

<添付資料>

1. 背景

SFBの近代的な研究は1970年代に始まり、今日では昆虫や動物の腸に強く接着した特徴的な形態をした細菌として知られています(図1)。このSFBの形態的特徴にくらべて、その生理機能や存在意義は長く不明のままでした。1990年代になって我が国の梅崎良則博士ら(ヤクルト本社中央研究所)によって、マウスやラットのSFBが腸のIgA抗体^{*1}の分泌や腸上皮細胞リンパ球の増加などの生理機能を有することが明らかになりました。そして、2009年には自己免疫や感染防御において重要な役割を果たすヘルパーT細胞の一つであるTh17細胞の誘導現象がSFBの存在に依存することが、梅崎博士(上述)と本田賢也博士(東京大学)らが参加した日米の共同研究グループによって突き止められました。そのため、SFBは宿主免疫細胞の分化誘導能を明確に示す腸内細菌としてその働きが近年世界的に注目されていました。しかし、SFBは「顕微鏡で見えるけれども試験管での培養ができない細菌」であるため、肝心のこの細菌の実体は不明のままになっていました。そこで研究グループは、SFBを無菌動物(マウスとラット)の腸内で純粋培養するという方法を用いて、その全ゲノム解読に成功しました。

2. 研究手法と成果

1990年代に梅崎博士らは、SFBだけが腸内にいるマウスとラットの作製に成功していました。研究グループは、このSFB-マウスとSFB-ラットから、高純度のSFBを大量に精製することに成功しました。そして、次世代シーケンサー^{*2}を用いてSFBの全ゲノム配列を高精度に決定し、バイオインフォマティクスにより全遺伝子を同定しました。その結果、マウスおよびラットSFBは約150万塩基対のゲノムを持ち、約1,400個の遺伝子がそれぞれのゲノムにコードされていることがわかりました(図2)。

約150万塩基対というSFBのゲノムサイズは、これまでに報告されている腸内細菌の中でもっとも小さく、たとえば、大腸菌ゲノムの3分の1程度になります。そのため、遺伝子の数も少なく、生存に必要な遺伝子の多くが欠落していました。このようにゲノムが小さく、生存に必須な遺伝子を多数欠落している現象は、昆虫の共生細菌^{*3}に似ています。欠落した遺伝子の例として、糖類を代謝してアミノ酸を作る遺伝子群が挙げられます。一方で、SFBは自身で作れないアミノ酸を周囲の環境から取込むための遺伝子を多数持っていました。また、宿主のたんぱく質を分解する酵素も保持していました。このことから、SFBは宿主に大きく依存して生存する細菌であることがわかりました。この性質は感染症を引き起こす病原菌の生存戦略に似ています。しかし、SFBは、病原菌が通常持っている感染症に直結する病原遺伝子をまったく持っていないでした。

SFBの免疫誘導機能に関わる遺伝子を探索した結果、SFBが常在菌では稀な自然免疫に関与するべん毛遺伝子を持っていることがわかりました。さらに、べん毛を構成するフラジェリンたんぱく質が、自然免疫の宿主センサーであるToll様受容体5 (TLR5) ^{※4}に認識されるアミノ酸モチーフを有することがわかりました。このようなTLR5モチーフを持つべん毛はいくつかの病原菌に見られますが常在菌では非常に稀な例です。TLR5による自然免疫の発動は、侵入してくる外来の病原菌を駆逐する宿主側の防衛最前線のしくみであり、最終的に炎症応答を引き起こします。よって、SFBが示すTh17細胞の分化誘導、IgA抗体の分泌促進や腸上皮細胞リンパ球の増加などの一連の免疫誘導活性は、このTLR5モチーフをもつべん毛に関与している可能性が強く示唆されました(図3)。しかし、SFBをもつマウスもラット、さらには他の動物には炎症がみられず(つまり、健康である)、炎症に至らないSFBの作用メカニズムの解明は今後の研究になります。このほか、SFBには90個以上の表層たんぱく質が存在することがわかりました。これらの表層たんぱく質がべん毛とともにSFBの免疫誘導機能や腸管上皮細胞への強固な付着に関与することも示唆されました。

系統進化的にSFBは腸内や土壌などに生息しているクロストリジウムというグラム陽性細菌群に近い関係にあります。クロストリジウムには破傷風菌やボツリヌス菌などの強力な病原菌が含まれています。今回の解析からも、SFBがクロストリジウムにもっとも近い菌種であることを確認しました。クロストリジウムの特徴は芽胞を形成できる点にあります。今回の解析から、SFBも芽胞形成に必要な遺伝子を多数持っていることがわかり、電子顕微鏡観察によって、糸状ではなく球状の単一細胞としてその芽胞を確認できました。このことから、SFBは生息できない環境中では芽胞として生きながらえて、子孫を宿主に伝搬するしくみが示唆されました。

ヒトSFBについては、その存在を示す報告が1990年代に1つだけあるだけで、ヒトSFBの存在は現在も不明のままとなっています。今回の研究の中で、ヒトSFBの存在を示唆するデータ(16SリボソームRNA遺伝子^{※5})をヒトの皮膚細菌叢の中にみつけました。しかしながら、得られたデータが本当にヒトSFBの存在を示す証拠であるという結論には至っていません。それは、SFBは腸内細菌叢に通常含まれるので、ヒトの皮膚に付着した他の動物のSFBに由来するという可能性が残るからです。

SFBは宿主特異的に生息します。マウスのSFBはラットの腸では生息できず、その逆も真です。今回のマウスとラットSFBゲノムの比較から、全遺伝子の90%以上が両SFB間で共有されることと、それぞれのSFBに特異的な遺伝子を数十個発見しました。これらの特異的な遺伝子の中にSFBの宿主特異性に関与する遺伝子が含まれている可能性が示唆されました。

3. 今後の展開

SFB の全ゲノムが解明されたことにより、そのゲノム情報を足がかりにこの菌の試験管での培養に一步近づくこととなります。また、SFB が有する諸機能を遺伝子レベルで調べることも可能になり、Th17 細胞の誘導をはじめとした腸内細菌と免疫の研究が大きく進展することが期待されます。

また、近年蓄積されつつあるメタゲノム解析との対応により、ヒト SFB の存在を検出することも可能になります。もしヒト SFB そのもの、あるいは同じような働きをする SFB 様細菌の存在が明確になれば、ヒトにおいて Th17 細胞が関与するとされている感染防御機能の増強や自己免疫に有効に対処できるようになることが期待されます。たとえば、炎症性腸疾患や自己免疫疾患を患っている方に乳酸菌などのプロバイオティクスを投与することによって SFB (様細菌) を抑制して自己免疫疾患を治療したり、逆に、感染リスクが高い場合は SFB (様細菌) を増加させることで感染を抑制したりすることが可能になるかもしれません。したがって、SFB をコントロールすることで Th17 細胞数を人為的に増加させて感染症の治療に役立つと考えられますし、逆にその数を人為的に減少させることで、自己免疫疾患の治療になると考えます。

以上のことは、これまでのヒト遺伝子やたんぱく質をターゲットとした疾患治療のほかに、腸内細菌をターゲットとした副作用を考慮しないですむ創薬や予防法の開発につながります。これは、SFB だけに限らず、今後発見されるであろう疾患に関与するさまざまな細菌種に対しても応用可能になると考えられます。

<添付資料の用語解説>

※1 IgA (免疫グロブリン A)

IgA は免疫グロブリンの一種であり、消化管や呼吸器における免疫機構の最前線として機能しています。消化管や呼吸器の表面の粘膜はさまざまな外来抗原や微生物にさらされており、これらから粘膜面を防御する免疫防御系の一部を構成しています。IgA は SFB を含めた常在性の腸内細菌の過剰増殖を抑制する働きを持っています。

※2 次世代シーケンサー

ヒトゲノム計画の完了後の 2005 年頃から、それまでのシーケンサー (DNA 塩基配列決定装置) よりも数万倍またはそれ以上の解読能力をもった次世代シーケンサーの開発が、とくに米国企業により進められています。その目標は、たとえば、30 億塩基対のヒトゲノムを 1000 ドル (10 万円) で数日以内に決定できるシーケンサーの開発です。これにより、ヒト個人やさまざまな生物種のゲノム解読を高速かつ安価に決定できることとなります。

※3 昆虫の共生細菌

多くの昆虫の体内に生息する共生細菌のゲノムは、一般に 100 万塩基対よりも小さくなっています。そのゲノムの特徴は、自立増殖に必要な遺伝子の多くが欠落していますが、宿主に欠乏するアミノ酸などのエネルギー源を供給する遺伝子は保持されています。

※4 Toll(トル)様受容体 5 (TLR5)

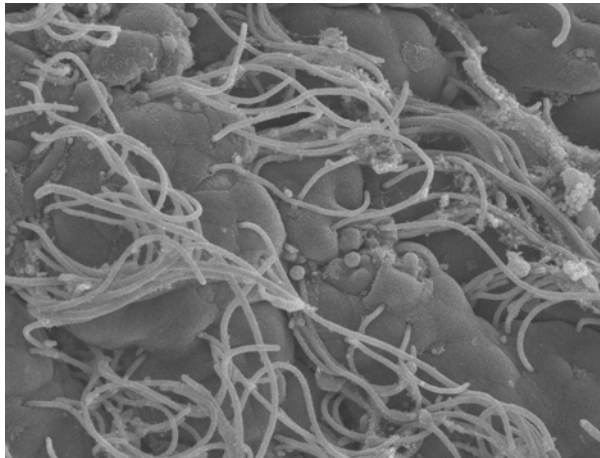
Toll(トル)様受容体(TLRと略す)は、昆虫や脊椎動物の細胞表面にある受容体タンパク質で、種々の病原体を感知して自然免疫を作動させる機能があります。多くの細菌が共有するペプチド、細菌表層のリポ多糖類、ペプチドグリカン、DNAのCpG配列など一群の細菌分子のパターンを認識するため、パターン認識受容体とも呼ばれています。

※5 16S リボソーム RNA 遺伝子(16S 遺伝子)

16S リボソーム RNA は、細胞におけるたんぱく質の合成工場であるリボソームを構成する必須の RNA 分子であり、地球上のいかなる細菌(原核生物)もこの遺伝子を持っています。16S 遺伝子は約 1500 塩基対と小さく、PCR で容易に増幅・解析できるので、その塩基配列(の類似度)を指標にした細菌集団の解析や菌種の特定が行われています。

<図>

(A)



(B)

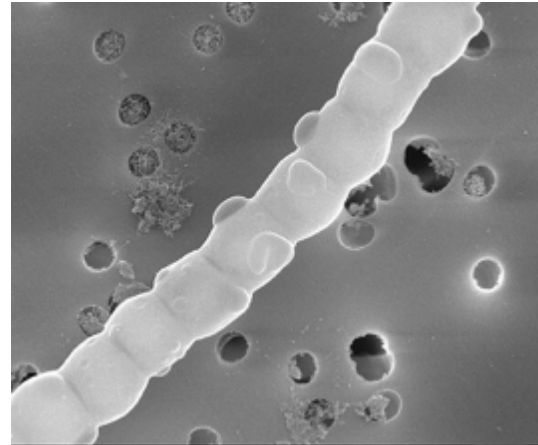


図 1. ラット SFB の走査電子顕微鏡写真

(A) 腸管上皮細胞に刺さったように付着する SFB。(B) 1つの SFB の拡大写真：複数の細菌細胞がつながって糸状となっている。一つの細菌細胞の長さは約 1.7 μm で、これが 70 個以上つながって全長が 100 μm 以上にもなった SFB も存在する (A: ヤクルト中央研究所梅崎好則博士撮影, B: 麻布大学森田英利博士撮影)。

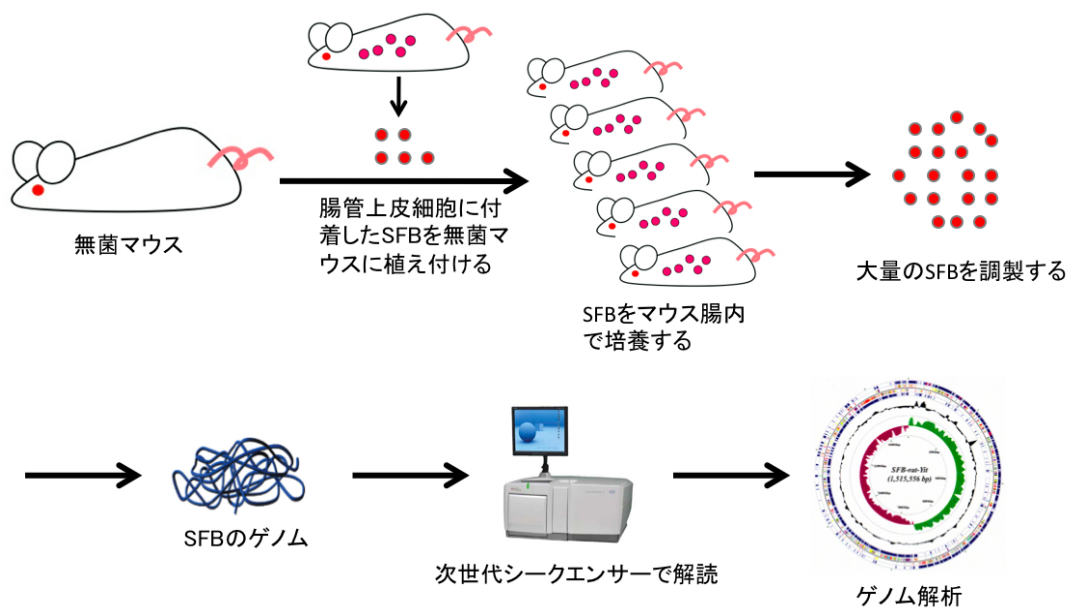


図 2. SFB のゲノム解析プロセス

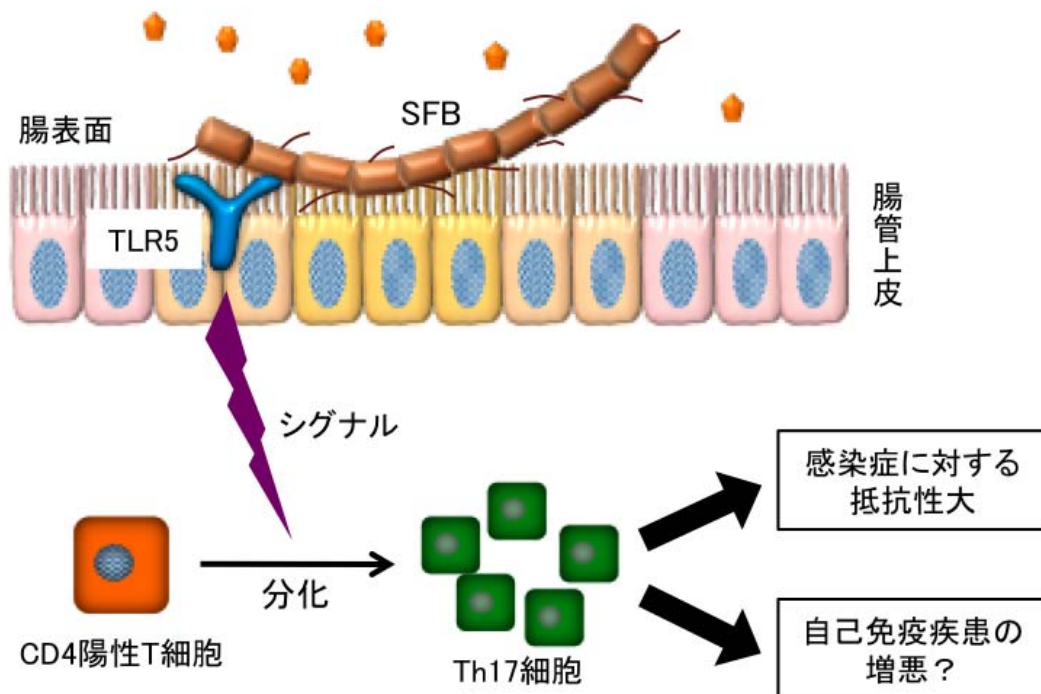


図 3. SFB の上皮細胞への付着を介した Th17 細胞の分化誘導

TLR5: Toll(トル)様受容体 5 (詳細は用語解説※4 を参照)