

[招待論文]

エコミメティクス創成を目指した 腸内環境システム生物学

Systems Biology of Gut Environment toward Creation of Ecomimetics

福田 真嗣

慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科特任准教授

Shinji Fukuda

Project Associate Professor, Graduate School of Media and Governance, Keio University

佐野 ひとみ

慶應義塾大学環境情報学部専任講師

Hitomi I. Sano

Assistant Professor, Faculty of Environment and Information Studies, Keio University

Abstract: エコミメティクス (Ecomimetics) とは、Biomimetics (生物模倣) の概念を基盤とし、Ecology (生態系)、特に微生物生態系が有する調和システムから学びそれらを適用することで、既存研究分野のブレイクスルー創出を目指す研究アプローチである。人間の腸内にも微生物生態系 (腸内細菌叢) が形成されており、健康維持や疾患発症に関与することが近年続々と報告されている。本稿では、腸内細菌叢のエコミメティクス創成に向けた数理生物学的アプローチによる腸内環境全容理解に向けた取り組みについて紹介する。

Ecomimetics is a novel strategy to mimic complex and sophisticated ecological systems, especially microbial ecosystems, toward application of the regulatory mechanisms and/or laws of the systems in the fields of life sciences and green chemistry. The human gut is colonized by a wide variety of microorganisms, known as commensal microbiota. The microorganisms create a highly complex microbial community and also affect host physiological homeostasis through host-microbial crosstalk in the gut. Here, we introduce how the commensal microbiota contributes to promotion of our health and also causes various human diseases, and demonstrate mathematical modeling of the host-microbial interaction toward the comprehensive understanding of the gut ecosystem and creation of ecomimetics.

Keywords: 腸内エコシステム、エコミメティクス、数理モデル、シミュレーション
gut ecosystem, ecomimetics, mathematical model, simulation

1 はじめに

エコミメティクス (Ecomimetics) とは、Biomimetics (生物模倣) の概念を基盤とし、Ecology (生態系)、特に微生物生態系が有する複雑で洗練された複合微生物叢調和システムから学び、その法則や概念を適用することで、ライフサイエンスやグリーンケミストリー研究分野のプレイクスルーを生み出す研究アプローチである。海洋や土壌といった地球上のあらゆる環境には微生物生態系が存在し、異種あるいは同種微生物間での複雑で洗練されたやりとりに基づく微生物生態系安定化機構が構築されている。われわれ人間の体表も例外ではなく、顔や体、手足などには多種多様な共生細菌が生息し、バイオフィームと呼ばれる微生物叢の膜が形成されている。皮膚のバイオフィームは宿主細胞とのやりとりを介して形成され、外来病原菌の感染を防ぐことも報告されている^[1, 2]。しかし、人間の体表は体の外側ばかりではない。体の内側、すなわち消化管の特に腸は「内なる外」とも称され、生体内外のインターフェースとして機能しており、生体の生命維持・存続のために生体外から栄養素を吸収するというだけでなく、多くの異物や外来抗原に常に暴露されている。そのため腸は、体にとって必要な栄養素を吸収しながら、外界からの微生物の侵入を排除し、さらには食事由来の食物抗原などに対しては免疫寛容を成立させるなど、異種抗原の排除と免疫寛容とを巧妙に操る腸管粘膜免疫系が発達している。また腸管には、第三の自律神経系とも称される腸管壁内神経系が存在し、知覚神経や介在神経、運動神経などから構成される内在性の反射回路や、興奮性神経と抑制性神経とが調和を保ちながら統合的に機能している。さらに腸管粘膜には、腸管内の情報を感知し、対応する臓器にホルモンを介して信号を伝達する腸管上皮細胞サブセットである腸管内分泌細胞も散在している。これら腸管における免疫系・神経系・内分泌系はそれぞれが独立に機能しているのではなく、お互いに緊密なクロストークを保ちながら統合的な腸管イントラネットを構成し、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。

この腸管内には、数百種類でおよそ 100 兆個にもおよぶ腸内細菌が生息しており^[3]、われわれの体を構成するおよそ 37 兆個の体細胞数よりも遥かに多く存在している^[4]。それら腸内細菌叢は腸管イントラネットとさらにクロスト

ークすることで、腸管内における複雑な生態系、すなわち「腸内エコシステム」を形成している(図1)。腸内エコシステムは通常はこれら異種細胞間の絶妙なバランスのもとに恒常性を維持しており、外界からの様々な刺激や外部ストレス、老化などによりそのバランスが多少崩れても元に戻すロバスト性を有するが、過度の遺伝的あるいは外的環境要因によりその恒常性が破綻すると、最終的には粘膜免疫系や神経系、内分泌系の過剰変動に起因すると考えられる炎症性腸疾患や大腸がんといった腸そのものの疾患に加えて、自己免疫疾患や代謝疾患といった全身性の疾患につながる事が知られている¹⁵⁾。従って、腸内エコシステムの破綻に起因するこれらの疾患を正しく理解し制御するためには、その構成要素のひとつである腸内細菌叢の機能について、腸管イントラネットとのクロストークといった統合的な観点からアプローチす

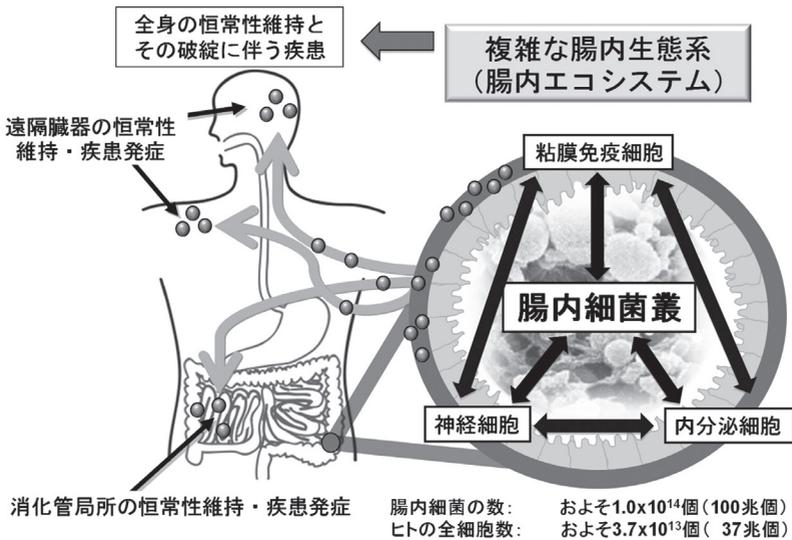


図1 腸内エコシステムによる生体の恒常性維持とその破綻による疾患発症

腸内細菌叢が粘膜免疫細胞や神経細胞、内分泌系細胞などと密接にクロストークすることで、複雑な腸内生態系(腸内エコシステム)を形成している(右)。これらの異種生物間相互作用により生体の恒常性が維持されているが、そのバランスが崩れると消化管局所での疾患発症のみならず、自己免疫疾患や代謝疾患などの全身性疾患を発症する(左)。(文献5より改変して転載)

る必要がある。本稿では、腸内エコシステムの恒常性維持機構や、その破綻に伴う腸管関連疾患や全身性の疾患について、腸内細菌叢のメタゲノム解析やメタボローム解析を組み合わせたメタボロゲノミクスによる近年の取り組みについて紹介するとともに、複雑で洗練された腸内細菌叢がどのようなパラメータによりその複合微生物系の安定性を維持し、また如何なる要因でそれらが破綻するのかといった、エコミメティクス創成に向けた腸内エコシステムのシステム生物学的理解に向けた数理生物学的アプローチによる筆者らの取り組みについても紹介する。

2 腸内エコシステムの破綻がもたらす疾患

2.1 腸管関連疾患

腸内エコシステムのバランスの破綻と腸管関連疾患については、特に慢性炎症疾患と腸内細菌叢との関係について近年多数の報告がある。例えば、生体の遺伝子異常と腸内エコシステムの破綻がその起因となることが報告されている炎症性腸疾患 (inflammatory bowel diseases: IBD) では、生体側の遺伝的要因として、これまでに種々の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) が報告されている^[6]。しかしながら、マウスモデルにおいて生体の遺伝子異常のみでは腸炎は自然発症しないことから、腸内細菌叢やウイルス感染などの環境因子の関与も腸炎発症には重要であることが示唆されている。事実、健常者とIBD患者における腸管内容物中や腸粘膜接着菌における腸内細菌叢構成の相違も報告されており、IBD患者では特に主要な腸内細菌群の一つであるクロストリジウム目細菌群が減少していることが示唆されている^[7, 8]。クロストリジウム目細菌群は腸管粘膜において免疫応答の抑制に寄与する制御性T細胞 (regulatory T cell: T_{reg}) の分化誘導を促すことが報告されていることから、こういった腸内細菌群の減少がIBD発症と深く関係すると考えられる^[9, 10]。筆者らは、クロストリジウム目細菌群による T_{reg} 誘導メカニズムについて、メタボロゲノミクスにより解析し、クロストリジウム目細菌群が腸管内において嫌気代謝により産生する短鎖脂肪酸 (short-chain fatty acid: SCFA) の一つである酪酸が、大腸粘膜においてナイーブT細胞から T_{reg} をエピジェネティックに分化誘導することで、大腸炎の抑制に寄与す

ることを明らかにした（詳細は後述）^[11]。

IBD を含む慢性大腸炎患者がその後大腸がんを発症しやすいことは以前より知られていたが、慢性炎症から大腸がんに移行するには特定の大腸菌が産生するコリバクチンと呼ばれるポリケチドの一種が、腸管細胞の DNA に傷害を与えることがその原因の一つになることが示唆されている^[12]。他にも、がんと腸内細菌由来代謝物については、古くから腸内細菌が胆汁酸代謝により産生する二次胆汁酸が大腸がん発症と関連があることが知られていたが、7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン(7,12-dimethylbenz[a]anthracene: DMBA)を用いた発がん誘導マウスモデルの血清メタボローム解析により、高脂肪食摂取時に腸管内へと分泌される胆汁中のコール酸が腸内細菌によりデオキシコール酸(deoxycholic acid: DCA)に代謝され、この二次胆汁酸である DCA が腸管から再吸収された後に肝臓の肝星細胞の老化を促進することで炎症性サイトカインなどの分泌を促し、最終的には肥満に伴って発症する肝臓がんを誘発することも報告された^[13]。腸内細菌叢の 16S rRNA 遺伝子群のメタゲノム解析から、高脂肪食摂取時に *Clostridium* 属細菌群の中の Cluster XI に属する菌が特徴的に増加し、16S rRNA 遺伝子配列の系統樹解析から、最も近縁であった *Clostridium sordellii* は DCA 産生能を有したことから、血清メタボロミクスと腸内細菌叢メタゲノミクスとを組み合わせたメタボロゲノミクスにより、標的である DCA 産生腸内細菌種を同定するに至った。

他にも、種々の遺伝子改変大腸がん発症マウスモデルのメタボロゲノミクスにより、宿主遺伝子異常と腸内細菌叢由来代謝物との関係が明らかになりつつある。家族性大腸腺腫症の原因遺伝子である adenomatous polyposis coli の遺伝子変異 ($Apc^{Min/+}$) と DNA ミスマッチ修復に関わる MutS homolog 2 の遺伝子欠損 ($Msh2^{-/-}$) の両方を有する $Apc^{Min/+}Msh2^{-/-}$ マウスは大腸がんを発症するが、そのメカニズムとして、腸内細菌叢の発酵代謝により産生される酪酸が、大腸上皮細胞の増殖を促すため、結果として $Apc^{Min/+}Msh2^{-/-}$ マウスの大腸上皮細胞では遺伝子変異が蓄積してしまい、大腸がんを発症することが報告されている^[14]。腸内細菌叢の 16S rRNA 遺伝子群のメタゲノム解析から $Apc^{Min/+}Msh2^{-/-}$ マウスでは *Clostridiales* 目細菌群が増加しており、抗生物質投与により腸内細菌叢を除去すると大腸がん発症も有意に抑制されることが明

らかとなっている^[14]。また、腸管上皮細胞特異的にがん原遺伝子の一つである *K-ras* 遺伝子の活性化型変異 (*K-ras*^{G12Dint}) を発現させたマウスへ高脂肪食を摂食させると小腸に腫瘍が形成されるが、これは高脂肪食摂取による肥満とは無関係であり、高脂肪食摂取による小腸内細菌叢の乱れ (dysbiosis) が関与していることが報告されている^[15]。*K-ras*^{G12Dint} マウスでは対照群と比較してパネート細胞からの抗菌物質産生量やゴブレット細胞からのムチン産生量が低下しており、そのことが高脂肪食摂取による小腸内細菌叢の dysbiosis を促し、腫瘍形成に寄与していると考えられる。事実、抗生物質投与により小腸での腫瘍形成が完全に阻害されることや、酪酸の経口投与によりムチン産生量の回復に伴った小腸内細菌叢の改善が腫瘍形成を抑制することも報告されている^[15]。

2.2 全身性疾患

近年増加の一途をたどっている肥満や糖尿病、動脈硬化といった全身性の代謝疾患や、その患者数が成人の8人に1人と言われている慢性腎臓病についても腸内エコシステムの乱れが深く関与していることが報告されている^[5, 16]。レプチン遺伝子に変異した肥満マウス (*ob/ob* マウス) の腸内細菌叢を無菌環境下で飼育した無菌の野生型マウスに定着させると、野生型マウスの腸内細菌叢を定着させた場合よりも体重が増加することが明らかとなった^[17]。一方、*ob/ob* マウスに抗生物質を投与することで腸内細菌叢を除菌すると、抗生物質未処理の *ob/ob* マウスと比較して肝脂肪や血漿 LPS 濃度が低下し、肝臓のグリコーゲン量や血漿のアディポネクチン濃度が増加したことから、抗生物質による腸内細菌叢除去は *ob/ob* マウスの耐糖能の改善に効果があることが示唆された^[18]。欧米人の双子の腸内細菌叢を用いた研究も実施されており、双子のうち一方が肥満型、もう一方がやせ型のペアのヒト腸内細菌叢を無菌マウスにそれぞれ定着させて通常飼料で飼育した場合、マウスはそれぞれのドナーの体型を反映することが明らかとなった^[19]。興味深いことに、これらのマウスに低脂肪・高繊維食を与えた場合、やせ型腸内細菌叢を定着させたマウスはそのままの表現型だったが、肥満型腸内細菌叢を定着させたマウスはやせ型の腸内細菌叢に近づき、体型もやせる傾向にあることが

明らかとなった^[19]。このことから、宿主の代謝表現型は腸内細菌叢と食事との組み合わせによって制御可能である可能性が示唆された。この他にも、肥満マウスや肥満のヒト腸内細菌叢のマイクロバイーム解析から、正常な腸内細菌叢と比べてその細菌数が 100 ～ 1,000 分の 1 に減少している腸内細菌として *Akkermansia muciniphila* が報告されている^[20]。*A. muciniphila* を経口投与することで、肥満に伴って生じるインシュリン抵抗性や脂肪の蓄積といったメタボリックシンドロームの症状を改善できることが示唆されたことから、本菌は代謝疾患の予防や治療に有用な腸内細菌と考えられる^[21]。ヒトの遺伝的背景と関連する腸内細菌と BMI 値に関する報告もあり、416 組の双子を含む 1,000 以上の糞便サンプルのメタゲノム解析から、*Christensenellaceae* 科細菌の存在量は二卵性双生児同士と比べて一卵性双生児同士で相関しており、またその存在量は低 BMI 値と正の相関があることも報告されている。実際に、無菌マウスを用いたヒト糞便移植試験から、*Christensenellaceae* 科細菌の定着が体重増加の抑止に寄与することが明らかとなった^[22]。

食事の欧米化が生活習慣病のリスクを高めていることも以前より知られているが、レシチンなどの食事由来のコリンや赤身肉中に多く含まれる L-カルニチンを摂取すると腸内細菌によりトリメチルアミン (trimethylamine; TMA) に代謝され、消化管から吸収された TMA がさらに肝臓でトリメチルアミン-N-オキシド (trimethylamine N-oxide; TMAO) に代謝されることでアテローム性動脈硬化を促進することが、血清のメタボローム解析より明らかとなっている^[23, 24]。他にも、精神疾患の一つである自閉症スペクトラム障害の発症に腸内細菌叢の乱れが関与することが報告されている。妊娠マウスに poly(I:C) を腹腔内投与することで母体免疫を活性化すると、その産仔が自閉症症状を呈するモデルマウスにおいて、腸内細菌叢の 16S rRNA 遺伝子群のメタゲノム解析および血清のメタボローム解析から、仔マウスの腸内細菌叢の乱れ (dysbiosis) が腸管バリア機能の低下をまねき、その結果腸内細菌叢から産生される尿毒症物質の一つである 4-ethylphenylsulfate が腸管内から血中に移行することで自閉症症状を呈することが明らかとなった^[25]。この時、腸管バリア機能を改善するようなプロバイオティクスを摂取すると血中の 4-ethylphenylsulfate 濃度が低下し、それに伴って自閉症症状も改善された

ことから、プロバイオティクス摂取による腸内エコシステムの改善が、自閉症治療のターゲットの一つとなりうる可能性が示唆された。

慢性腎臓病と腸内細菌叢との関連も報告されており、腸内細菌叢から産生される種々の尿毒症物質が慢性腎臓病の発症や増悪に関わる可能性が示唆されている^[26]。筆者らもアデニン食摂取による腎不全発症マウスモデルにおいて、塩化物イオンチャネル活性化剤であるルビプロストンの経口摂取により腸内環境を改善すると、腎不全の病態スコアを改善できることを明らかにした。メタボロゲノミクスにより、腎不全発症による腸内細菌叢の乱れが、ルビプロストン摂取により改善され、その結果血中の indoxyl sulfate や hippurate といった腸内細菌叢由来の尿毒症物質濃度が低下したことが、腎不全病態スコアの改善につながる事を明らかにした^[27]。

3 腸内細菌叢由来代謝産物がもたらす生態恒常性維持機構

3.1 粘膜免疫システムと腸内細菌叢由来代謝産物

腸内エコシステムの恒常性維持において、腸内細菌叢がもたらす多様な機能のうち、その多くは粘膜免疫システムの制御に関わっていることが近年明らかになりつつある。例えば腸内細菌の一種である腸管セグメント細菌 (segmented filamentous bacterium: SFB) は、粘膜免疫系において免疫グロブリン A (immunoglobulin A: IgA) 産生細胞や腸管上皮細胞間リンパ球 (intraepithelial lymphocyte: IEL) を誘導するだけでなく^[28]、炎症応答に関与する T_H17 細胞の分化・誘導を促すことが報告された^[29]。また、主要な腸内細菌群の一種であるクロストリジウム目細菌群が、前述の通り免疫応答の抑制に重要な役割を担う T_{reg} の分化・誘導を促すことも報告された。筆者らはメタボロミクスを基盤とする統合オミクス解析技術を適用することにより、特にクロストリジウム目細菌群による T_{reg} の分化誘導メカニズムに焦点を当て、その分子機構の解明を試みた。その結果、宿主が摂取した食物繊維からクロストリジウム目細菌群による嫌気代謝により産生された SCFA の一つである酪酸が、大腸粘膜における T_{reg} の分化誘導に寄与することをメタボローム解析により明らかにした(図2)^[11]。酪酸はヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase: HDAC) 阻害剤として機能することが以前より知られていたが、

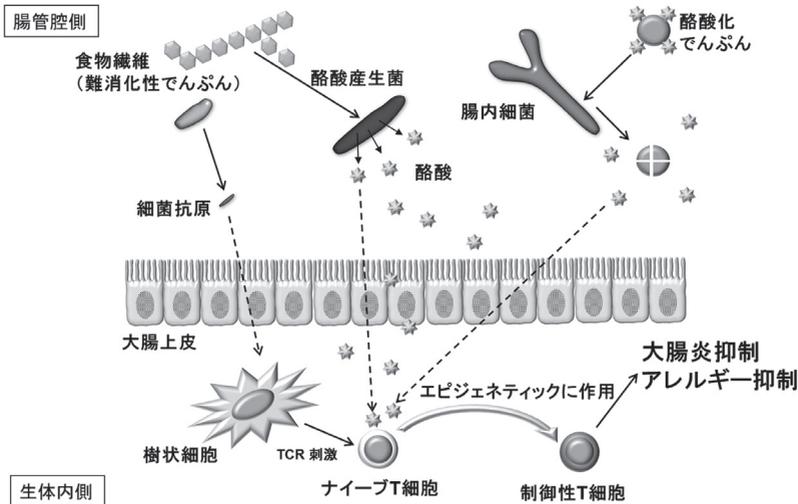


図2 酪酸による制御性 T 細胞誘導機構

クロストリジウム目細菌群などの酪酸産生菌が食物繊維の代謝により腸管内で酪酸を産生する。大腸粘膜固有層において酪酸がナイーブ T 細胞にエピジェネティックに作用することで、制御性 T 細胞のマスター転写因子である *Foxp3* 遺伝子の発現を誘導し、ナイーブ T 細胞から制御性 T 細胞への分化を誘導する。大腸局所で誘導された制御性 T 細胞は、大腸炎やアレルギーなどの免疫応答を抑制する。酪酸化でんぷんの摂取により腸管内の酪酸濃度を高めた場合にも同様に大腸炎やアレルギーを抑制できる (文献 11 より改変して転載)。

ナイーブ T 細胞を用いた *in vitro* でのトランスクリプトーム解析およびゲノムワイドなエピゲノム解析から、酪酸がナイーブ T 細胞にエピジェネティックに作用することで、 T_{reg} の分化誘導のマスター転写因子である *Foxp3* 遺伝子領域のヒストンアセチル化を促進し、*Foxp3* 遺伝子発現量を増加させることを明らかにした^[11]。T 細胞依存性大腸炎モデルマウスに酪酸を架橋したデンブンを食餌として与えて腸管内での酪酸量を増加させたところ、大腸粘膜における T_{reg} の数が増加し、それに伴って大腸炎も抑制されたことから、クロストリジウム目細菌群が腸管内で特徴的に産生する酪酸が、 T_{reg} の分化誘導を担う免疫修飾因子の実体であることを証明した^[11]。酪酸による T_{reg} の分化誘導メカニズムについては、酪酸が大腸粘膜のナイーブ T 細胞に直接作用する上述の経路の他、樹状細胞への作用を介した経路が存在することも報告され

ている^[30]。

3.2 腸内細菌が産生する代謝産物は多様な生体修飾機構を有する

酪酸以外にも、腸内細菌が腸管内で産生する SCFA や、乳酸などの有機酸には生体修飾因子としての機能があることが報告されている。例えば酢酸は、白血球の一種であり炎症反応の中心的役割を担う好中球が発現している GPR43 を介してアポトーシスを促し、実験的大腸炎モデルマウスにおいて大腸炎を抑制することが報告されている^[31]。筆者らも、腸管出血性大腸菌 O157:H7 感染マウスモデルにおいて、腸内細菌の一種でありプロバイオティクスとしても利用されているビフィズス菌による O157 腸管感染症予防機構の解明を行ったところ、ビフィズス菌が腸管内で産生する酢酸が、宿主腸管上皮細胞のバリア機能を高めることで、O157 による腸管感染症を予防できることを明らかにした(図3)^[32]。SCFA と2型糖尿病との関係も示唆されており、不溶性食物繊維が腸内細菌によって代謝されて産生された SCFA が、脂肪細胞のペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ : PPAR γ) 経路を活性化することで、インスリン抵抗性

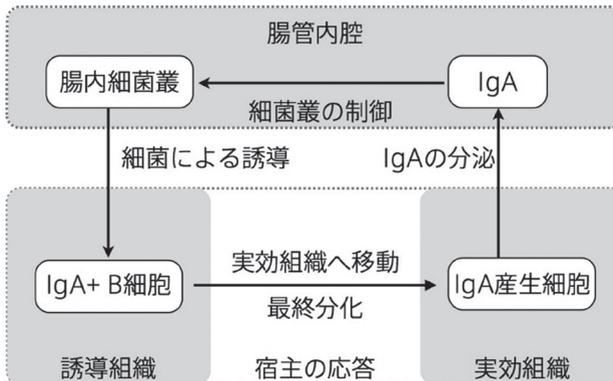


図3 数理モデル構築にむけた腸内環境システムの抽象化

腸管内腔と宿主側の組織(誘導組織・実効組織)の各コンパートメント内に宿主-微生物間相互作用の説明に必要な要素を置き、腸内細菌種によるIgA産生誘導や分泌型IgAによる細菌叢の制御など、要素同士の相互作用を決定する。

を改善し、2型糖尿病発症率を低下させることも報告されている^[33]。腸管局所での機能としては、SCFA が結腸上皮に存在する消化管 L 細胞が発現する GPR41 や GPR43 を介して、L 細胞から消化管ホルモンの一つであるグルカゴン様ペプチド 1 (Glucagon-like peptide-1: GLP-1) の分泌を促し、膵臓からのインスリン分泌や食欲抑制作用を促すことも報告されている^[34]。また筆者らは、腸内細菌が産生する有機酸の一つである乳酸が、宿主の絶食後の再摂食時に生じる大腸上皮細胞の過増殖を促す鍵因子であることを明らかにしており、実験的大腸がん誘発モデルにおいて、絶食時の乳酸注腸による大腸上皮の過増殖が、前癌病変の増加につながることも報告している^[35]。このように腸内細菌が産生する SCFA や有機酸には多様な生体修飾因子としての機能があることが明らかになりつつあるが、これらは腸内細菌叢機能の一側面にすぎないと考えられることから、メタボロゲノミクスによる腸内細菌叢機能の全容理解に向けてさらなる研究進展が望まれる。

4 エコミメティクス創成に向けた腸内環境システムのモデリングとシミュレーション

腸内環境システムのエコミメティクス創成には、抗生物質やプロバイオティクスの投与を始めとする人為的な腸内細菌叢の修飾による直接的な変化と、細菌と宿主との相互作用による宿主の免疫応答を介した間接的な変化など、多角的に検討を行う必要がある。数理モデルの構築 (モデリング) は、腸内環境システムのように膨大な構成要素と要素同士の相互作用を含む複雑なシステムを抽象化して捉え、システムの仕組みの定量的な説明を可能にする。また、構築した数理モデルのパラメータを変動させるシミュレーションにより、パラメータの変化がシステム全体に与える影響を定量的に提示し、システムに対する人工的な制御の結果を予測することも可能である。

モデリングとシミュレーションは、腸内環境における腸内細菌叢形成の定量的な説明に応用されている。Marino らは、通常環境で飼育したマウスの腸内細菌叢を無菌環境で飼育されたマウスに定着させ、腸内細菌叢が変化する 3 週間の時系列データを再現する数理モデルを構築した^[36]。Faith らは、10 種類のゲノム既知の腸内細菌叢を定着させたノトバイオートマウスを用いて、

タンパク質、炭水化物、脂質のバランスが異なる17種類の餌を摂食させることで、10種類の腸内細菌群の変化を数理モデルにより説明した¹³⁷⁾。また、抗生物質やプロバイオティクスの投与に対する腸内細菌叢の変化をシミュレートするモデルも発表されている^{138, 139)}。しかし、腸内細菌叢による宿主の免疫システムへの影響や、宿主の免疫応答による腸内細菌叢への影響を考慮したモデルは未だ存在しない。

宿主-腸内細菌間が相互作用する仕組みの一つとして、腸管に侵入した微生物(抗原)による抗原特異的IgAの産生誘導が挙げられる。健康な成人では、1日あたり200 mg以上のIgAが腸管上皮から分泌されている。IgAは、有害微生物を認識して結合することで腸管上皮細胞への定着を阻止する他、有害微生物が生産する毒素の中和などを介して、感染防御にも貢献する。

腸内環境には数百種類以上の常在菌が生息しており、菌種によってIgA産生誘導能が異なることが示唆されていることから、腸内環境のエコミメティクス創成には、宿主の免疫応答を介した腸内細菌叢の制御を定量的に記述する必要がある。われわれは、腸内細菌種によるIgA産生誘導能の違いも含めた、腸内環境における微生物の個体数変化とIgA産生量の時系列変化を数式で表した数理モデルを構築したので、本数理モデルを基盤としたシミュレーションによる腸内環境システムの人工的な制御(エコミメティクス創成)への応用を紹介する。

4.1 数式による微生物生態系のモデリング

生態学分野では、複雑な現象を単純な数式で記述した数理モデルの構築が古くから行われてきた。多くの数理モデルでは、個体数の増加速度を表す数式として、ロジスティック式(1式)を用いている。

$$\frac{dN}{dt} = r \cdot N \cdot \frac{(K-N)}{K} \quad (1)$$

N が個体数、 r は内的自然増加率、 K は環境収容力を示す。括弧で囲まれた部分が同一種内競争を表す項を含んでいる。他種との競合を考慮してロジスティック式を拡張したモデルがロトカーヴォルテラ(Lotka-Volterra: L-V)

モデル ((2),(3) 式) である。

$$\frac{dN_1}{dt} = r_1 \cdot N_1 \cdot \frac{(K_1 - N_1 - \beta_{12} \cdot N_2)}{K_1} \quad (2)$$

$$\frac{dN_2}{dt} = r_2 \cdot N_2 \cdot \frac{(K_2 - N_2 - \beta_{21} \cdot N_1)}{K_2} \quad (3)$$

種 1 と種 2 それぞれの個体数を N_1 と N_2 で表し、2 種の環境収容力を K_1 と K_2 、内的自然増加率を r_1 と r_2 で示す。種間競争の効果の定数 (競争係数 β) として、種 1 が種 2 に与える抑制効果が β_{21} 、反対に種 2 が種 1 に与える抑制効果が β_{12} として表されている。数式を更に拡張することで、2 種以上の個体の種間競争を表すことも可能である。

腸内環境における微生物生態系の数理モデルも、L-V モデルに基づいて構築されている。しかし、それぞれの研究目的に応じて、細菌叢の形成に至る過程の説明に必要なパラメータが異なる。例えば、Faith らのモデルでは、モデルに含まれる全ての細菌種の内的自然増加率 r が一定であると仮定し、それぞれの細菌種の環境収容力 K を 17 種類の餌それぞれに含まれる栄養素の割合に応じて変化させている。また、他細菌の増殖阻害能 β も一定であると仮定している。一方で、Marino らのモデルでは、増殖速度 r と他菌種の増殖阻害能 β が細菌種によって異なるが、環境収容力 K は全ての菌に対して同じ値を設定している。これは、前者のモデルが栄養素の割合の変化に対する細菌の応答を説明する目的で構築されたことに対して、後者のモデルが増殖速度と他菌種の増殖阻害能により細菌叢の一次遷移過程を説明する目的で構築されたことに起因する。

4.2 実験データに基づいた宿主-微生物間相互作用を考慮した数理モデルの構築

エコミメティクス創成を目指したモデリングの目的は、宿主-微生物間相互作用を考慮し、IgA 産生誘導能や IgA に対する抵抗性が細菌叢の形成に与える影響を定量的に検討することである。従って、宿主の免疫システムを説

明する数式を立てることで腸内細菌による IgA 産生誘導能を考慮した上で、L-V モデルのパラメータに IgA に対する抵抗性を反映させる必要がある。後述するシミュレーションに向けて、無菌環境で飼育されたマウスに単一菌種のみを定着させ、定着から 8 週間の菌数と IgA 産生量の推移を再現するモデルを構築する。

まず、腸内環境システムを図 3 のように抽象化し、定着させた菌種による IgA 産生誘導、および分泌型 IgA と腸内細菌の相互作用を説明するモデル構築に必要な構成要素と要素同士の相互作用を決定する。次に、実験データを再現するためのパラメータの値を推定する。抽象化とパラメータ推定を交互に繰り返すことで、最終的に、同じ数式のセットから派生して、異なる菌種の菌数と IgA 産生量の変化を増殖速度や IgA 誘導能、IgA に対する抵抗性に関するパラメータの変更により表すことのできる汎用性の高い数理モデルの構築に至る。

構築した汎用モデルの応用として、腸内環境に存在する全ての菌種それぞれを表すモデルをモジュール（構成単位）とした巨大なモデルの構築により理論的には数百種類からなる細菌叢を対象としたシミュレーションが可能である。ただし、拡張によりパラメータの組み合わせが膨大になるため、先行研究^[36, 37]と同様にシミュレーションの目的に応じて必要なパラメータの取捨選択が必要となる。

4.3 免疫システムの動的な変化の表現とシミュレーションへの応用

腸管内腔への IgA の分泌には、実行組織に存在する IgA 産生細胞が関わっている。無菌環境で飼育されたマウスの実行組織における IgA 産生細胞の数は、通常環境で飼育されたマウスの約 1/6 であることが報告されている^[40]。また、6～8 週齢のマウスと老年マウス群（12 ヶ月齢および 24 ヶ月齢）を比較した結果、老年マウス群の実行組織における IgA 産生細胞の減少が観察されている^[41]。

汎用モデルのパラメータとして、実行組織コンパートメント内の IgA 産生細胞の数が含まれている（図 3）。従って、加齢に伴う IgA 産生細胞の減少が腸内細菌叢の維持に及ぼす影響をシミュレートすることが可能である。加齢

によって IgA 産生細胞が減少する他、腸管の微生物を取り込んで誘導組織に受け渡す M 細胞も顕著な減少が観察されている^[42]。汎用モデルには M 細胞は含まれていないが、M 細胞の数の減少は、誘導組織コンパートメントへの取り込み速度の減速として表現できる。このように、免疫システムに関連する様々な細胞の応答が報告されているが、まずは既存のパラメータでの表現を考え、既存のパラメータでは説明ができない場合は数式の見直しを行うことで、より包括的な数理モデルの構築に至る。

4.4 腸内環境システムの人工的な制御による細菌叢再形成のシミュレーションへの応用

抗生物質やプロバイオティクスの投与は、腸内環境システムに対する「摂動」と捉え、数理モデルに含まれるパラメータの変化として表現が可能である。摂動を表現した数理モデルに基づくシミュレーションにより、摂動に対する細菌叢の安定性を定量的に評価することができる。腸内細菌叢は短期的な食事の変動に対しては安定であると報告されている^[43]。食事の変動は、先行研究^[37]と同様に、L-V 式の環境収容力 (K) で表現できる。腸内環境システムに対する摂動として、主な栄養分の変動や食事の変動パターンの組み合わせや食事の変動の期間を変更したシミュレーションにより、腸内細菌叢の変化を促す組合せを予測することができる。

腸内環境の免疫システムを包括した数理モデルの構築が実現することで、究極的には、健康の増進や病気の予防・治療を目的とし、個人それぞれの細菌叢の状態を考慮した個別のエコミメティクス創成を目指した「パーソナライズド・シミュレーション (personalized simulation)」が可能になる。健康児の腸内細菌叢には、アレルギー乳児よりも、炎症抑制能の高いビフィズス菌が多いことが報告されている^[44, 45]。治療を目的とした場合は単に炎症抑制能の高い菌種の割合を増やすだけでなく、改善した腸内環境状態を保つためのエコミメティクスの設計にシミュレーションを応用できる。また、加齢や環境変化、生活習慣等による免疫システムの変化に伴って生じうる dysbiosis の予測と、dysbiosis に至らない「健康」な状態を維持するために最適なエコミメティクスの設計により、健康増進・病気予防への応用も可能であると考えられる。

5 おわりに

腸内細菌叢のバランスの乱れが、腸管関連疾患だけでなく全身性疾患につながるものが続々と報告されており、腸内細菌叢を含む腸内エコシステム全体を一つの臓器として包括的に理解し、その振る舞いを基盤としたエコミメティクスを創成することが、今後の生体の恒常性維持や疾患治療の新たなストラテジー確立に向けた重要課題であることは明白である。腸内細菌叢の遺伝子地図は個人で異なり、またその機能も個人において異なることから、腸内エコシステムの機能を包括的に理解するためには、同一プラットフォームでの基盤情報の蓄積が必須である。特に、メタボロゲノミクスによる個人人の腸内細菌叢遺伝子地図の取得ならびに遺伝子地図上への代謝物情報に基づく機能情報の付与が、今後のデータ駆動型腸内環境研究の主力になると考えられる。腸内環境システムのエコミメティクス創成には、複雑な腸内環境システムを適切に抽象化した数理モデルの構築と、目的に応じて必要なパラメータを適切に設定したシミュレーションの実施が有効であることから、個人人の腸内細菌叢代謝マップを構築できれば、エコミメティクスに基づく腸内エコシステムの制御を介した疾患の予防や治療方法の確立など、人類の Quality of Life 向上につながると期待される。

引用文献

1. Gallo, R.L. and Nakatsuji, T., "Microbial symbiosis with the innate immune defense system of the skin." *J. Invest. Dermatol.*, 131(10), 2011, pp.1974-1980.
2. Iwase, T., *et al.*, "Staphylococcus epidermidis Esp inhibits Staphylococcus aureus biofilm formation and nasal colonization." *Nature*, 465(7296), 2010, pp.346-349.
3. Qin, J., *et al.*, "A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing." *Nature*, 464(7285), 2010, pp.59-65.
4. Bianconi, E., *et al.*, "An estimation of the number of cells in the human body." *Ann. Hum. Biol.*, 40(6), 2013, pp.463-471.
5. Fukuda, S. and Ohno, H., "Gut microbiome and metabolic diseases." *Semin. Immunopathol.*, 36(1), 2014, pp.103-114.
6. Barrett, J.C., *et al.*, "Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease." *Nat. Genet.*, 40(8), 2008, pp.955-962.
7. Frank, D.N., *et al.*, "Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases." *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 104(34), 2007, pp.13780-13785.

8. Sokol, H., *et al.*, “Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients.” *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 105(43), 2008, pp.16731-16736.
 9. Atarashi, K., *et al.*, “Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species.” *Science*, 331(6015), 2011, pp.337-341.
 10. Atarashi, K., *et al.*, “Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota.” *Nature*, 500(7461), 2013, pp.232-236.
 11. Furusawa, Y., *et al.*, “Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells.” *Nature*, 504(7480), 2013, pp.446-450.
 12. Arthur, J.C., *et al.*, “Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota.” *Science*, 338(6103), 2012, pp.120-123.
 13. Yoshimoto, S., *et al.*, “Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome.” *Nature*, 499(7456), 2013, pp.97-101.
 14. Belcheva, A., *et al.*, “Gut microbial metabolism drives transformation of MSH2-deficient colon epithelial cells.” *Cell*, 158(2), 2014, pp.288-299.
 15. Schulz, M.D., *et al.*, “High-fat-diet-mediated dysbiosis promotes intestinal carcinogenesis independently of obesity.” *Nature*, 514(7523), 2014, pp.508-512.
 16. Aw, W. and Fukuda, S., “Toward the comprehensive understanding of the gut ecosystem via metabolomics-based integrated omics approach.” *Semin. Immunopathol.*, 2014.
 17. Turnbaugh, P.J., *et al.*, “An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest.” *Nature*, 444(7122), 2006, pp.1027-1031.
 18. Membrez, M., *et al.*, “Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice.” *FASEB J*, 22(7), 2008, pp.2416-2426.
 19. Ridaura, V.K., *et al.*, “Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice.” *Science*, 341(6150), 2013, p.1241214.
 20. Everard, A., *et al.*, “Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice.” *Diabetes*, 60(11), 2011, pp.2775-2786.
 21. Everard, A., *et al.*, “Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity.” *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 110(22), 2013, pp.9066-9071.
 22. Goodrich, J.K., *et al.*, “Human genetics shape the gut microbiome.” *Cell*, 159(4), 2014, pp.789-799.
 23. Koeth, R.A., *et al.*, “Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis.” *Nat. Med.*, 19(5), 2013, pp.576-585.
 24. Tang, W.H., *et al.*, “Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk.” *N. Engl. J. Med.*, 368(17), 2013, pp.1575-1584.
 25. Hsiao, E.Y., *et al.*, “Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders.” *Cell*, 155(7), 2013, pp.1451-1463.
 26. Aronov, P.A., *et al.*, “Colonic contribution to uremic solutes.” *J. Am. Soc. Nephrol.*, 22(9), 2011, pp.1769-1776.
 27. Mishima, E., *et al.*, “Alteration of the Intestinal Environment by Lubiprostone Is Associated with Amelioration of Adenine-Induced CKD.” *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2014.
 28. Umesaki, Y., *et al.*, “Differential roles of segmented filamentous bacteria and clostridia in development of the intestinal immune system.” *Infect. Immun.*, 67(7), 1999, pp.3504-3511.
-

29. Ivanov, II, *et al.*, “Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria.” *Cell*, 139(3), 2009, pp.485-498.
30. Arpaia, N., *et al.*, “Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation.” *Nature*, 504(7480), 2013, pp.451-455.
31. Maslowski, K.M., *et al.*, “Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43.” *Nature*, 461(7268), 2009, pp.1282-1286.
32. Fukuda, S., *et al.*, “Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate.” *Nature*, 469(7331), 2011, pp.543-547.
33. Robertson, M.D., *et al.*, “Insulin-sensitizing effects on muscle and adipose tissue after dietary fiber intake in men and women with metabolic syndrome.” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 97(9): 2012, pp.3326-3332.
34. Tolhurst, G., *et al.*, “Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2.” *Diabetes*, 61(2), 2012, pp.364-371.
35. Okada, T., *et al.*, “Microbiota-derived lactate accelerates colon epithelial cell turnover in starvation-refed mice.” *Nat. Commun.*, 4, 2013, p.1654.
36. Marino, S., *et al.*, “Mathematical modeling of primary succession of murine intestinal microbiota.” *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 111(1), 2014, pp.439-444.
37. Faith, J.J., *et al.*, “Predicting a human gut microbiota’s response to diet in gnotobiotic mice.” *Science*, 333(6038), 2011, pp.101-104.
38. Arciero, J.C., *et al.*, “Using a mathematical model to analyze the role of probiotics and inflammation in necrotizing enterocolitis.” *PLoS One*, 5(4), 2010, p.e10066.
39. Stein, R.R., *et al.*, “Ecological modeling from time-series inference: insight into dynamics and stability of intestinal microbiota.” *PLoS Comput. Biol.*, 9(12), 2013, p.e1003388.
40. Macpherson, A.J., *et al.*, “A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria.” *Science*, 288(5474), 2000, pp.2222-2226.
41. Koga, T., *et al.*, “Evidence for early aging in the mucosal immune system.” *J. Immunol.*, 165(9), 2000, pp.5352-5359.
42. Kobayashi, A., *et al.*, “The functional maturation of M cells is dramatically reduced in the Peyer’s patches of aged mice.” *Mucosal Immunol.*, 6(5), 2013, pp.1027-1037.
43. Wu, G.D., *et al.*, “Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes.” *Science*, 334(6052), 2011 pp.105-108.
44. He, F., *et al.*, “Stimulation of the secretion of pro-inflammatory cytokines by Bifidobacterium strains.” *Microbiol. Immunol.*, 46(11), 2002, pp.781-785.
45. He, F., *et al.*, “Comparison of mucosal adhesion and species identification of bifidobacteria isolated from healthy and allergic infants.” *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 30(1), 2001, pp.43-47.

〔受付日 2015. 2. 24〕