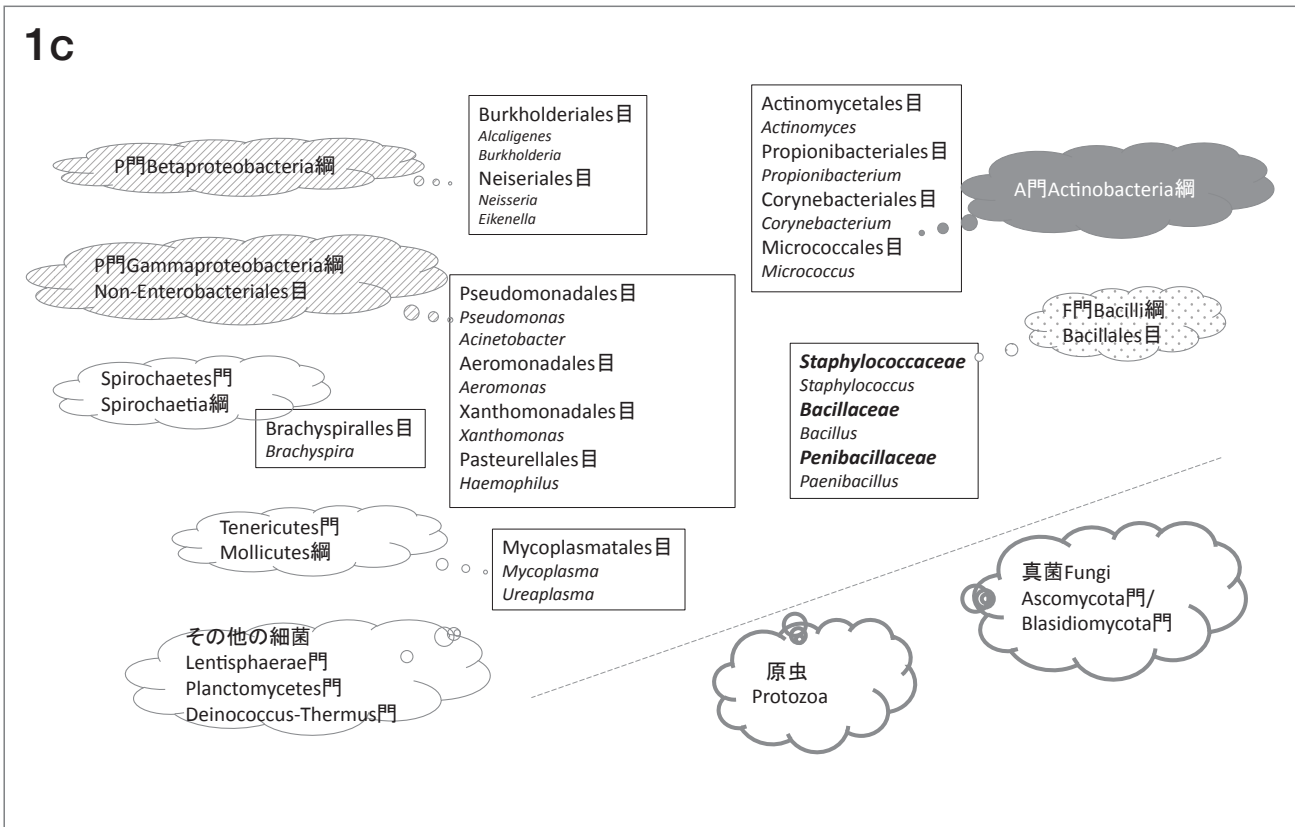
1c: また劣性菌として、P 門 (Betaproteobacteria 綱 (一部)、Gammaproteobacteria 綱 (一部)、A 門 (Actinobacteria 綱 (一部))、F 門 (Bacilli 綱 (一部))、Spirochetes 門、Tenericutes 門などがあげられる。リポ多糖体を保有する門、酪酸産生性の細菌を含む門、ムチン利用能のある門、プロバイオティクスとして使用されている菌株が含まれ門に関する情報を加えた。



1b



1c



体のタイプ、タイプ3はムチン分解菌である *Ruminococcus* と *Akkermansia* が主体のタイプである。GMの系統組成の相違はその機能組成の相違に連結する。例えば、GMが産生されるビタミン類はエンテロタイプにより異なっている。⁵⁾

2. GM中の細菌因子と代謝産物

GMには生理活性物質(例えば、菌体成分や細菌の代謝産物)が多数存在し、GMの系統組成の変化と、そして機能変化と連動する。例えば、ディダーム(Diderm, Double membranes)細菌の外膜に存在するリポ多糖体(LPS)は腸管や全身の炎症と関連する重要な細菌因子の一つである。最優勢のB門のLPSは生理活性の弱い不完全型LPSであるが、P門のLPSは生理活性の強い定型LPS、Fu門Fusobacteriia綱(Fu綱)とF門Negativicutes綱(N綱)のLPSは、生理活性の強い非定型LPSである。LPSは常に腸管から血漿中に転移しているが、健常時における血漿中の濃度はGMの働きにより一定以下に抑制されている。³⁾

また、細菌の代謝産物の一つ酪酸は、腸管上皮細胞のエネルギー源で、その増減は上皮細胞の重要な機能であるムチン産生にも影響する。GMで優勢な

酪酸産生菌はF門のClostridia綱(C綱)Clostridiales目(C目)のRuminococcaceae(Cluster IVに相当)やLachnospiraceae(Cluster XIVaに相当)に分類されている。

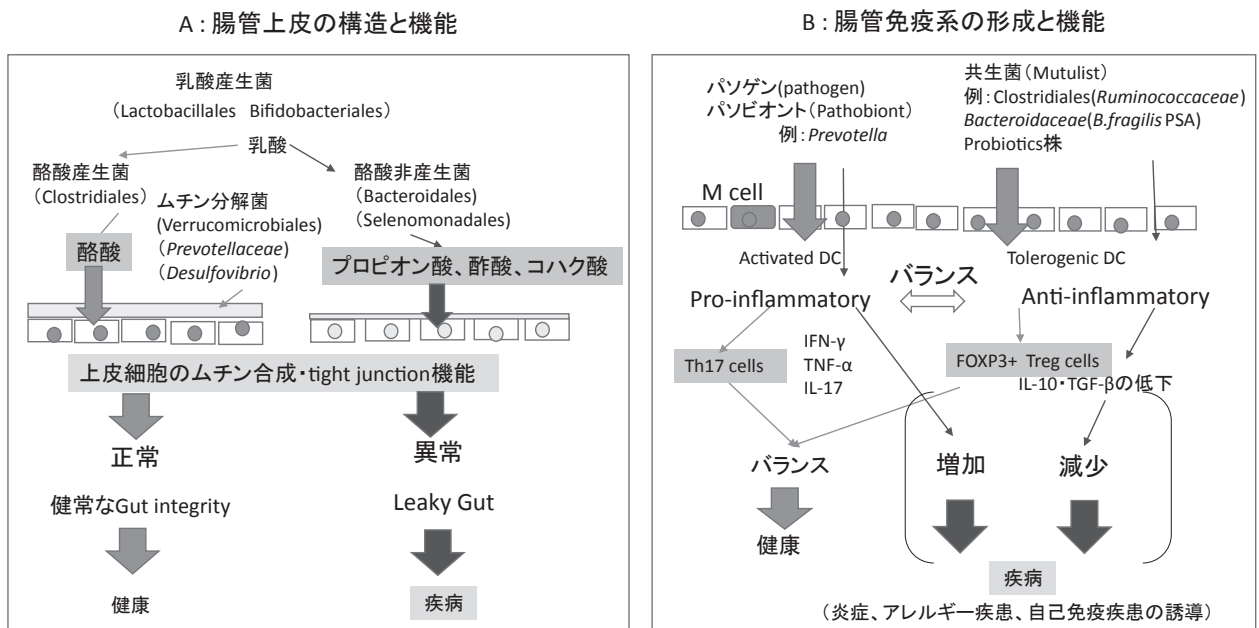
3. GMと腸管免疫系

腸管粘膜の免疫学的恒常性は抗炎症的に働く制御性T細胞(T regulatory cells : Treg細胞)と炎症・自己免疫疾患において組織障害的に働くヘルパーT細胞(proinflammatory Th17細胞)のバランスによって維持されている。GMの構成菌と菌体成分、例えば、*Bacteroides*(夾膜多糖体)、*Ruminococcaceae*(*Faecalibacterium*)、*Lachnospiraceae*、*Akkermansia*、*Prevotella*などは腸管免疫系の発達とその維持に深く関与していることがわかってきた。また、GMの系統組成の変化が腸管粘膜の炎症のトーンの変化と関連することも知られている。⁶⁾(図2)

II. GMの関与が疑われる話題の疾患

1. 肥満関連代謝異常(慢性炎症性疾患)

GMが腸上皮の特定の因子(fasting-induced adi-



Brown CT et al. 2011を改変

図2 腸管の統合性と腸内マイクロビオータ

GMの構成菌は、腸管上皮細胞の構造と機能に、また腸管免疫系の形成とその維持に深く関与している。従って、GMの系統組成の変化はこれらの機能に影響を与える。

pocyte factor) に作用し、腸管からの糖の吸収を促進させ、脂肪細胞を肥大させること、⁷⁾ GM の代謝産物である短鎖脂肪酸は、脂肪組織・腸管・交感神経節・免疫系組織などに発現する短鎖脂肪酸受容体 (G 蛋白共役型受容体) と相互に作用し、エネルギー代謝に直接的な影響を及ぼすこと、⁸⁾ 肥満患者の GM には特徴的な系統組成の変化 (B 門の減少と F 門/B 門比の増加) がみられること、さらに肥満患者の腸管粘膜は慢性の低レベルの炎症の状態にあると考えられることなど、GM と腸管上皮との密接な相互作用の詳細が明らかになってきている。^{9, 10)} ここでは、肥満関連代謝異常 (慢性炎症性疾患) である非アルコール性脂肪肝炎、2 型糖尿病、心臓血管疾患 (動脈硬化) における GM の系統組成の変化とそれらの病因との関連性について紹介する。

1) 非アルコール性脂肪肝炎

肝細胞内に中性脂肪が蓄積する病態 (non-alcoholic fatty liver diseases : NAFLD) が脂肪肝である。その中で飲酒歴がないにもかかわらずアルコール性の脂肪肝炎と同様な病理像を呈するのが非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis : NASH) である。肥満やインスリン代謝異常などにより肝細胞への脂肪沈着が起こり、そこに炎症が惹起、線維化の進行が起こるといふ原因説が有力である。

まず、NASH の患者 (NASH 群成人 : n=16) の GM の系統組成が 16S ribosomal RNA pyro-sequencing 法により、対照群成人 (H 群成人 : n=22) との比較の下で検討されている。NASH 群で B 門が増加、F 門が低下している。属レベルでは、Bacteroidia 綱 (B 綱) Bacteroidales 目 (B 目) の *Porphyromonadaceae* (*Parabacteroides*) が増加、F 門 N 綱 Selenomonadales 目 (S 目) の *Veillonellaceae* (*Allisonella*) の増加、F 門 C 綱 C 目の *Ruminococcaceae* (*Faecalibacterium*) と *Lachnospiraceae* (*Anaerospiribacter*) の減少である。また、NASH 群と H 群との鑑別に有用な鍵となる系統を多変量解析で決定すると、以下の 10 種の属の組み合わせとなる。即ち① *Parabacteroides*、② *Faecalibacterium*、③ *Anaerofilm* (F 門 C 綱 C 目)、④ Unclassified *Succinivibrionaceae* (P 門 Gammaproteobacteria 綱 (Gamma-p 綱)、⑤ Unclassified *Porphyromonadaceae* (B 門 B 綱)、⑥ *Allisonella*、⑦ *Blautia* (F 門 C 綱 C 目 *Lachnospiraceae*)、⑧ *Anaerospiribacter*、⑨ *Lachnobacterium* (F 門 C 綱 C 目

Lachnospiraceae)、⑩ unclassified *Erysipelotrichaceae* (F 門 Erysipelotrichi 綱 (E 綱) の組み合わせで解析すると両群は 2 つのクラスターに別けられる。さらに、通常の治療またはプロバイオティクスの投与を受けた NASH 患者 16 名について、治療開始後 6 か月の時点での患者の肝臓内トリグリセライド量の低下には GM の系統組成の変化には相関がみられている。¹¹⁾ (図 3-1)

次に、NASH の患者 (NASH 群子供) に、肥満の子供 (Obesity 群子供)、および健康な子供 (H 群子供) を加えた 3 群を対象とした 16S ribosomal RNA pyrosequencing 法による GM の解析結果がある。NASH 群子供では、B 門、P 門の増加と F 門、A 門の低下という変化が認められている。図 3-2 この研究で行われているクラスター解析では、NASH 群子供と Obesity 群子供は、エンテロタイプ 2、H 群はエンテロタイプ 1 または 3 に対応していたという。興味ある点は、Obesity 群子供と NASH 群子供では、P 門、*Enterobacteriaceae*、および *Escherichia* で H 群子供と比較して有意な変化が認められていた点で、同時に測定した末梢血中アルコール濃度が NASH 群のみで有意に高値であった点である。*Escherichia* は嫌気性条件下でアルコールを産生する菌であることから、GM 中の *Escherichia* の増加による血漿中のアルコール濃度の上昇と関連して起こった炎症が NASH の病因と関連している可能性が指摘されている。¹²⁾ (図 3-2)

2) 2 型糖尿病

2 型糖尿病 (Type 2 Diabetes : T2D) は肥満と関連するインシュリン抵抗性が主要な原因とされる代謝疾患である。糖尿病患者の腸管も低レベルの慢性炎症の状態にあるとされる。¹³⁾ 即ち、脂肪食摂取は血漿中の LPS を上昇させる。この状態を代謝性エンドトキセミア (Metabolic endotoxemia) という。この代謝性エンドトキセミアは炎症の程度、そして体重増加を制御し、その結果糖尿病に影響するというエビデンスがある。また、抗生物質投与により GM の系統組成を人為的に変化させると、腸管内の LPS 量の減少と代謝性エンドトキセミアの程度が改善し、炎症の抑制が起こり、その結果として疾病をコントロールできることが動物実験により示されている。⁹⁾

肥満・糖尿病の患者の GM の系統組成に関して、

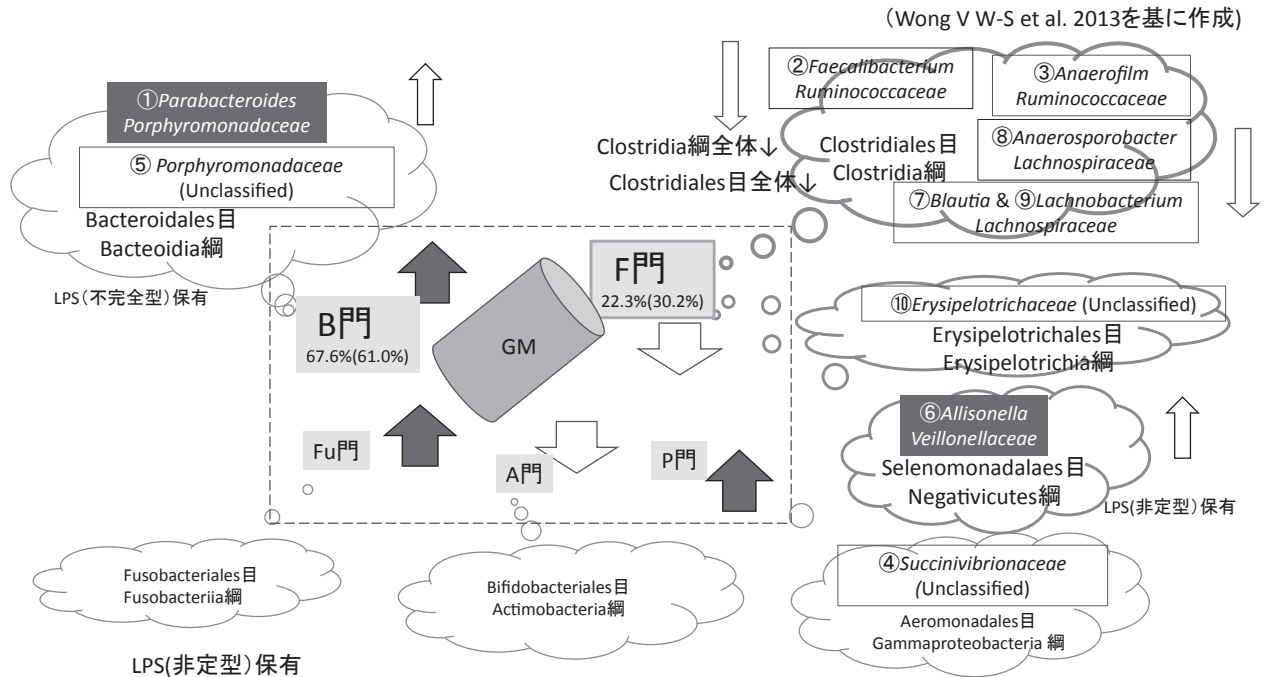


図 3-1 非アルコール性脂肪肝炎 (成人) と腸内マイクロビオータ

非アルコール性脂肪肝炎 (NAFLD) 群では、健康 (H) 群と比較して、B 門・Fu 門・P 門の増加と F 門・A 門の減少という系統組成変化がみられる。B 門 *Porphyromonadaceae* と F 門 *Veillonellaceae* が増加し、F 門 *Ruminococcaceae* と *Lachnospiraceae* が減少している。NAFLD 群と H 群の系統組成の相違を明確に区別するには、①~⑩の細菌が有用であることが多変量解析で明らかになっている、図中の矢印は、↑は増加、↓は減少、⇔は不変を示す。

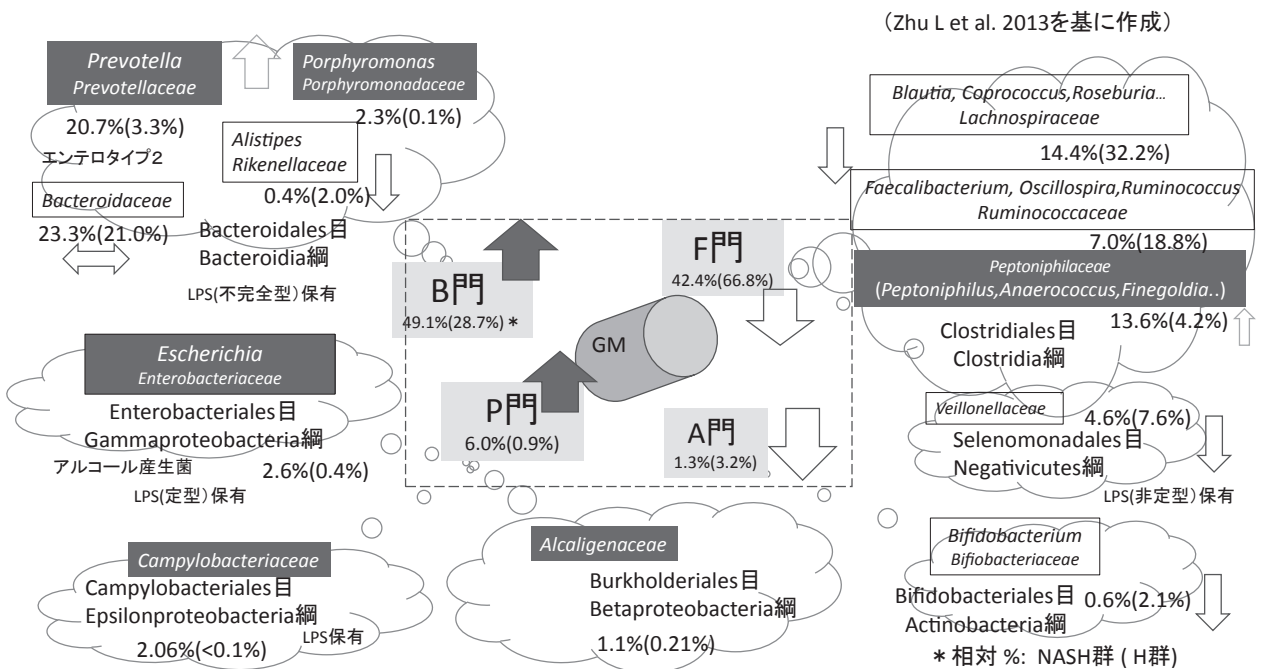


図 3-2 非アルコール性脂肪肝炎 (子供) と腸内マイクロビオータ

非アルコール性脂肪肝炎 (NAFLD) 群では、健康 (H) 群と比較し、B 門・P 門の増加と F 門・A 門の減少という系統組成変化がみられる。B 門では、*Prevotellaceae*、*Porphyromonadaceae* が増加、*Rikenellaceae* が減少、*Bacteroidaceae* は不変である。F 門では、Clostrid 綱の *Lachnospiraceae* と *Ruminococcaceae* と *Negativicutes* 綱の *Veillonellaceae* が減少し、Clostridia 綱の Family XI Incerta Sedis が増加している。P 門では、Enterobacteriales 目の *Alcaligenaceae* と *Campylobacteriaceae* の増加傾向がみられる。各菌群の下に書かれた%は NAFLD 群での相対%で、() は H 群での相対%である。

T2D 患者群 (n=18) と non-diabetic controls 群 (n=18) を対象とした Tag-encoded Pyrosequencing 法と定量 PCR 法を合わせ用いた研究で、T2D 患者群では、Non-diabetic controls 群に比し、F 門の減少と B 門・P 門の増加がみられた。B 門/F 門比が高いと血漿中グルコース濃度が高くなる。この研究では A 門・V 門については差はみられていない。*Bacteroides* (*Bacteroidaceae*) + *Prevotella* (*Prevotellaceae*) の *Blautia* (= *Clostridium coccoides*, *Lachnospiraceae*) + '*Eubacterium rectale*' (*Lachnospiraceae*) に対する比が高くなると血漿中グルコース濃度は高くなる。*Blautia* は非酪酸産生菌で、'*E. rectale*' は酪酸産生菌である。ところで、P 門 Betaproteobacteria 綱 (以下 Beta-p 綱) の存在量は T2D で多く、その増加は血漿中グルコースの濃度の増加と関連していた。Beta-p 綱の細菌は定型 LPS 保有菌である。また、*Roseburia* (*Lachnospiraceae*) の増加は血漿中グルコース濃度を低下、*Prevotella* (*Prevotellaceae*) の増加はそれを増加させる傾向を示していた。*Rosuburia* は酪酸産生菌で、*Prevotella* は非産生・ムチン分解菌である。¹⁴⁾ 酪酸産生菌群の減少と腸管内の内毒素活

性の強い LPS の動態 (腸管での LPS 保有菌の増加と腸管からの吸収の増加による代謝性エンドトキセミア) が T2D とリンクしてくることを示唆している。(図 4)

T2D の GM に関するメタゲノム研究 (Metagenome-wide association study : MGWAS) で、患者には①中等度の系統組成変化の存在、②酪酸産生細菌の減少、③日和見菌の増加、④硫酸還元と酸化ストレスに関する増加を示す機能組成変化が認められることが示されている。¹⁵⁾ 最近、高脂肪食で飼育したマウスを用いた最新の研究が、T2D の治療に広く処方されているミトコンドリア呼吸鎖複合体を標的とするメトフォルミン (metformin) にはムチン代謝に重要な V 門 *Akkermansia* の存在量を増加させること、また腸管上皮のムチン産生細胞を増加させることを明らかにした点は興味深い。¹⁶⁾ 硫酸還元と酸化ストレスの機能変化とムチン代謝は関連があるからである。

3) 動脈硬化

動脈硬化は炎症・免疫反応がその病態に関与する血管の慢性炎症性疾患と考えられている。動脈硬化と細菌感染・ウイルス感染との関連、口腔細菌との

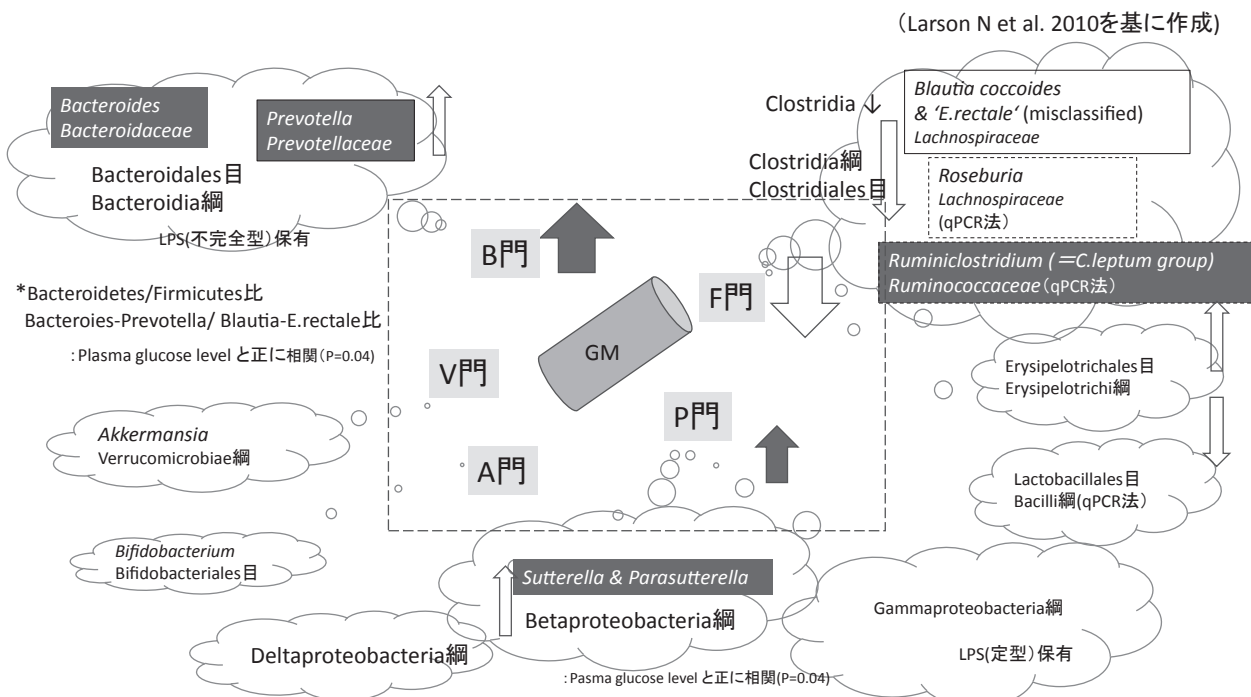


図 4 2型糖尿病と腸内マイクロビオータ

2型糖尿病では、B 門・P 門の増加、F 門 (Clostridia 綱) の減少がみられる。F 門では、Clostridia 綱の *Lachnospiraceae*、*Ruminococcaceae*、*Erysipelotrichi* 綱の *Erysipelotrichaceae* の減少がある。P 門の Betaproteobacteria 綱と Deltaproteobacteria 綱の増加がある。Bacteroidetes/Firmicutes 比と Betaproteobacteria の増加は、患者の血漿 glucose level と正に相関していた。定量 PCR による検討で、*Ruminococcaceae* の *Ruminiclostridium* (= '*Clostridium leptum*' group) の増加と *Lachnospiraceae* の *Rosuburia* の減少がみられる。

関連がこれまで研究されてきたが、¹⁷⁾ 今、動脈硬化と GM との関連が注目されている。

フォスファチジルコリン (phosphatidylcholine) やカルニチン (L-carnitine) といった食餌中の成分の GM による代謝が心臓血管障害と関連することが動物実験で明らかになっている。¹⁸⁾ フォスファチジルコリンやカルニチンは腸管内でトリメチルアミン (TMA) となる。TMA は腸管から吸収され、肝臓のフラビンモノオキシダーゼによりアテローム発生に関与する (proatherogenic) 代謝物トリメチルアミン N-オキシド (Trimethylamine N-oxide : TMAO) に代謝される。^{18, 19)} (図 5)

フォスファチジルコリンやカルニチン摂取量が多い雑食・肉食主義者の群と摂取量が少ない菜食主義者とで、16S ribosomal RNA pyrosequencing 法を用いた GM 構成の解析と血漿中 TMAO、カルニチンおよびコリンの定量を同時に実施した研究がある。GM の系統組成の変化は血漿中 TMAO レベルと有意な関連を示していた。被験者のエンテロタイプを決定したところ、*Prevotella* 優勢なエンテロタイプ 2 の個体の TMAO レベルは、*Bacteroides* 優勢なエンテロタイプ 1 の個体より高い結果であった。¹⁹⁾ カルニチンを TMA に代謝する細菌としては、F 門 (C 綱 : *Sporosarcina*) と P 門 (Beta-p 綱 : *Achromobacter*、Gamma-p 綱 : *Escherichia*、*Citrobacter*、*Kleb-*

siella) の細菌の存在が知られていて、フォスファチジルコリンの添加により増加するヒトの GM に存在する細菌としては、F 門 (C 綱 : *Clostridium*) と P 門 (Gamma-p 綱 : *Escherichia*、Deltaproteobacteria 綱 (Delta-p 綱) : *Desulfovibrio*) などの存在が知られている。^{20, 21)} (図 5) すでに GM 中の TMA の増加に着目した動脈硬化の治療・予防の新戦略が提唱されている点は興味深い。TMA を分解する能力を有する *Methanomassiliicoccus luminyensis* の利用がそれで、*Methanomassiliicoccus* は古細菌であることから「Archebiotics」と命名されている。²²⁾

2. 自己免疫疾患

1) 1 型糖尿病

1 型糖尿病 (Type 1 Diabetes : T1D) は遺伝因子と環境因子の相互作用の結果起こる自己免疫疾患である。GM の系統組成の変化に起因する腸管透過性の亢進により、膵臓の β -細胞を攻撃・損傷させる抗原の吸収が促進することが発症の引き金と考えられている。抗菌薬投与による GM 系統組成を修飾すると、T1D の発症・進展を抑制できることが Non-obese diabetic mice や Bio Breeding diabetes-prone rats を用いた動物実験で明らかにされている。²³⁾

GM の系統組成と機能組成の両方に迫ることが可能な優れた手法であるショットガンメタゲノミック

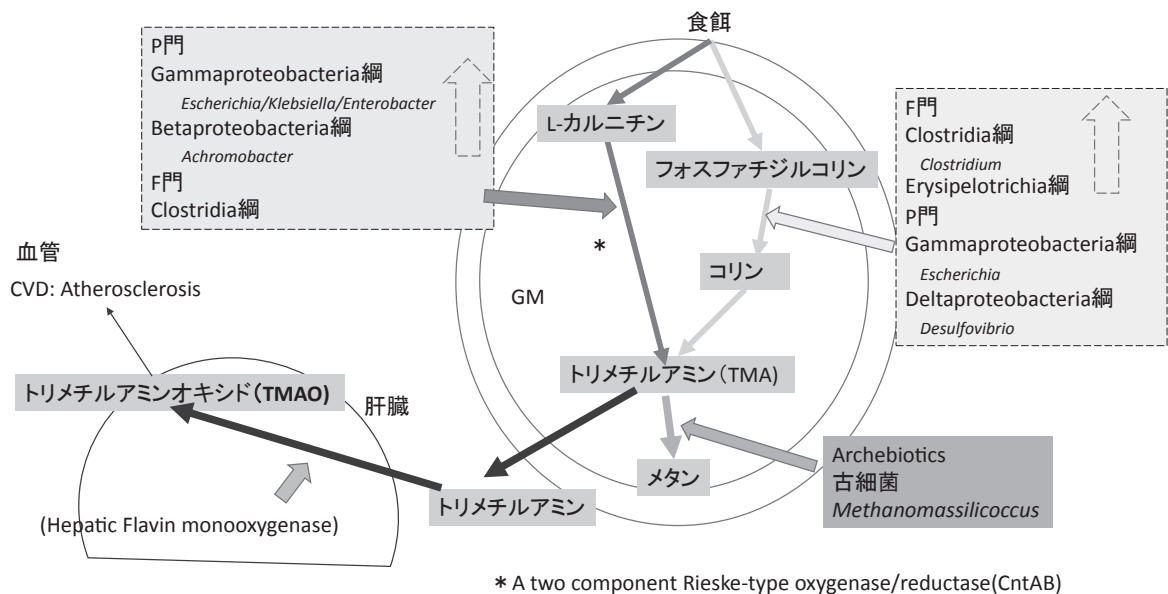


図 5 心臓血管障害と腸管内のフォスファチジルコリンとカルニチン代謝

フォスファチジルコリンとL-カルニチンは腸内微生物の働きで、トリメチルアミン (TMA) に代謝される。TMA は門脈から肝臓に達し、肝臓内の酵素により atherogenic なトリメチルアミンオキシドとなる。腸管の TMA を分解する古細菌がある。

手法を用いた研究がある。それによると、T1Dの子供（T1D群）には明らかな機能組成異常を示す腸管MBの系統組成の変化があることが示された。T1D群では、対照群に比して、B門・P門・A門が増加し、F門・V門・Fu門などが減少している結果を得ている。B門では、*Bacteroides*が増加し、*Prevotella*が減少している。酢酸・プロピオン酸産生菌であるF門Negativicutes綱*Veillonellaceae*は増加し、酪酸産生菌が多く分類されているClostridia綱*Ruminococcaceae*、*Lachnospiraceae*、*Eubacteriaceae*は減少している。また、乳酸産生菌のF門Bacilli綱のLactobacillales目とA門Bifidobacteriales目は増加している。健常児の腸管には「酪酸産生菌」の存在比が高いのに対して、患児では「酪酸以外の脂肪酸を産生する細菌」の存在比が高い結果であり、腸管の完全性を維持するのに必須の成分であるムチン合成を十分誘導可能とするためには、乳酸産生菌と酪酸産生菌のコンソーシアムが必須であると考察されている。²⁴⁾ T1Dで減少がみられたV門*Akkermansia*はムチンを利用する腸管の機能に密接に関連することが明らかになってきた注目すべき系統の

細菌である。²⁵⁾ (図6)

T1Dの子供（T1D群）と健康な子供（H群）を対象としたPCR-DGGE法によるGMの研究がある。この研究は子供のGMに影響する因子である出産様式（自然分娩・帝王切開）と栄養（母乳栄養・人工栄養）を考慮して検討対象が選択されている点が特筆すべき点である。T1D群ではヒトのGMの多様性が減少する傾向にあり、T1D群内の個体のGMの類似性が、H群との類似性より高く、両群のGMには相違があることが示されている。B門・F門・A門の3門における属のレベルで、両群間で有意な差異が確認されている。血漿中ブドウ糖レベルとHbA1cとの関連を検討した多変量解析が行われており、血漿中ブドウ糖レベルは*Bifidobacterium*と*Lactobacillus*の減少と関連し、HbA1cの上昇はF門/B門比の低下と*Clostridium*の増加と関連していると報告されている。²³⁾

2) リウマチ性関節炎

リウマチ性関節炎（Rheumatoid arthritis : RA）は遺伝因子と環境因子のコンビネーションによって惹起される全身性自己免疫疾患と考えられている。研

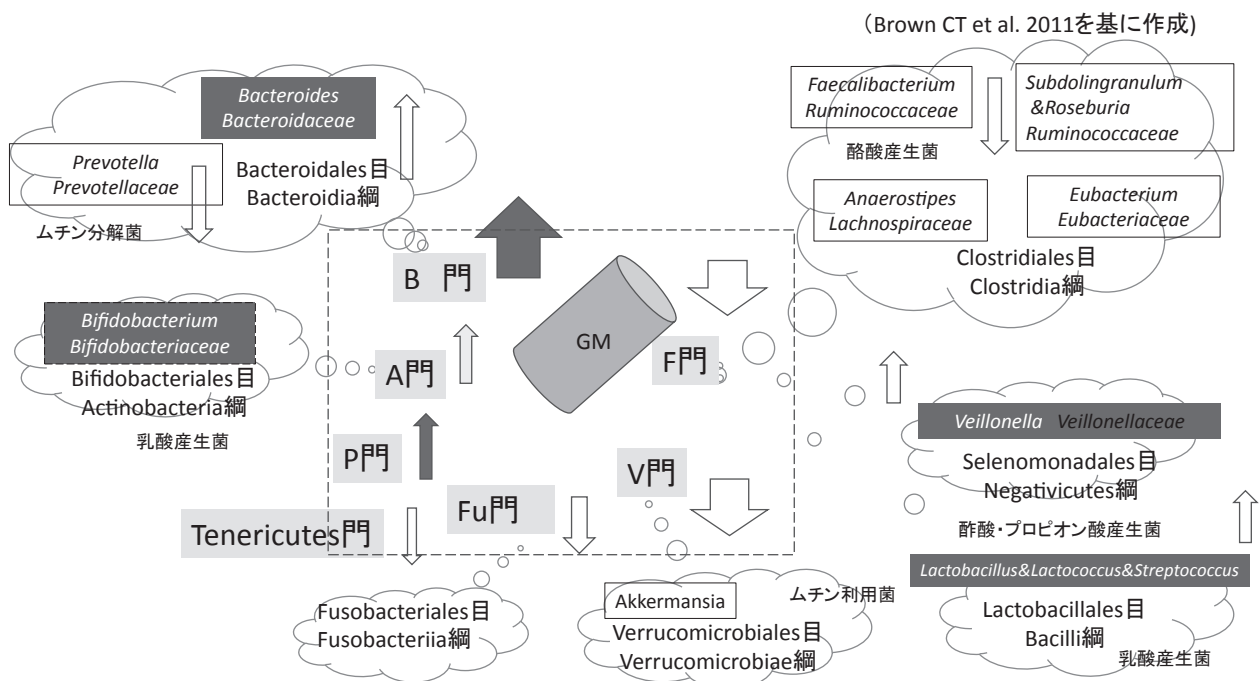


図6 1型糖尿病と腸内マイクロビオータ

1型糖尿病では、健康人と比し、B門・P門・A門が増加し、F門・V門・Fu門が減少している。B門では、*Bacteroides*が増加し、*Prevotella*が減少している。F門では、酢酸・プロピオン酸産生菌Negativicutes綱*Veillonellaceae*が増加し、酪酸産生菌が分類されているClostridia綱*Ruminococcaceae*、*Lachnospiraceae*、*Eubacteriaceae*が減少している。また、酢酸・乳酸産生菌のF門Bacilli綱のLactobacillales目とA門Bifidobacteriales目は増加している。そして、ムチン利用菌V門Verrucomicrobiae綱*Akkermansia*が減少している。

究が進展している口腔マイクロビオータとともに、GM も重要な環境因子の一つである。²⁶⁾

RA と診断され、まだ治療開始前の患者群 (New-Onset Rheumatoid Arthritis group : NORA 群) の GM の系統組成と機能組成の解析が、近年、16S rRNA sequencing と shot gun sequencing の併用により行われている。治療中の慢性リウマチ性関節炎患者群 (Treated rheumatoid arthritis group : CRA 群)、関節症性乾癬患者群 (Psoriasis arthritis 群 : PA 群、および健康人 (H 群) が対照群である。²⁷⁾ それによると、NORA 群では糞便中の B 門 B 綱 B 目 *Prevotellaceae*、F 門 N 綱 S 目 *Veillonellaceae*、そして F 門 E 綱 *Erysipelotrichales* 目 *Erysipelotrichaceae* の存在量が大き、B 門 B 綱 B 目 *Bacteroidaceae*、F 門 C 綱 C 目の *Lachnospiraceae* と *Ruminococcaceae*、そして F 門 N 綱 S 目 *Acidaminococcaceae* の存在量が小であることが示されている。NORA 群と非 NORA 群 (H 群、CRA 群そして PA 群) の違いは、B 門の *Bacteroidaceae* と *Prevotellaceae* の存在量である。NORA 群のみが *Prevotellaceae* 優位であった。その *Prevotellaceae* は *Prevotella copri* と同定されている。しかし、日本人由来のこの菌種の基準株とは

遺伝学的に異なるという。治療中の CRA 群では、H 群と同様に検出率は低い。(図 7)

RA の病態では自己抗体の増加と proinflammatory T 細胞の増加が認められる。腸管の免疫学的恒常性は、Treg 細胞とヘルパー T 細胞 (proinflammatory Th17 細胞) のバランスによって維持されているが、NORA 群で有意に減少している *Lachnospiraceae* と *Ruminococcaceae* には、抗炎症作用を示す菌種や Treg の産生を促進させる菌種を含んでいる。また、NORA 群で有意に増加している *Prevotellaceae* はある遺伝的因子をもつ宿主に対して炎症増強作用があることが明らかになっている。さらに、*Prevotellaceae* が優勢に存在する患者の糞便のメタゲノム解析で、テトラヒドロ葉酸の生合成を含むプリン代謝経路の有意な減少が確認されている。このことは葉酸アナログと DHF reductase 阻害薬のメトトレキサートが抗リウマチ薬として使用されていることと関連して興味深い。²⁷⁾

3. アレルギー疾患

湿疹 (Eczema) は今日多くみられる小児の慢性のアレルギー疾患である。遺伝的因子と環境因子の相

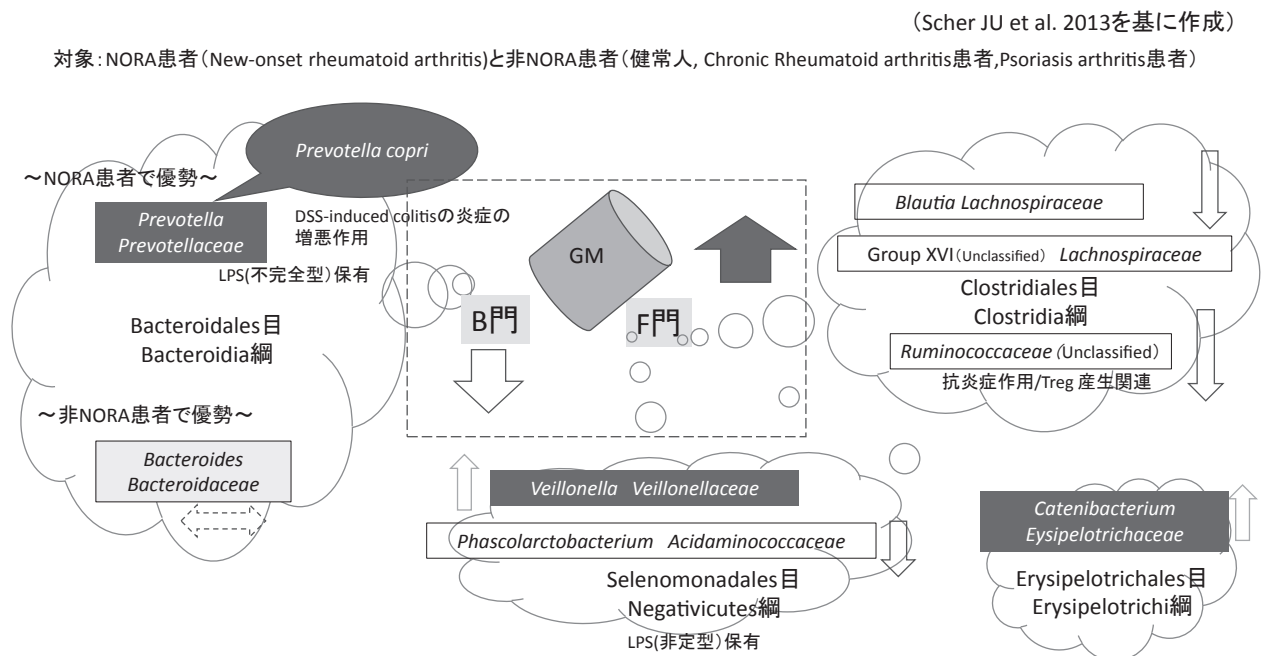


図 7 リウマチ性関節炎 (治療前) と腸内マイクロビオータ

リウマチ性関節炎の初発例 (NORA) 群では、対照群に比して、B 門が減少、F 門が増加している。B 門に関して、NORA 群では *Prevotella* (*P. copri*) 優勢で、非 NORA 群では *Bacteroides* 優勢という特筆すべき差がある。また NORA 群で、F 門 C 綱 *Lachnospiraceae* と *Ruminococcaceae* の減少、F 門 N 綱 *Acidaminococcaceae* の減少、F 門 N 綱 *Veillonellaceae* と F 門 E 綱 *Erysipelotrichaceae* の増加がみられる。

相互作用が重要な役割を演じている。乳児の GM と乳児のアレルギー疾患との関連性については DGGE (Denaturing gel gradient electrophoresis) 法やマイクロアレイ法を用いた研究がすでに行われ、*Bifidobacterium* や *E.coli* が Eczema 関連細菌として示唆されている。

乳児期の GM の系統組成に影響を与える可能性の高い因子に配慮し、帝王切開により出生、人工栄養で育った乳児のみを対象とした、Eczema 患者と対照児の GM の比較が、16S rRNA pyrosequencing 法を用いて行われた。その研究結果によると、両群とも P 門、F 門、A 門、B 門の 4 門を主要な門としていたが、対照群では、A 門 A 綱 Bifidobacteriales 目の *Bifidobacterium* の存在量が有意に大で、対照群 (乳児期早期) では、P 門 Gamma-p 綱 Enterobacteriales 目の *Klebsiella* と *Shigella* (= *Escherichia*) と F 門 Bacilli 綱 Lactobacillales 目の *Enterococcus* の存在量が有意に大であること、患児と健常児をこの糞便マーカーで区別するには 1 歳以下の帝王切開で出生した乳児がよいことが報告されている。この研究は *Bifidobacterium* と *E.coli* を「Eczema 関連細菌」と考える説を支持するものである。²⁸⁾

High Density Phylogenetic Microarray HIT Chip を用いた別の研究成果がある。これによると、Eczema 患児群 (n=15) と対照群 (n=19) の GM には 6 ヶ月の時点で有意な構成の差がなかったが、18 ヶ月の時点で有意な構成の差が認められ、18 ヶ月の時点でみた場合、患児群の GM は対照群より多様性があり、F 門 C 綱 C 目の *Ruminococcaceae* と *Lachnospiraceae* の細菌が多いが、B 門は対照群に比し少ないことが示されている。この論文では、*Ruminococcaceae* と *Lachnospiraceae* の細菌は健常成人では優勢に存在している系統の細菌であり、18 ヶ月の時点で健常児では優勢には存在しない菌群と判断できるとし、18 ヶ月の時点で患児の GM を「成人型の GM 系統組成」ととらえている。この「成人型の GM 系統組成」が、湿疹が遷延する原因と考えることができると結論している。²⁹⁾

4. 精神神経疾患～自閉症スペクトラム障害～

自閉症スペクトラム障害 (Autism Spectrum Disorders : ASD) は神経学的異常に免疫・代謝異常、胃腸障害などの併存症を伴った遺伝因子と環境因子

が関わる全身疾患である。宿主の環境因子に対する感受性は遺伝因子により高められていると考えられている。ASD の環境因子としての腸内マイクロバイオタが注目されている。GM は、血流、免疫・内分泌系、神経系などを介して、中枢神経系と密接に関係することが可能と考えられている。

本格的な GM の解析が始まり 10 年以上が経過した。高い異質性のある症候群のため菌叢解析には困難な点が多いが、F 門 C 綱 C 目の Clostridiaceae (*Clostridium*) と *Lachnospiraceae* (*Lachnoclostridium boltae* 等) 科そして P 門 Delta-p 綱 *Desulfovibrionaceae* (*Desulfovibrio*) の 3 科を中心とした細菌群の増加を特徴とする患者のあるサブグループの存在が見えている。(図 8)

これらの細菌群の細菌因子 (Deltap 綱の細菌の定型 LPS 等) と代謝産物 (プロピオン酸、硫化水素等) が注目されている。神経発達上重要な時期である乳児期のプロピオン酸の血中レベル・脳内レベルが上昇による細胞内小器官であるミトコンドリアの二次的機能不全とそれに端を発する神経細胞やマイクログリア細胞などの機能異常に、リポ多糖体などを免疫源とする免疫系による修飾が加わって、中枢神経機能異常を惹起するようになるとのトランスレーショナル仮説が登場している。^{30, 31)}

おわりに

GM の研究は、①健康な GM があるとしたら、その系統組成・機能組成の解明、② GM の変化と疾病との因果関係の解明、③ Pyrosequencing 法では検出不可能な非優勢細菌や細菌以外の構成菌の GM での役割の解明、④患者に益となる GM の修飾方法の解明などを目指し、さらに洗練された研究手法を採用しながら、今大きな潮流となっている。¹⁾

ここでは GM の関与が疑われる話題の疾患について、系統分類に関心があった筆者の視点でみた系統組成の変化の概略を紹介し、確認された GM の系統組成の変化が GM の機能に及ぼす影響、さらにそれらと疾病の病因との関連性についての現時点でのそれぞれの研究者による解釈、仮説を、それらに対する筆者の意見を加え、紹介した。今後、GM の系統組成の解析法や機能組成の解析法などの GM 研究手法に内在する問題点が改良され、洗練された

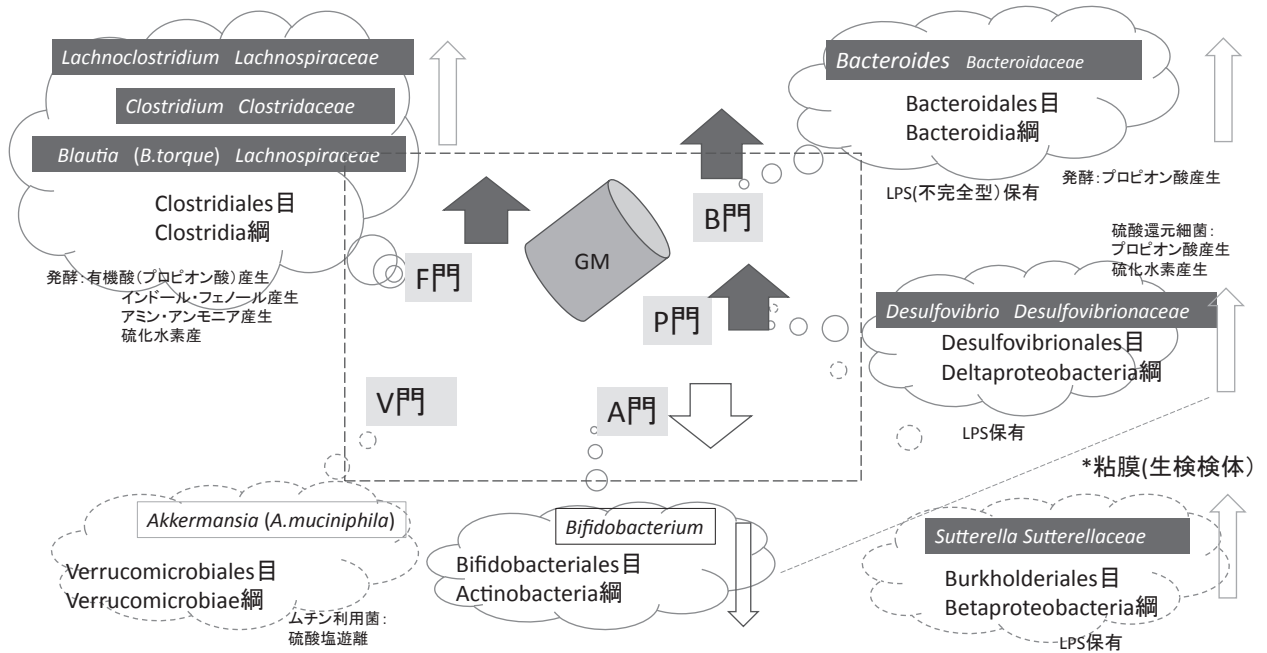


図8 自閉症スペクトル症候群と腸内マイクロビオータ

ASD (後退型) では、F 門 *Clostridiaceae* と *Lachnospiraceae*、B 門 *Bacteroides*、P 門 *Desulfovibrio* の増加、A 門 *Bifidobacterium* の減少が認められている。また、粘膜の生検材料中に、P 門 Betaproteobacteria 綱 *Sutterellaceae* の *Sutterella* が増加しているとの報告もある。

手法での解析が行われることにより、GM の変化とこれら疾病の病因との関係の全体像とその詳細が明らかとなっていくと思われる。

文 献

- 1) Wu GD and Lewis JD. Analysis of the human Gut Microbiome and Association with Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013 ; 11 (7) : 774-777.
- 2) Von Hertzen L, Hanski I, Haahtela T. Natural immunity. *EMBO reports.* 2011 ; 12 (11) : 1089-1093.
- 3) 渡邊邦友, 臨床微生物のための新しい細菌分類体系. *日本臨床微生物学雑誌* ; 2014. 24 (2) : 7-21.
- 4) Rajilic-Stojanovic M and de Vos WM. The first 1,000 Cultured Species of the human Gastrointestinal Microbiota. *FEMS Microbiol Rev.* 2014 ; 38 (5) : 996-1047.
- 5) Arumgum M, Raes J, Pelletier E et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011 ; 473 (7346) , 174-180.
- 6) Longman RS et al. Microbiota : Host Interaction in Mucosal Homeostasis and Systemic Autoimmunity. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2013 ; 78 : 193-201.
- 7) Backhed F, Ding H, Wang T et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *PNAS* 2004 ; 101 (44) : 15718-15723.
- 8) 木村郁夫. 腸内細菌を介した食事性栄養認識受容体による宿主エネルギー恒常性維持機構 *YAKUGAKUZASSI* 2014 ; 134 (10) : 1037-1042.
- 9) Cani PD, Biloni R, Knauf C et al. Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes* 2008 ; 57 (6) : 1470-1481.
- 10) Clemente JC, Ursell LK, Parfley LW et al. The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. *Cell* 2012 ; 148 (6) : 1258-1270.
- 11) Wong V W, Tse CH, Lam T T et al. Molecular Characterization of the Fecal Microbiota in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis- A longitudinal Study. *PLoS One* 2013 ; 8 (4) : e62885.
- 12) Zhu L, Baker SS, Gill C, et al. Characterization of Gut Microbiomes in Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) Patients : A Connection between Endogenous Alcohol and NASH. *Hepatology* 2013 ; 57 (2) : 601-609.
- 13) Wellen KE and Hotamisligi Inflammation, Stress, and diabetes *The Journal of Clinical Investigation* 2005 ; 115 (5) : 1111-1119.
- 14) Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FWJ et al. Gut Microbiota in Human Adults with Type 2 Diabetes Differs from Non-Diabetic Adults. *PLOS one* 2010 ; 5 (2) : e9085.
- 15) Qin J, Li Y, Cai Z et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012 ; 490 (7418) : 55-60.
- 16) Shin NR, Lee JC, Lee Y, et al. An increase in the Akkermansia spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut* 2014 ; 63 (5) : 727-35.
- 17) Wright SD, Burton C, Hernandez M et al. Infectious

- Agents Are Not Necessary for Murine Atherogenesis. *J Exp Med* 2000 ; **191** (8) : 1437-1441.
- 18) Wang Z ,Klipfell E, Bennett BJ et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011 ; **472**(7341) : 57-63.
 - 19) Koeth RA, Wang Z, Levison BS et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med* 2013 ; **19**(5) : 576-585.
 - 20) Zhu Y, Jameson E, Crosatti M et al. Carnitine metabolism to trimethylamine by unusual Rieske-type oxygenase from human microbiota. *PNAS* 2014 ; **111** (11) : 4268-4273.
 - 21) Vulevic J, McCartney AL, Gee JM et al. Microbial Species Involved in Production of 1, 2-sn-Diacylglycerol and Effects of Phosphatidylcholine on Human Microbiota. *Appl Environ Microbiol* 2004 ; **70** (9) : 5659-5666.
 - 22) Brugene J-F, Borrel G, Gaci N et al. Archeobiotics Proposed therapeutic use of archaea to prevent trimethylaminuria and cardiovascular disease. *Gut Microbes* 2014 ; **5** (1) : 5-10.
 - 23) Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM et al. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children : a case-control study. *BMC Medicine* 2013, **11** : 46. doi : 10.1186/1741-7015-11-46.
 - 24) Brown CT, Davis-Richardson AG, Giongo A et al. Gut Microbiome Metagenomic Analysis Suggests a Functional Model for the Development of Autoimmunity for Type 1 Diabetes. *PLOS One* 2011 ; **6**(10) : e25792.
 - 25) Everard A, Belzer C, Geurts L et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *PNAS* 2013 ; **110**(22) : 9066-9071.
 - 26) Scher JU, Ubeda C, Equinda M et al. Periodontal Disease and the Oral Microbiota in New-Onset Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2012 ; **64** (10) : 3083-3094.
 - 27) Scher JU, Sczesnak A, Longman RS, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *Elife* 2013, Nov 5 ; **2** : e01202.
 - 28) Hong P-Y, Lee BW, Aw M et al. Comparative Analysis of Fecal Microbiota in Infants with and without Eczema. *PLoS One* 2010 ; **5** (4) : e9964.
 - 29) Nylund L, Satokari R, Nikkila et al. Microarray analysis reveals marked intestinal microbiota aberrancy in infants having eczema compared to healthy children in at-risk for atopic disease. *BMC Microbiology* 2013 ; **13** : 12. doi : 10.1186/1471-2180-13-12.
 - 30) 渡邊邦友. 遅発性自閉症の誘導細菌候補としての *Desulfovibrio*. *実験医学* 2014 **32**(5 増刊) : 167-172.
 - 31) 渡邊邦友. 自閉症スペクトラム障害と腸内マイクロビオータの変化～腸内マイクロビオータを標的とした新治療戦略への道～. *医学のあゆみ* 2014 **251** (1) : 113-121.