

2024年2月14日

報道関係者各位

慶應義塾大学先端生命科学研究所
神奈川県立産業技術総合研究所
筑波大学

腸内細菌は宿主の食生活に遺伝子変異で適応する —無菌マウスと大腸菌を用いた人工共生系で明らかに—

慶應義塾大学先端生命科学研究所に所属する慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科博士課程3年月見友哉と福田真嗣特任教授（順天堂大学大学院医学研究科細菌叢再生学講座特任教授・神奈川県立産業技術総合研究所腸内環境デザイングループグループリーダー・筑波大学医学医療系客員教授・JST ERATO 深津共生進化機構プロジェクト副研究総括を併任）らの研究グループは、無菌マウス¹⁾と大腸菌を用いた人工共生系²⁾において、腸内定着時に生じる大腸菌ゲノムの遺伝子変異は、宿主であるマウスの食餌の種類に依存して変化すること、およびこれらの変異株はマウス腸内の栄養素を効率的に利用する能力を高めることで、遺伝子変異のない大腸菌株よりもマウス腸内で優勢になることを明らかにしました。

マウス腸内に大腸菌が定着する際に蓄積する遺伝子変異は、先行研究によってある程度知られていましたが、宿主の食事がその遺伝子変異に与える影響については明らかになっていませんでした。そこで本研究では、遺伝子の変異を起りやすくした大腸菌を無菌マウス腸内に定着させる実験を通じて、宿主の食餌内容と腸内定着時の大腸菌遺伝子変異との関係を網羅的に解析しました。その結果、大腸菌の腸内定着時には、糖の代謝に関わる3つの遺伝子に変異し、機能を失っていることが分かりました。更にこれらの遺伝子変異を導入した大腸菌株を作成し、遺伝子に変異していない大腸菌株とあわせて無菌マウスに経口投与したところ、遺伝子変異をした大腸菌株がマウス腸内で優勢になることが明らかとなりました。一方、通常より糖の量が少ない、組成の異なる餌を与えたマウスに同様の試験を実施したところ、遺伝子変異を導入した大腸菌株の優勢度が低下したことから、食餌の種類が大腸菌の遺伝子レベルでの適応度³⁾に影響を及ぼすことが明らかとなりました。

本成果は、米国微生物学会が出版するオンライン学術誌「mSystems」に1月11日付（現地時間）で掲載されました。

【本研究成果のポイント】

- 無菌マウスと大腸菌ミューテーター株⁴⁾を用いた人工共生系において、糖代謝に関連する3つの遺伝子、*araC*、*gatC*、*malI*の機能欠失型変異⁵⁾が、マウス腸内に大腸菌が適応するために重要であることが明らかになった。
- これらの遺伝子変異は、マウスの食餌内容が変化すると腸内への適応度に変化をもたらすことが明らかになった。
- 腸内に豊富な栄養素をより効率的に利用できるようになる遺伝子変異が大腸菌の腸内定着において重要であることが示唆された。

1. 【研究の背景】

ヒトの腸内には多種多様な細菌が約 40 兆個も生息していると見積もられており、これらの細菌は腸内細菌と呼ばれます。大腸菌は腸内細菌の一種で、遺伝学的操作が容易なことから腸内細菌研究のモデル生物としても利用されてきました。先行研究において、大腸菌がマウス腸内に定着する際にガラクトール代謝に関わる *gatC* を含む一部の遺伝子が腸内環境に応じて変異する例がいくつか報告されていました。しかし、宿主の食事内容が、遺伝子変異による大腸菌の適応度や、変異する遺伝子の種類に影響するののかについては明らかになっていませんでした。

2. 【研究成果の概要】

本研究では、遺伝子変異を起こしやすい大腸菌ミューテーター株を無菌マウスに経口投与することで人工的に移植した細菌の腸内定着の様子を調べる人工共生系を確立し、マウス腸内に定着する大腸菌にどのような遺伝子変異が生じているのかを網羅的に解析しました。大腸菌をマウスに移植して 3 ヶ月後、3 回の試験に共通してアラビノース⁶⁾代謝に関わる *araC*、ガラクトール⁷⁾代謝に関わる *gatC*、マルトース⁸⁾代謝に関わる *malI* 遺伝子に機能欠失型変異が認められました (図 1)。既に報告されている *gatC* 遺伝子に加え、*araC* と *malI* の遺伝子変異が実際にマウス腸内における大腸菌の適応度を上昇させるのかを検証するため、*gatC* に加えて *araC*・*malI* が欠損した大腸菌株を作成し、*gatC* 欠損株とマウス腸内で競合定着試験を実施しました。その結果、*gatC*・*araC*・*malI* 欠損株が *gatC* 欠損株よりも優勢になったことから、*araC*・*malI* の機能欠失型変異がマウス腸内での大腸菌の適応度を上昇させることが明らかとなりました (図 2)。

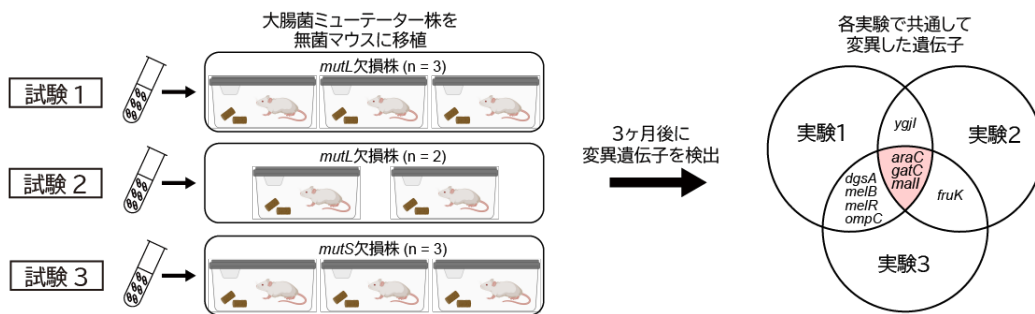


図 1 無菌マウスへの大腸菌ミューテーター株の経口投与による人工共生系の確立と変異遺伝子の検出結果。共通して変異する遺伝子を選抜するため、同じ試験系を 3 回繰り返した。全ての試験において *gatC*・*araC*・*malI* の遺伝子変異が認められた。

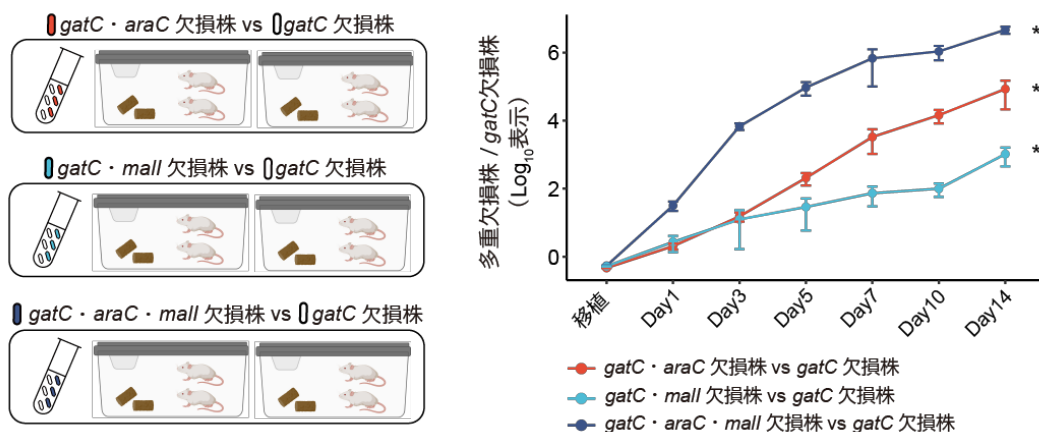


図 2 *gatC*・*araC*・*malI* 欠損株と *gatC* 欠損株との腸内競合定着試験。*gatC*・*araC*・*malI* 欠損株、*gatC*・*araC* 欠損株、*gatC*・*malI* 欠損株の順に優勢になった。

araC と *malI* はどちらも糖代謝に関わる遺伝子であることから、マウス腸内における糖の量や

組成といった環境が、*araC*・*malI* 遺伝子欠損による適応度上昇に影響する可能性が考えられました。そこで、これまでの試験で使用していた腸内細菌が利用できる炭水化物群 (Microbiota-accessible carbohydrate: MAC⁹⁾) が豊富な餌 (高 MAC 食) と比較して、糖が少なく組成も異なる餌 (低 MAC 食) をマウスに与えたところ、低 MAC 食において多重欠損株の優勢度が 10 万分の 1 以下に低下しました (図 3)。この結果は、宿主の食餌内容が大腸菌の遺伝子欠損による腸内適応度に影響することを示唆したことから、次に宿主の食餌内容が遺伝子変異の蓄積にどのような影響を与えるか検証しました。低 MAC 食マウスに大腸菌ミューテーター株を経口投与して変異遺伝子を検出したところ、高 MAC 食・低 MAC 食の両群で共通に変異する遺伝子があったものの、変異遺伝子のパターンは異なりました (図 4)。特に低 MAC 食マウスにおいて、*araC* 遺伝子の変異が検出されない個体が認められ、*malI* 遺伝子変異は全ての低 MAC 食マウスで検出されませんでした。

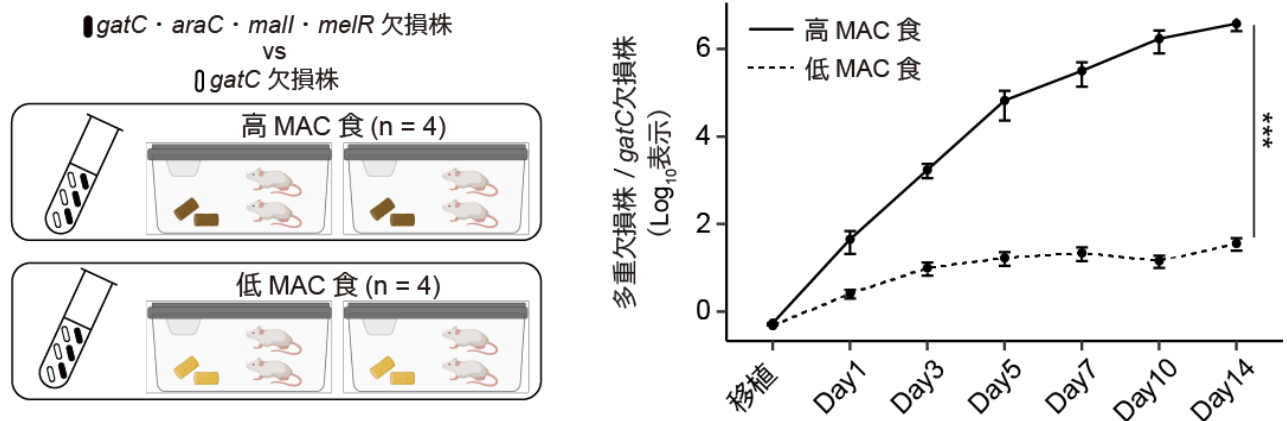


図 3 異なる餌を与えたマウスにおける腸内競合定着試験。高 MAC 食でより多重欠損株が優勢になった。

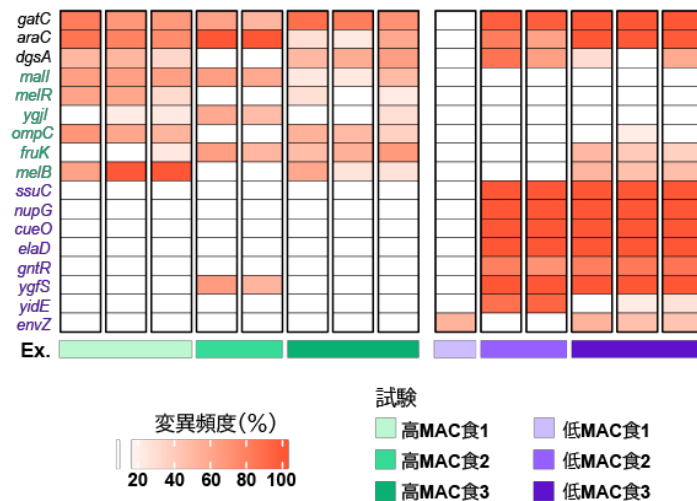


図 4 宿主の食餌による変異遺伝子パターンの変化。高 MAC 食と低 MAC 食とで大腸菌ミューテーター株に蓄積する遺伝子変異のパターンが異なった。

次に高 MAC 食にて *araC*・*malI* が変異するメカニズムを明らかにするため、*gatC*・*araC*・*malI* 欠損株と *gatC* 欠損株の遺伝子発現を RNA-seq¹⁰⁾ により網羅的に解析しました。その結果、*gatC*・*araC*・*malI* 欠損株は高 MAC 食マウス腸内において、ガラクトース¹¹⁾代謝に関わる *galP*、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)¹²⁾代謝に関わる *nagABE*、アスパラギン (Asn)¹³⁾代謝に関わる *ansB*、ムチン¹⁴⁾代謝に関わると推定される *ydeN*などの遺伝子が *gatC* 欠損株よりも発現量が高いことが明らかになりました (図 5 左)。興味深いことに、これらの栄養素の量は低 MAC 食マウスの腸内よ

り高 MAC 食マウスの腸内で多くなっていました (図 5 右)。そこで、これらの栄養素を含む培地にて、*gatC*に加えて *araC*あるいは *malI*が欠損した株と *gatC*欠損株を競合培養しました。2週間培養を継続すると、*gatC*・*araC*欠損株はムチン培地、*gatC*・*malI*欠損株はガラクトースおよび GlcNAc 培地において、*gatC*欠損株よりも優勢になりました (図 6)。以上の結果から、大腸菌がマウス腸内に定着する際には、腸内に豊富な栄養素をより効率的に利用できるようになる遺伝子変異が重要であることが明らかとなりました。

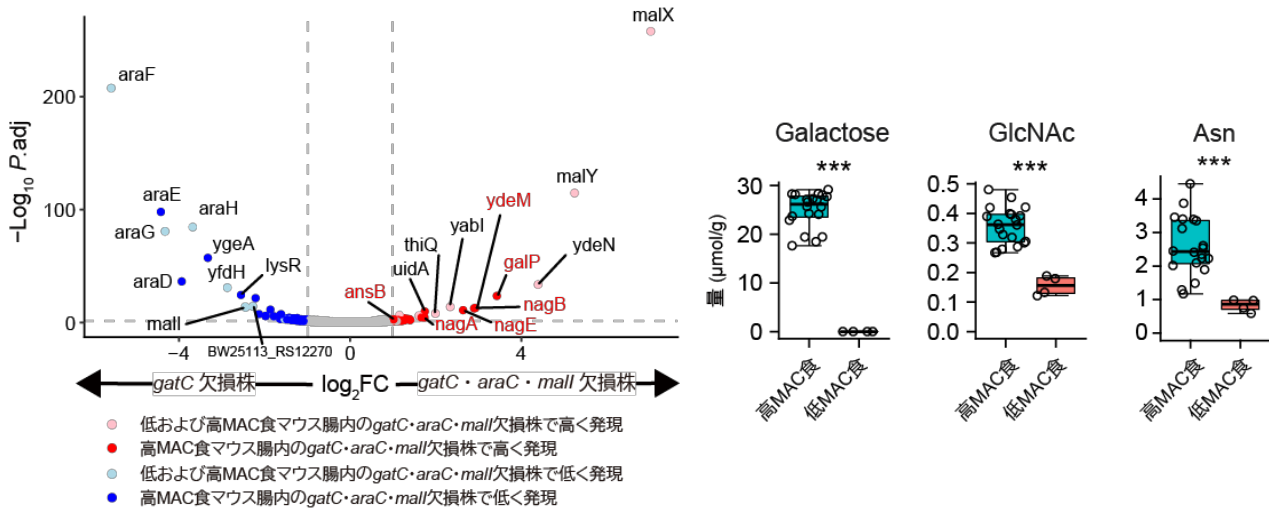


図 5 *gatC*・*araC*・*malI*欠損株の遺伝子発現解析結果および関連代謝物質の腸内の量。高 MAC 食マウスの腸内に豊富な栄養素の利用に関する大腸菌の遺伝子発現量が高かった。

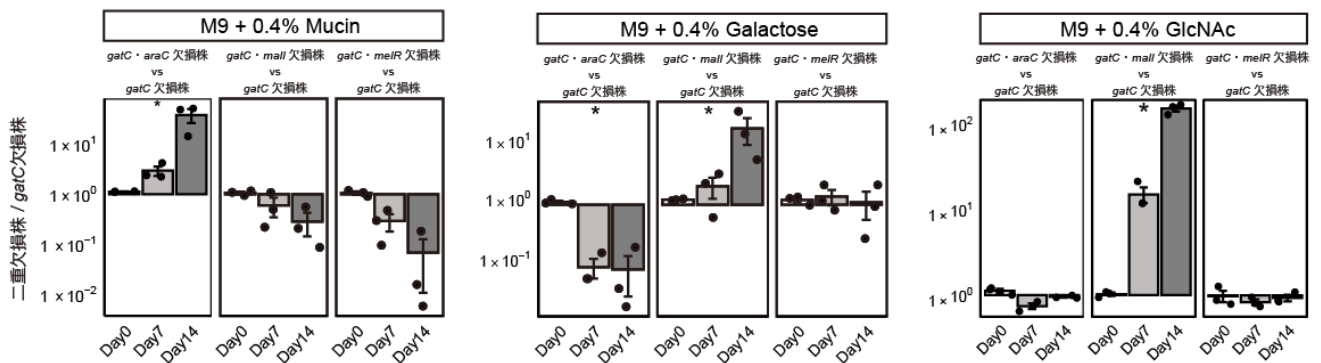


図 6 腸内に豊富な栄養素を添加した培地での競合培養試験。*gatC*・*araC*欠損株はムチン培地、*gatC*・*malI*欠損株はガラクトースおよび GlcNAc 培地において *gatC*欠損株よりも優勢になることが明らかとなった。

3. 【今後の展望】

近年、ヒトの健康に良い影響を与えるとされる生きた微生物 (プロバイオティクス) や、健康な人の腸内細菌叢を患者の腸内に移植することで治療を行う腸内細菌叢移植療法など、腸内環境を“操る”技術の開発に向けた研究が進んでいます。一方、投与された腸内細菌が腸内に定着せずに期待した効果が得られない症例も報告されています。食事内容が腸内細菌の腸内定着に遺伝子レベルで関与することが本研究により明らかになったことから、今後は宿主の食事と投与される腸内細菌遺伝子変異の組み合わせを活用した「腸内デザイン」技術の開発が期待されます。

【特記事項】

本研究は、日本学術振興会 科学研究費助成事業（課題番号：JP21J11019、JP22H03541）、科学技術振興機構（JST） 戦略的創造研究推進事業（ERATO） 深津共生進化機構プロジェクト（課題番号：JPMJER1902）、日本医療研究開発機構 革新的先端研究開発支援事業（AMED-CREST）（課題番号：23gm1010009）、糧食研究会、山形県及び鶴岡市、九州大学生体防御医学研究所の支援により実施されました。

【用語解説】

- 1) 無菌マウス：実験用に飼育される、体内に細菌を保有しないマウス。無菌マウスに腸内細菌を移植することで、宿主であるマウスとその腸内細菌との関係を詳細に解析することができる。
- 2) 人工共生系：人工的に制御された環境で宿主と微生物を共生させた実験系。本研究における無菌マウスへの腸内細菌種の投与はその一例。
- 3) 適応度 (fitness)：進化学においては「ある形質を持つ生物の個体がどれだけ子孫を残すことができるかを示す指標（子孫の数の期待値）」であるが、ここでは生物がある環境にどの程度適応しているかの指標として用いた。
- 4) 大腸菌ミューテーター株：大腸菌 (*Escherichia coli*) は、ヒトを含む哺乳類の腸内に棲息する細菌の一種。その中でも、遺伝子変異率が野生株よりも高い菌株をミューテーター株と呼称する。
- 5) 機能欠失型変異：塩基の挿入や欠損により遺伝子がコードするタンパク質の機能が失われる変異。タンパク質を構成するアミノ酸が変化しない変異や、変化してもタンパク質機能への影響が軽微な変異も存在する。
- 6) アラビノース：トウモロコシや米・小麦などの繊維質に含まれる単糖。
- 7) ガラクチトール：植物などに含まれる糖アルコールの一種。
- 8) マルトース：デンプンが分解されて生成される、2分子のグルコース（ブドウ糖）が結合した二糖。麦芽糖。
- 9) MAC (Microbiota-accessible carbohydrates)：宿主による消化・吸収を受けずに、腸内細菌が代謝できる炭水化物群。食物繊維やオリゴ糖が含まれ、宿主の健康維持や疾患予防に寄与する。
- 10) RNA-seq：次世代シーケンサーを用いて遺伝子の発現量を網羅的に測定する解析手法。
- 11) ガラクトース：植物の細胞壁などに含まれる単糖。
- 12) N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)：動物の軟骨やムチンに含まれる単糖。
- 13) アスパラギン (Asn)：非必須アミノ酸の一種。
- 14) ムチン：消化管の粘膜などで産生される高分子糖タンパク質であり、粘液の主成分。

【掲載論文】

- <タイトル> Genetic mutation in *Escherichia coli* genome during adaptation to the murine intestine is optimized for the host diet.
- <著者> Tomoya Tsukimi, Nozomu Obana, Suguru Shigemori, Kazuharu Arakawa, Eiji Miyauchi, Jiayue Yang, Isaiah Song, Yujin Ashino, Masataka Wakayama, Tomoyoshi Soga, Masaru Tomita, Hiroshi Ohno, Hirotada Mori, and Shinji Fukuda.
- <掲載誌> mSystems
- <掲載日> 2024年1月11日（米国現地時間）
- <DOI> DOI: <https://doi.org/10.1128/msystems.01123-23>

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

福田 真嗣 (ふくだ しんじ)

慶應義塾大学先端生命科学研究所 特任教授

Tel: 0235-29-0528 E-mail: sfukuda[at]sfc.keio.ac.jp

(報道に関すること)

慶應義塾大学先端生命科学研究所 渉外担当 塩澤、五十嵐

Tel: 0235-29-0802 Fax: 0235-29-0809 E-mail: office[at]ttck.keio.ac.jp

神奈川県立産業技術総合研究所

研究開発部 地域イノベーション推進課 担当: 雨森、高橋

Tel: 044-819-2031 E-mail: rep-kenkyu[at]kistec.jp

筑波大学 広報局

Tel: 029-853-2040 Fax: 029-853-2014 E-mail: kohositu[at]un.tsukuba.ac.jp

※本リリースは、筑波研究学園都市記者会、神奈川県政記者クラブ、山形県政記者クラブ、鶴岡市記者会等に送信させていただいております。

※上記の[at]は@に置き換えてください。