

腸内細菌一宿主の クロストークと食事要因

日本栄養・食糧学会

監修

森田 達也・園山 慶・辻 英明

責任編集

建帛社

KENPAKUSHA

Dietary factors affecting the crosstalk of gut microbiota and host

Supervised by
JAPAN SOCIETY OF
NUTRITION AND FOOD SCIENCE

Edited by
Tatsuya Morita
Kei Sonoyama
Hideaki Tsuji

©Tatsuya Morita et al. 2019, Printed in Japan

Published by
KENPAKUSHA Co., Ltd.

2-15 Sengoku 4-chome, Bunkyo, Tokyo 112-0012, Japan

序 文

ヒト腸管には数百種の常在菌が約40兆個棲息しており、これらの腸内細菌は宿主と共生しながら、腸管のみならず生体の恒常性維持に寄与している。この共生の仕組み（腸内細菌—宿主のクロストーク）の破綻は炎症性腸疾患、アレルギー性疾患や肥満、生活習慣病などの慢性炎症を介した代謝性疾患の発症を惹起すると考えられているが、食物繊維のみならずさまざまな食事要因が腸内細菌—宿主のクロストークを修飾することも明らかになってきた。21世紀に入り、あらゆる疾患発症の要因のひとつとして、この共生の乱れがクローズアップされ、消化管は今最もホットな研究分野となり、多くの研究者が細菌学的、免疫学的、分子生物学的等のさまざまな手法を取り入れ、この領域の研究が盛んに進められている。このような背景のもと、第72回日本栄養・食糧学会大会（2018年5月、岡山県立大学）では、腸内細菌と宿主との共生の仕組みに焦点を当てた2つのシンポジウム「腸内細菌—宿主のクロストークとそれを修飾する食餌要因」と「腸内細菌の代謝産物を介した宿主とのインタラクション」が企画された。本シンポジウムでは、「発酵代謝産物」、「腸内細菌」、これらによって修飾される「消化管免疫」、「消化管内分泌系」、「慢性炎症性疾患」の各分野から最新の知見に基づく講演が行われ、熱心に議論された。本シンポジウム後、本分野の重要性が再認識され、消化管と健康・栄養に関する最新の知見が得られる書籍が強く要望されるに至った。

本書は、本シンポジウムの関係者をはじめとして、他の特別講演者や関連する分野で最先端の研究を進めておられる先生方に執筆をお願いし、腸内細菌—宿主のクロストークについて「境界組織」、「腸内細菌の代謝産物」および「宿主の細胞間情報伝達システム」を介したクロストークを中心とした内容から構成した。本書は、腸内細菌と宿主との共生の仕組みに関連する最先端の研究内

ii 序 文

容をできるだけわかりやすく記述するように努め、栄養学・食品学、医学、歯科学、農学、薬学等の関連領域の専門家だけでなく、学部学生、大学院生、管理栄養士・栄養士、医師、歯科医師、さらには食品・製薬企業の研究者に対して、教育・研究などに広く役立つものと自負している。

本書の趣旨にご賛同いただき、ご多忙のなか、短期間に最新の知見をご執筆いただきました著者各位に感謝致しますとともに、出版物として本書を刊行するに際して多大なご尽力をいただきました（株）建帛社に深謝申し上げます。

2019年4月

責任編集者 森田達也
園山慶
辻英明

目 次

序章 ブラックボックスへの探針と光明 [松田 幹]

1. 食べるという生命活動と消化管 1
2. 細菌生息の場としての消化管 1
3. 腸内細菌と宿主との食物の共有と共生 2
4. 腸内細菌と宿主との複雑な関係 4
5. ヒトの腸内細菌叢 8
6. ヒト腸内細菌叢と食事因子 9
7. ヒトの腸内細菌叢と宿主の健康 13

第1編 境界組織におけるクロストーク

第1章 宿主—腸内細菌の相利共生関係を支えるムチン [森田達也]

1. はじめに 19
2. ムチン糖鎖とムシナーゼ（ムチン分解）活性 20
3. ムチンの消化管内動態と *in vivo* での資化性 23
 - (1) ムチンの消化管内動態 23
 - (2) *in vivo* におけるムチンの資化性とSCFA産生量 24
 - (3) シアル酸, フコース, N-アセチルグルコサミンの大腸発酵パターン
..... 26
4. *Akkermansia muciniphila* を特異的に誘導するエイ由来ムチン 30
 - (1) エイムチンの糖鎖構成とムシナーゼ活性 30
 - (2) *in vivo* におけるエイムチンの資化性と *Akkermansia* 誘導能 30
5. おわりに 33

第2章 腸粘膜組織における生理的炎症—オリゴ糖摂取時の

腸管IgA分泌応答に関連して [源田知美・森田達也]

1. はじめに 36
2. FOS摂取時の大腸発酵パターンとIgA分泌応答との関連性 37

(1) FOS摂取期間と大腸発酵パターン	38
(2) FOS摂取期間とIgA分泌応答	39
3. FOS摂取によるIgA分泌促進機序の解析	41
(1) FOS摂取初期のIgA分泌促進作用	41
(2) IgA分泌促進と粘膜炎症との関連性	45
(3) 腸管透過性の上昇および粘膜炎症を惹起させる要因	48
4. おわりに	54

第3章 食物繊維による腸管タイトジャンクションバリアへの作用

[鈴木卓弥]

1. 腸管バリアの構造と健康とのかかわり	58
2. 食物繊維の摂取と大腸炎マウスのTJバリア	60
3. SCFAとTJバリア	62
4. 食物繊維の摂取と慢性腎臓病マウスのTJバリア	64
5. 慢性腎臓病における腸管TJバリア損傷	66
6. 慢性腎臓病と腸内フローラ	68
7. おわりに	70

第2編 腸内細菌の代謝産物を介したクロストーク

第4章 大腸内短鎖脂肪酸の吸収と代謝—¹³C呼気分析法による解析

[宮田富弘]

1. ¹³ C呼気分析法の概要	75
(1) はじめに	75
(2) [¹³ C] SCFAsを用いた ¹³ C呼気分析法の一般的な指標	76
(3) ¹³ C回収率と代謝率の概算	78
2. [1- ¹³ C] SCFAを大腸内投与後の [1- ¹³ C] の体内動態の解析	81
(1) 投与後に排泄された ¹³ CO ₂ 濃度の変化	81
(2) 大腸内投与した [1- ¹³ C] SCFAの代謝率	82
(3) 吸収後の [1- ¹³ C] SCFAの代謝動態	83
(4) 大腸内に投与した [1- ¹³ C] SCFAの吸収率	85
(5) 大腸内に投与した [1- ¹³ C] PAと [2- ¹³ C] PAの代謝率	85

(6) 大腸内に投与した [1- ¹³ C] PAと [2- ¹³ C] PAの代謝動態	87
3. 大腸内環境を変化させた場合の大腸内に投与した [1- ¹³ C] SCFAの代謝	89
(1) 摂食	89
(2) フルクトオリゴ糖 (FOS) の摂取	90
(3) 大腸内除菌	92
4. おわりに	93

第5章 盲腸静脈血, 門脈血, 末梢血中濃度から予測する

大腸内短鎖脂肪酸生成量

[塚原隆充]

1. はじめに	97
2. 腸内細菌が産生するSCFAは, さまざまな要因で変動する	99
3. SCFAの腸管粘膜からの吸収と腸管粘膜の応答	103
4. 粘膜上皮から吸収されたSCFAの行方	107
5. ルミナコイド給与による大腸でのSCFA吸収	111
6. 成長・発達に伴うSCFA吸収の変化	113
7. 末梢血中に酪酸が認められた場合の危険性	114
8. おわりに	115

第6章 炎症性腸疾患における腸内代謝物の異常とそのメカニズム

[山田恭央・長谷耕二]

1. はじめに	120
2. 腸内細菌叢と大腸免疫系の関係	121
(1) dysbiosisと腸管炎症は互いに促進し合う	121
(2) 炎症に伴う酸素環境の変化はdysbiosisを引き起こす	122
3. SCFAによる腸内環境制御作用	124
(1) 酪酸によるTregの誘導	124
(2) SCFAによる免疫グロブリンA産生細胞の誘導	125
(3) SCFAによる上皮バリア機能の強化	126
4. 腸内環境制御における粘液層の役割	127
(1) 粘液層による腸内生態系の維持	127
(2) 発酵基質としてのムチン	128

5. 炎症性腸疾患における腸内代謝異常の解析	131
(1) IBDにおける腸内酪酸産生の低下	131
(2) IBDにおけるdysbiosisの解析	132
(3) IBDにおける酪酸関連細菌の減少	134
(4) 潰瘍性大腸炎において糞便中のSCFA濃度とムチン糖鎖濃度は負の相関を示す	136
(5) dysbiosisによる酪酸産生低下メカニズムのモデル	139
6. おわりに	140

第7章 大豆イソフラボン代謝産物エクオールと腸内細菌

〔石見佳子・東泉裕子〕

1. 大豆イソフラボン	145
2. 大豆イソフラボンの代謝とエクオール産生	145
(1) 大豆イソフラボンの代謝	145
(2) エクオールの発見と産生能	147
(3) エクオール産生菌	148
(4) エクオール産生のメカニズム	151
3. 大豆イソフラボンの安全性と機能性	153
(1) 大豆イソフラボンの安全性	153
(2) エクオールの生理作用とそのメカニズム	154
(3) エクオールの骨代謝調節作用—動物試験	155
(4) エクオールの骨代謝調節作用—ヒトを対象とした試験	155
4. エクオール産生を促進させる食品および食品成分	160
5. 腸内細菌と骨代謝—最近の動向	163

第8章 大腸水素による*in vivo*レドックス制御とその生理的意義

〔西村直道〕

1. はじめに	168
2. H ₂ 生成に及ぼす腸内細菌と難消化性糖質の影響	170
(1) 腸内細菌の代謝と大腸H ₂ 生成	170
(2) 難消化性糖質の特性と大腸H ₂ 生成	176
3. 全身にデリバリーされる大腸H ₂	177

(1) H ₂ デリバリーにおける大腸H ₂ の可能性	177
(2) 大腸H ₂ は五臓六腑に染み渡る	179
4. 大腸H ₂ による酸化ストレス軽減	181
(1) 虚血-再灌流による酸化障害を大腸H ₂ は軽減する (肝虚血-再灌流)	181
(2) 脂肪組織における炎症を大腸H ₂ は抑制する (脂肪組織の炎症抑制)	182
5. おわりに	183

第3編 宿主の細胞間情報伝達システムを介したクロストーク

第9章 自己免疫疾患の発症を制御する短鎖脂肪酸

[長谷 耕二・高橋 大輔]

1. はじめに	191
2. RAの発症要因	192
3. RAとdysbiosis	193
4. 自己免疫増幅器官としての腸管関連リンパ組織	194
5. 短鎖脂肪酸によるRAの抑制	196
6. おわりに	200

第10章 難消化性糖質の消化管内分泌系への作用

[比良 徹・原 博]

1. はじめに	203
2. 消化管内分泌系	203
3. 栄養素による消化管ホルモン分泌	206
(1) 糖質による消化管ホルモン分泌	206
(2) 脂質, タンパク質による消化管ホルモン分泌	206
4. 難消化性糖質と消化管ホルモンの関係	207
(1) 難消化性糖質の作用 (概要)	207
(2) 難消化性デキストリン, フルクトオリゴ糖による GLP-1分泌・産生への影響	208
(3) 食事誘導性肥満モデルでのRMD, FOSの影響	213

(4) オリゴ糖DFAⅢの作用	217
5. 血中のGLP-1濃度が増加するには, 多段階の事象がかかわる	220
6. 難消化性糖質の多様な作用メカニズム	221
(1) SCFAの作用メカニズム	221
(2) 腸内細菌の関与	222
(3) 難消化性糖質の直接作用	223
7. 非代謝性単糖の作用	224
8. おわりに	226

第11章 腸内細菌の健康機能を媒介する細胞外小胞—エクソソーム

〔逢坂文那・園山 慶〕

1. はじめに	230
2. エクソソームとは何か	231
3. 肥満およびメタボリックシンドロームを抑制する プロバイオティクス	234
4. No.14株の肥満および炎症抑制作用を媒介するエクソソーム	237
5. エクソソームの作用機序としてのmiRNAによる 遺伝子サイレンシング	241
6. おわりに	242

索引	249
----	-----

第1章 宿主—腸内細菌の相利共生関係を支えるムチン

森田達也*

1. はじめに

腸管の杯細胞から分泌されるムチンは高分子糖タンパク質であり、腸上皮を覆う非特異的バリアを形成することで、上皮への物理的刺激や微生物感染を防ぐ役割を持つが、近年ではこれらの古典的役割に加え、約40兆個と言われる腸内細菌と宿主との共生を支える因子としても注目されている¹⁾。ムチンは高密度に糖鎖化されており小腸では難消化性であるが、大腸では腸内細菌の生息環境を提供すると同時に発酵基質としても利用される。消化管ムチンはヒトやブタ、ラットにおいても、種を問わず糖とタンパク質の比がおおよそ4:1であり、発酵基質としての炭水化物(C)/窒素(N)比としては好都合である²⁾。事実、食物繊維を含まない成分栄養剤を摂取したラットでも、盲腸には常に40 mM前後の短鎖脂肪酸(short-chain fatty acid: SCFA)が検出される。また、筆者らは食物繊維の物性と小腸杯細胞応答との関連性解析の一環で(『ルミナコイド研究のフロンティア』建帛社、2010年を参照されたい)、消化管腔内で高効果のみを持つモデル素材として発泡スチロール粉末をラットに摂取させたところ、小腸杯細胞数は対照の1.5倍に増加し、全小腸管腔内のムチン量も同程度の増加を示した。この時、盲腸内容物のSCFA濃度は対照に比べ有意に増加し、特に酪酸濃度は100%の増加を示していた³⁾。つまり、盲腸へのムチン流入量の増加は効果的にSCFA濃度を高めたと考えられる。

Stephenらは回腸末端から回収されるヘキソサミン量から、ヒトでは絶食下でも1日当たり3~5gのムチンが大腸に流入すると推定している⁴⁾。現在の

* 静岡大学大学院農学領域応用生命科学系列

ところ、大腸で分泌されるムチン量に関する情報はないが、わが国における食物繊維の摂取量が12 g/日前後であることを勘案すれば、内因性食物繊維としてのムチンが大腸でのSCFA産生に貢献する割合は無視できないと考えられる。本章では、主にブタ胃粘膜ムチン、ラット消化管ムチンを用いて、ムチン摂取が大腸SCFA量およびSCFAパターン、さらに腸内細菌叢に及ぼす影響をムチン糖鎖から解析した結果を紹介する。あたかも、「宿主はムチンを内因性食物繊維として腸内細菌に供給することで増殖・代謝を促し、一方、腸内細菌は発酵産物として大腸上皮細胞のエネルギー源であるSCFAを供給する相利共生関係」が成立しているかのようである。

2. ムチン糖鎖とムシナーゼ(ムチン分解)活性

腸管杯細胞から分泌されるムチン（主にMuc 2）は巨大糖タンパク質で、そのモノマーは約2.5 MDaと推定されており、さらに重合（di-sulfide 結合）することで100 MDaにも達すると報告されている⁵⁾。図1-1に示すように、ムチンはセ

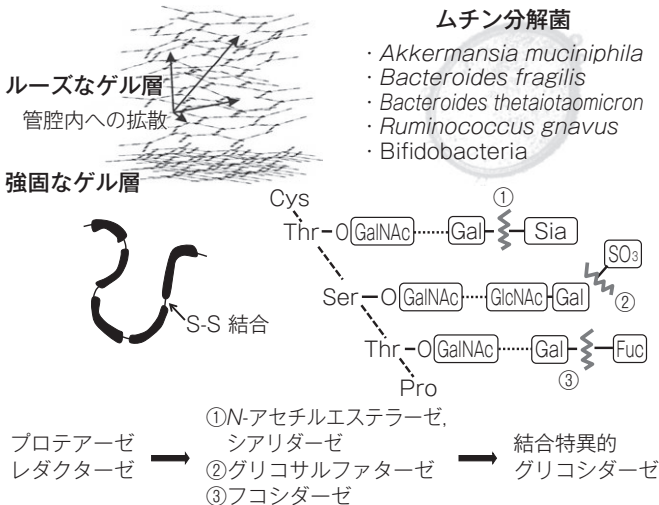


図1-1 ムチン分解菌とその関連酵素⁵⁾

リン，トレオニン，プロリンを主体としたアミノ酸の繰り返しドメインから構成されるコアタンパク質に*N*-アセチルガラクトサミン (*N*-acetylgalactosamine : GalNAc)，*N*-アセチルグルコサミン (*N*-acetylglucosamine : GlcNAc)，ガラクトース (galactose : Gal)，フコース (fucose : Fuc)，シアル酸 (sialic acid : Sia) が10個前後の糖鎖として結合したもので、糖鎖末端にはFuc, Siaあるいは硫酸化糖を配している。また、いずれの糖鎖もコア部分にGalNAcを持ち、セリンまたはトレオニンの水酸基と*O*-グリコシド結合している。ヒト消化管では、現在20種を超えるムチン分子種が報告されているが、分泌型ムチンでは量的にMuc 2（腸管）やMuc 5 AC（胃）の占める割合が高い。腸上皮に分泌されたMuc 2 ムチンは、膨潤して3,000倍以上の体積となり、三次元の網目構造を取っている。大腸上皮のムチンは2層に分かれ、下層は明確な網目構造が重なり合った強固なゲル層を形成するが、上層では宿主および細菌のプロテアーゼやレダクターゼによってムチンは管腔内に拡散し、ルーズなゲル層へと移行する⁵⁾。この上層のムチンは、小腸から流入するムチンとともに腸内細菌の発酵基質となる。

腸内細菌によるムチン糖鎖の分解は、通常、シアリダーゼ（シアル酸アセチルエステラーゼを含む）、グリコサルファターゼおよびフコシダーゼにより糖鎖末端から進行し、その後、結合特異的なグリコシダーゼ（ガラクトシダーゼ、ヘキソサミニダーゼなど）によって単糖を遊離する。ムチン糖鎖分解に関連する一連の酵素を複数あるいはすべてを備えている“ムチン分解菌”には、*Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Ruminococcus gnavus*, *Bifidobacterium bifidum*などが知られているが⁶⁾、サルファターゼはムチン糖鎖分解の律速になると考えられている⁷⁾。

図1-2はラットの盲腸内容物からムチン画分を調製し、これを基質にラット新鮮便を酵素源とした時のムシナーゼ活性を測定した結果を示している。ムチンは対照飼料、6%フルクトオリゴ糖 (fructooligosaccharide : FOS) 添加飼料または抗生剤添加飼料を摂取させたラットから調製した。対照飼料では腸内細菌によるムチン糖鎖の分解が進むため、ムチン画分当たりの*O*-結合性糖鎖

ムチンの糖鎖組成	ラット		
	対照	FOS	抗生剤
O-結合性糖鎖当量(nmol/mg)	50	95	425
硫酸根(nmol/mg) (capping 比率, %)	40(80%)	50(53%)	26(6%)
シアル酸(nmol/mg) (capping 比率, %)	12(24%)	23(24%)	201(47%)
糖鎖末端 (capping 比率, %)	> 100%	77%	53%

測定の手順

新鮮便
 └ ×400 vol.10mM 酢酸緩衝液(pH5.5)
 ホモジネート
 └ 試料 0.9 mL
 └ 0.1 mL
 └ ラット盲腸ムチン(2% 溶液)
 30°C, 20 分インキュベート
 └ 100°C, 3 分煮沸
 └ 還元糖量の測定
 糞便中窒素の分析

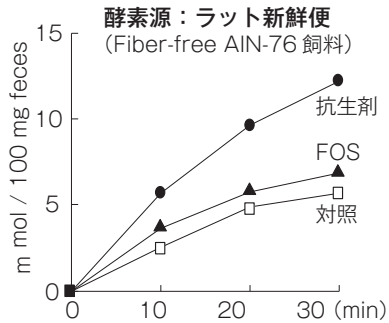


図 1-2 ラット盲腸から調製した各ムチン画分のムシナーゼ基質としての評価
 ムシナーゼ活性は、 $n = 3$ の平均値を示す。

当量は低い値を示すが、抗生剤飼料では腸内細菌の活動が抑制されるため高値を維持している。一方、FOS飼料では極端な乳酸発酵によるpH低下とディスバイオーシス (dysbiosis) によりムチン糖鎖の分解は部分的に抑制され⁸⁾、O-結合性糖鎖当量は中間値を示していた。ムシナーゼ活性 (反応液中に遊離した還元糖量) は、反応に用いた基質が抗生剤飼料>FOS飼料>対照飼料の順に高く、それらの活性はムチン糖鎖末端がシアル酸よりも硫酸化糖でキャップされる割合と逆相関しており、従来の人工基質を用いた時の知見を再現していた⁷⁾。サルファターゼはムチン糖鎖分解の律速になるのである。

3. ムチンの消化管内動態と *in vivo*での資化性

(1) ムチンの消化管内動態

はじめに述べたように、成分栄養剤を摂取したラットでも盲腸には常に40 mM前後のSCFAが検出される。そこで、消化管部位別に1日当たりのムチン分泌量を測定することで、大腸でのムチン分解量を推定した。図1-3に示すように、正常ラット ($n=24$) に5%セルロース(非発酵性)を含む対照飼料(AIN-76準拠)を10日間摂取させ、半数のラットには蒸留水を、他の半数には抗生物質カクテル(ベンジルペニシリン50 U/mL, ネオマイシン2 mg/mL, セフォペラゾンナトリウム0.5 mg/mL)を飲料水として与えた。さらに、外科的に小

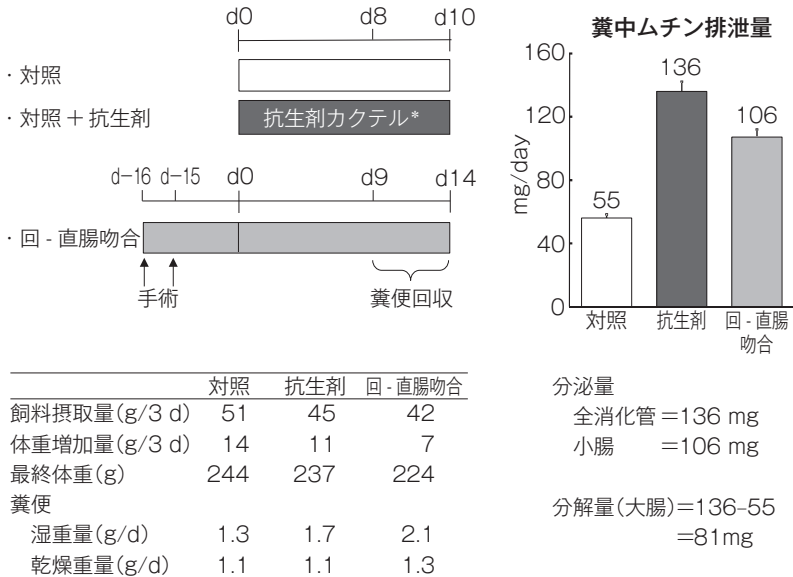


図1-3 ラットにおけるムチンの消化管内動態
平均値±標準誤差 ($n=12$)。