

分担研究報告書

Ah リガンドと消化管における腸内細菌の研究

研究分担者 鳥巢 剛弘 九州大学病態機能内科 講師

研究要旨 油症のメカニズムとして、ダイオキシン類が Ah 受容体を介した過剰な活性酸素を生じることが一因と考えられている。生理的な Ah 受容体のリガンドとして腸内細菌叢で産生されるインドール化合物が知られているが、小腸の細菌叢は採取が困難で、腸内細菌の分布は不明であった。今回バルーンアシスト内視鏡を用い、小腸を含む全消化管と便の検体を採取し、メタゲノム法により全消化管の腸内細菌の分布を網羅的に明らかとした。十二指腸や空腸にインドール化合物の代謝に関わる細菌が豊富であった。今後、ダイオキシン類による過剰な Ah 受容体刺激と生理的リガンドによる機能の差の解明が期待される。

A 研究目的

ダイオキシン類による中毒である油症が発生し約 50 年が経過し、病態の分子機構も部分的に明らかになった。ダイオキシン類は生体内に取り込まれたのち芳香族炭化水素受容体 Ah 受容体に結合する。Ah 受容体はリガンドと結合すると ARNT と 2 量体を形成し Ah 受容体が細胞質から核内へ移行することにより CYP1A2 や CYP1B1 などを含む様々な転写産物が作られる。CYP1A2 や CYP1B1 はリガンドを分解するが、ダイオキシン類はその他の自然界の物質と比べ分解を受けにくく、強固に結合する。その結果 Ah 受容体シグナルが強くなることにより大量の活性酸素が作られるより毒性が発揮されると考えられている(1)。ダイオキシン類による中毒である油症に関連する消化器症状として腹痛や下痢などが一般住民と比較して高頻度であるこ

とが知られている。油症患者では約半数、また長期経過した後においても約 3 分の 1 の患者に消化器症状が持続すると報告されている。(2)。Ah 受容体は消化管を含む様々な臓器に広く存在することから、消化管においても活性酸素が亢進し症状が出現すると考えられている。Ah 受容体は元来生体に存在し、生理的な役割も担っている。腸内細菌から産生されるインドール系化合物は最も重要な生理的リガンドとして知られている。また、小腸の細菌叢の採取は困難であったが、近年バルーンアシスト小腸内視鏡など小腸検査方法のモダリティーの進歩により可能となってきた(3)。そこで今回、小腸内視鏡を用い消化管の粘膜関連細菌叢を網羅的に探索することにより生理的な Ah 受容体のリガンドの産生について明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

当科において小腸内視鏡を施行した39人の被験者のうち消化管の外科切除歴がある人、炎症性腸疾患、3か月以内の抗生物質や整腸薬内服の内服歴のない29人を対象とした。胃、十二指腸、空腸、回腸、終末回腸、直腸、便検体の合計133検体の細菌叢を粘膜擦過法により採取した。16S rRNA 遺伝子領域をPCRにて増幅し、IlluminaMiseq®にてシーケンスを行った。バイオインフォマティクス的な解析はQIIMEおよびPICRUStにて行い細菌組成の同定と細菌叢の予測メタゲノム解析を行った(4)。

C. 研究結果

消化管の各部位の粘膜関連の細菌叢の組成は胃、十二指腸、上部空腸は類似していたが、回腸は上部消化管から下部消化管の広い組成を有し、下部消化管の終末回腸と直腸は類似していた。便はやや異なっていた(Fig. 1)。属レベルの解析でVeillonella属、Streptococcus属が上部消化管で多く、回腸からEscherichia属、回腸末端からBacteroides属が増加し、便ではEscheriaは少なく、Clostridiumが増加することが特徴的であった(Fig. 2)。AhRのリガンドを産生することが知られているLactobacillus属は比較的少ないものの十二指腸などの上部消化管で多かった(Fig. 2)。AhRリガンドを含むインドールの産生に関わる細菌については機能解析を行ったところ十二指腸や空腸に豊富であった(Fig. 3)。

D. 考察

これまで採取が困難であった小腸の腸内細菌も含め解析を行った。生理的なAh受容体のリガンドとして重要なインドール系化合物の産生に関わる細菌叢は十二指腸や空腸に豊富に存在することを明らかにした。また従来腸内細菌の研究で用いられている便検体は腸管内とやや異なることが示された。必須アミノ酸の一つであるトリプトファンは腸内細菌叢によりインドール系化合物に代謝され、Ah受容体シグナルを活性化する。それに伴いIL22やIL17の遺伝子発現を亢進させ腸管免疫や腸管バリアーに影響を及ぼす(5)。また高トリプトファン食はインドール系化合物の合成に関わる腸内細菌叢が増加し、腸内細菌の中ではLactobacillus reuteriが最も関与が示唆されている(6)。過去の多くの腸内細菌叢の検討が便でされている現状であるが、今回の検討ではLactobacillus reuteriや機能解析によるインドール化合物代謝は十二指腸など上部消化管に豊富であることが部位別に細菌叢を検索することで明らかにすることができた。タンパク質は十二指腸～空腸で消化吸収されるのでこの結果は妥当である。同様に油症におけるダイオキシン類の吸収も生理的なAh受容体リガンドと同様に十二指腸から空腸で吸収され全身に影響した可能性も推測される。今後生理的なAh受容体リガンドと油症における過剰なAh受容体刺激により共通点と相違点を明らかにすることでより病態理解が進むことが期待される。

E. 結論

ダイオキシン類の毒性に中心的役割を果たす Ah 受容体のリガンドであるインドール系化合物を産生に関わる腸内細菌叢の分布について示した。

参考文献

(1)古江増隆, 石井祐次, 月森清己, 辻学 Aryl hydrocarbon receptor からみた油症の病態と治療開発 2020. 福岡医誌 112(2):61-89.2021

(2)Akahane M, Matsumoto S, Kanagawa Y, Mitoma C, Uchi H, Yoshimura T, Furue M, Imamura T. Long-Term Health Effects of PCBs and Related Compounds: A Comparative Analysis of Patients Suffering from Yusho and the General Population. Arch Environ Contam Toxicol. 2018 Feb;74(2):203-217.

(3)Nakamura M, Yano T, Esaki M, Oka S, Mitsui K, Hirai F, Kawasaki K, Fujishiro M, Torisu T, Tanaka S, Iwakiri K, Kishi M, Matsumoto T, Yamamoto H. Novel ultrathin double-balloon endoscopy for the diagnosis of small-bowel diseases: a multicenter nonrandomized study. Endoscopy. 2021 Aug;53(8):802-814.

(4)Hirano A, Umeno J, Okamoto Y, Shibata H, Ogura Y, Moriyama T, Torisu T, Fujioka S, Fuyuno Y, Kawarabayasi Y, Matsumoto T, Kitazono T, Esaki M. Comparison of the microbial community

structure between inflamed and non-inflamed sites in patients with ulcerative colitis. J Gastroenterol Hepatol. 2018; 33 (9) 1590-1597

(5)Zelante T, Iannitti RG, Cunha C, De Luca A, Giovannini G, Pieraccini G, Zecchi R, D'Angelo C, Massi-Benedetti C, Fallarino F, Carvalho A, Puccetti P, Romani L. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. Immunity. 39, 372–385 (2013).

(6)Lamas B, Hernandez-Galan L, Galipeau HJ, Constante M, Clarizio A, Jury J, Breyner NM, Caminero A, Rueda G, Hayes CL, McCarville JL, Bermudez Brito M, Planchais J, Rolhion N, Murray JA, Langella P, Loonen LMP, Wells JM, Bercik P, Sokol H, Verdu EF. Aryl hydrocarbon receptor ligand production by the gut microbiota is decreased in celiac disease leading to intestinal inflammation Sci Transl Med. 2020 Oct 21;12(566).

Fig.1

消化管の各部位における β 多様性

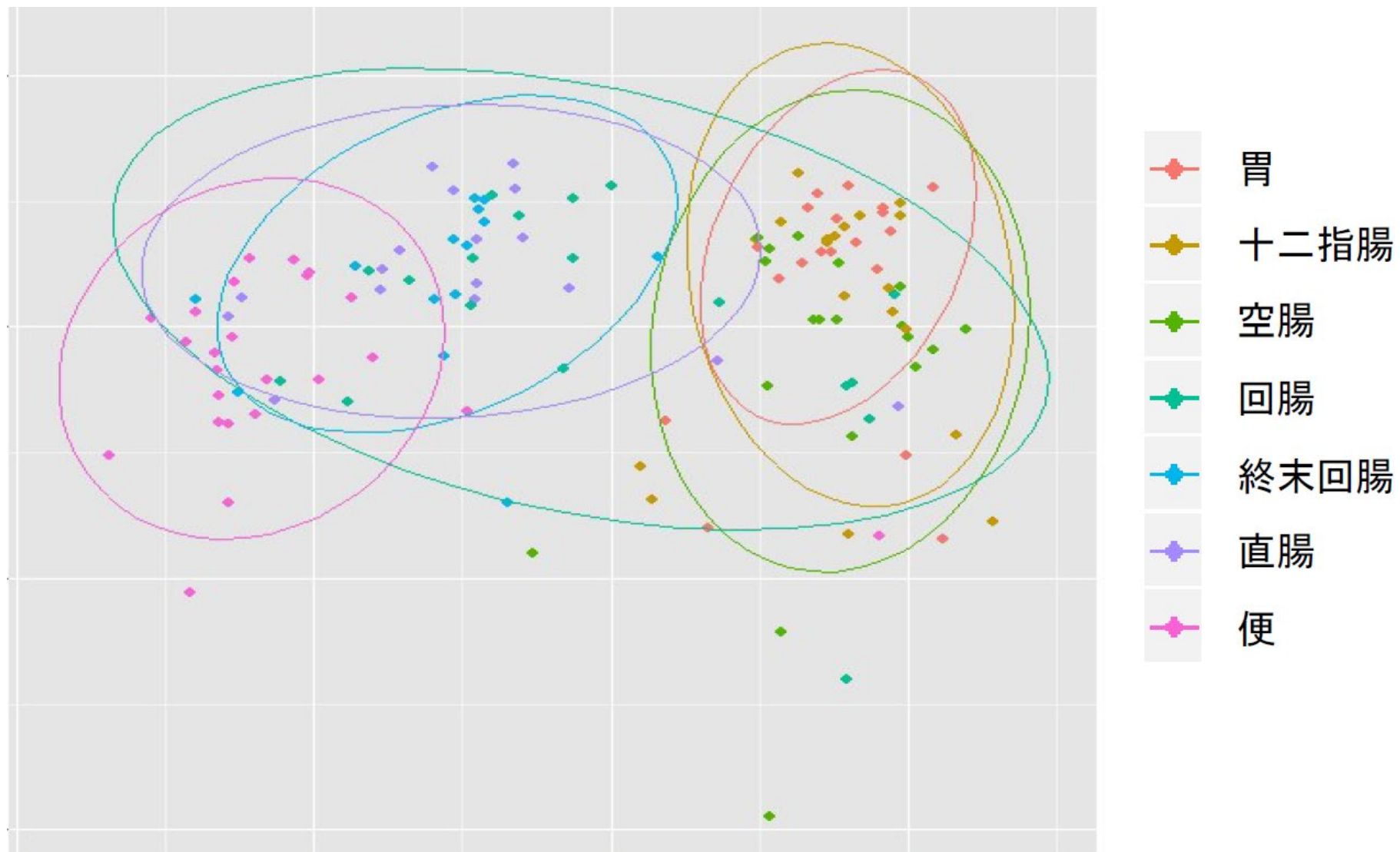


Fig.2

Genusレベルにおける各部位の細菌組成

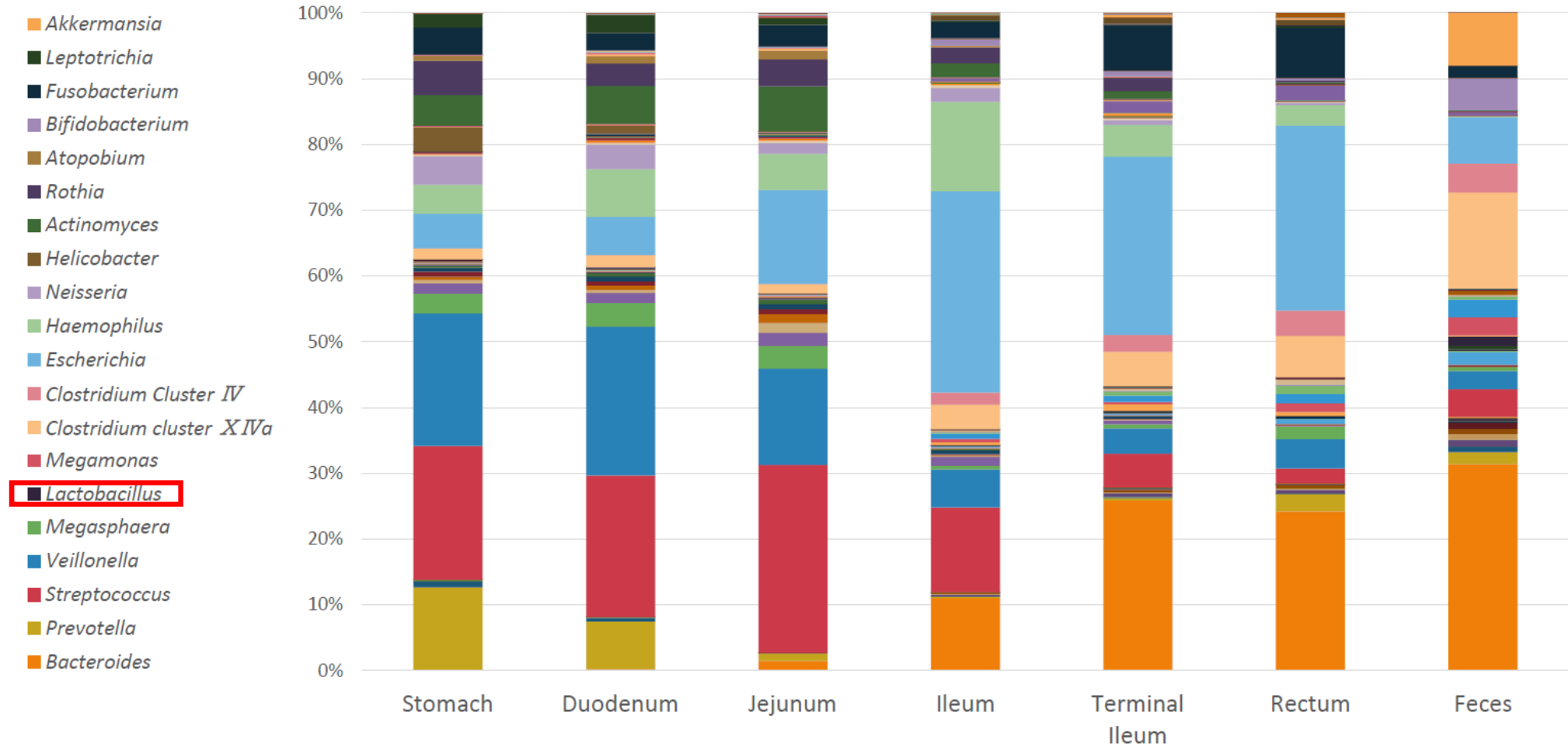


Fig.3 インドール化合物代謝に関わる細菌の消化管各部位における割合

