

腸内細菌叢に存在する善玉菌は宿主のグリコサミノグリカンを分解できる

—腸内細菌の生存戦略の解明に期待—

概要

河合 桂吾 京都大学大学院農学研究科修士課程学生（研究当時）、橋本 渉 教授、村田 幸作 摂南大学教授らの研究グループは、動物の細胞外マトリックス成分であるグリコサミノグリカン（多糖類）を対象とした腸内細菌叢による分解様式を解析し、その分解細菌の中にヒトに有益な機能をもたらすプロバイオティクスとして知られるある種の乳酸菌を見出しました。また、腸内細菌叢にグリコサミノグリカン分解酵素遺伝子が高頻度に検出されることを明らかにしました。細菌の腸内での生存戦略の解明に繋がると期待されます。

本研究は、7月13日に英国の学術誌「Scientific Reports」オンライン版に掲載されました。

1. 背景

ある種の常在細菌や病原細菌は、動物に共生または感染する際、動物の細胞外マトリックスを標的とすることが知られています。動物細胞が分泌する細胞外マトリックスの主要成分として、グリコサミノグリカン(GAG)が存在します。ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリンなどは典型的な GAG であり、食品や医療分野で利用されている多糖類です。これまでに、ある種の病原細菌、腸内細菌（バクテロイデスなど）、および土壌細菌が GAG を分解することが報告されていましたが、腸内細菌叢（集団）による GAG の分解様式や健康に有益なプロバイオティクス（善玉菌）による GAG 分解に関する研究は遅れています。

最近、本研究グループは、常在細菌の一種である連鎖球菌が GAG（ヒアルロン酸）を分解・代謝する分子メカニズムの一端を初めて明らかにし、GAG に作用する酵素遺伝子群が染色体の一部に集約されていること（GAG 遺伝子クラスター）がわかりました（図1）。また、この GAG 遺伝子クラスターの類似体がプロバイオティクス（乳酸菌）の染色体にも存在することを見出し、乳酸菌による GAG 分解が示唆されます。

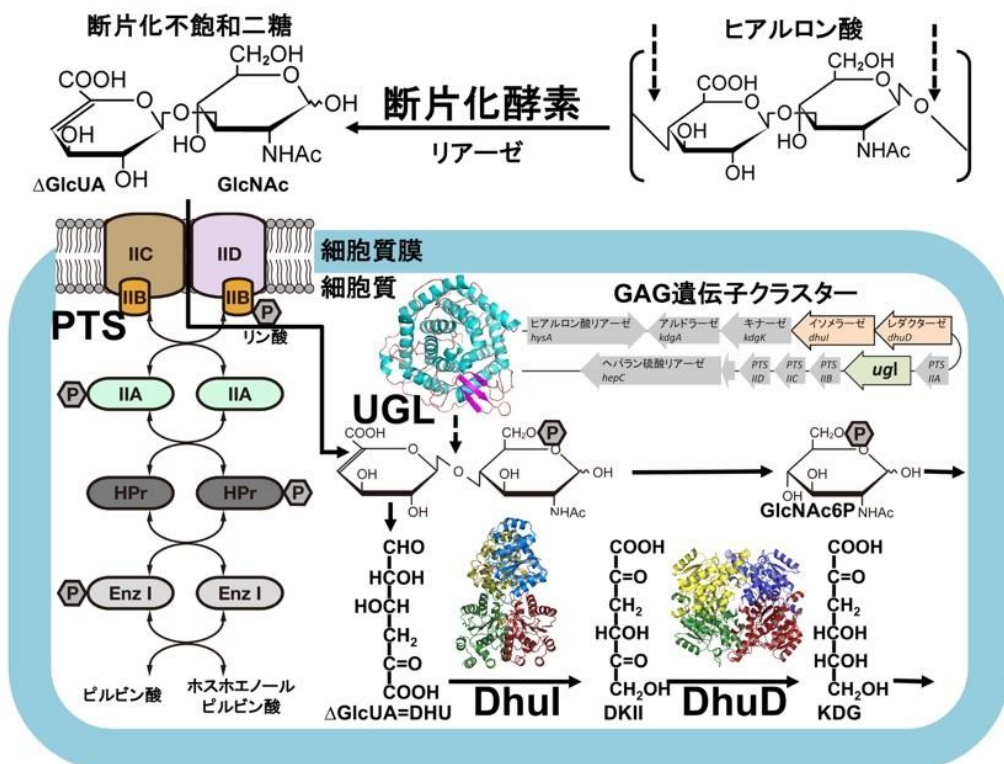


図 1. 連鎖球菌による GAG の作用機構

細菌の細胞外や細胞表層の多糖リアーゼが GAG（ヒアルロン酸）を二重結合のある不飽和ヒアルロン酸二糖へと断片化します。生じた不飽和ヒアルロン酸二糖は、ホストトランスフェラーゼ系（PTS）により細胞内に取り込まれると考えられています。その後、不飽和ヒアルロン酸二糖は、細胞内の不飽和グルクロニルヒドロラーゼ（UGL）により単糖へと分解されます。生じた不飽和ウロン酸は異性化酵素（Dhul）と還元酵素（DhuD）の作用を受けて代謝されます。断片化酵素、輸送系、分解酵素、代謝酵素は、染色体上の 1 箇所に集約されています（GAG 遺伝子クラスター）。

2. 研究手法・成果

今回の研究では、ヒト腸内細菌叢を、GAG（コンドロイチン硫酸またはヘパリン）を含む栄養豊富な培地で培養しました。その結果、腸内細菌叢は速やかに増殖を開始しましたが、しばらくは GAG を分解することはありませんでした。その後、培養数日目から両方の GAG が分解され始め、オリゴ糖を経て、13 日後には完全に栄養源として利用されました（図 2）。したがって、腸内細菌叢には、コンドロイチン硫酸とヘパリンをそれぞれ分解する細菌が存在することがわかりました。また、GAG が遅れて分解されることから、腸内細菌叢は、最初に食品由来の栄養成分を優先的に分解し、その後、宿主（ヒト）から分泌される GAG を分解することが考えられました。

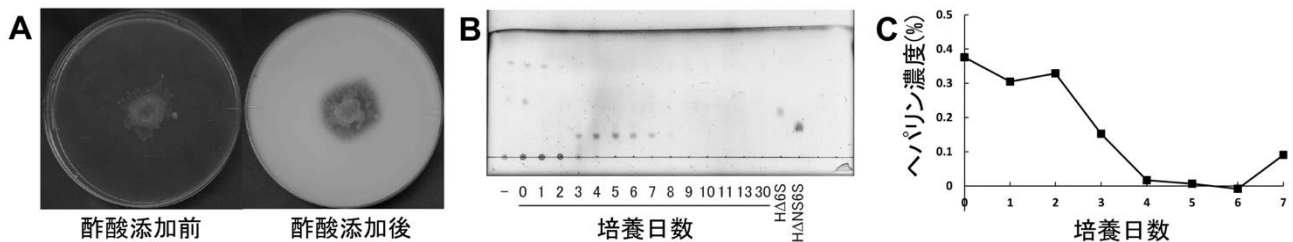


図 2. 腸内細菌叢によるヘパリン分解

- (A) ハロー（透明帯）形成 [ヘパリンと牛血清アルブミン BSA 含有培地で腸内細菌叢を 1 週間培養しました（左）。その後、酢酸添加によりヘパリンと BSA が白色沈殿となり、菌体周辺にヘパリン分解による透明帯が出現しました（右）]。
- (B) ヘパリン分解の薄層クロマトグラフィー [培養 3 日目頃からヘパリン（原点）が分解され始めるとともに、オリゴ糖が生じ、13 日後に完全に資化されました。]
- (C) ヘパリンの濃度測定（培養 6 日目で多糖類としてのヘパリンが完全に分解されました。）

腸内細菌叢から GAG 分解性菌として、乳酸菌が単離されました（図 3A）。そこで、プロバイオティクス（善玉菌）として知られている乳酸菌（約 20 株）を対象に、それらの GAG 分解性を調べたところ、幾つかの乳酸菌でヘパリン分解性が認められました。一方、栄養制限培地では乳酸菌の増殖能と GAG 分解能は、あまり強いものではありませんでした（図 3B）。最近、次世代のプロバイオティクスとして注目されているバクテロイデス（痩せ菌とも呼ばれる）について、GAG 分解性を評価したところ、既知の分解菌に加えて、多種のバクテロイデスが GAG を分解し、栄養制限培地での増殖能も GAG 分解能も極めて強いことがわかりました（図 3C）。さらに、腸内細菌叢を対象に、バクテロイデスの GAG 分解酵素遺伝子を解析したところ、腸内細菌叢から高頻度で当該遺伝子が検出されることが明らかになりました。

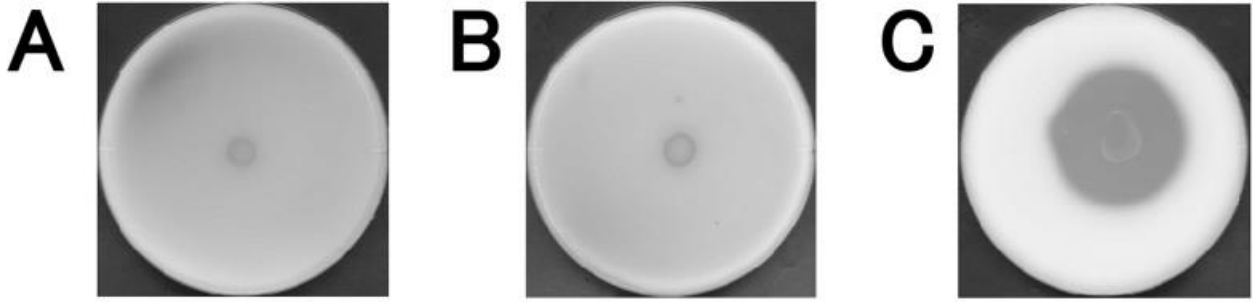


図 3.プロバイオティクスによる GAG 分解（ハロー形成）

(A) 腸内細菌叢から単離されたヘパリン分解乳酸菌

(B) ヘパリン分解乳酸菌 *Lactobacillus rhamnosus*

(C) ヒアルロン酸分解バクテロイデス *Bacteroides paurosaccharoliticus*

3. 学術的意義と波及効果

本研究から、腸内細菌叢の中には、食品由来の栄養成分がなくなると、宿主（ヒト）が分泌する GAG を分解し、生き残りを図る細菌の存在が示唆されます。これまでに、腸内細菌叢を構成する各細菌の割合について、バクテロイデスが多く、乳酸菌が少ないことが示されています。本研究成果に関して、バクテロイデスが乳酸菌より強い GAG 分解性を示すことから、GAG 分解性の強弱が腸内細菌叢における各細菌の比率に一部関係しているのではないかと考えられます。

本研究成果の応用的、社会的波及効果として、腸内細菌の菌叢制御があげられます。例えば、プロバイオティクスの比率を高める食品素材の開発が期待されます。

4. 今後の予定

病原細菌のみならず、プロバイオティクスも含めた常在細菌が、GAG を分解の標的とすることがわかってきました。今後は、GAG を標的とする微生物（細菌）叢の腸管における動態、および GAG 標的微生物叢による宿主への定着化のメカニズムを明らかにし、病原細菌の感染防御とプロバイオティクスの優勢増殖を図ることにより、疾患抑制と健康増進に資する研究を進めます。

5. 研究プロジェクトについて

本研究は下記の機関より支援を受けました。

- 日本学術振興会（基盤研究 B）
- 公益財団法人水谷糖質科学振興財団
- 公益財団法人ダノン健康栄養財団
- 公益財団法人ヤクルト・バイオサイエンス研究財団

<用語解説>

細胞外マトリックス：動物組織中の細胞の外側に合成・分泌される高分子の会合体であり、主要な構成成分としてコラーゲンやグリコサミノグリカンなどがあります。

グリコサミノグリカン (GAG)：ウロン酸とアミノ糖の二糖を基本単位とする多糖類であり、動物組織の骨格形成、恒常性の維持、細胞の分化と増殖などの重要な生理機能を示します。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Probiotics in human gut microbiota can degrade host glycosaminoglycans

著者：Keigo Kawai, Reiko Kamochi, Sayoko Oiki, Kousaku Murata, and Wataru Hashimoto.

掲載誌：Scientific Reports DOI：10.1038/s41598-018-28886-w