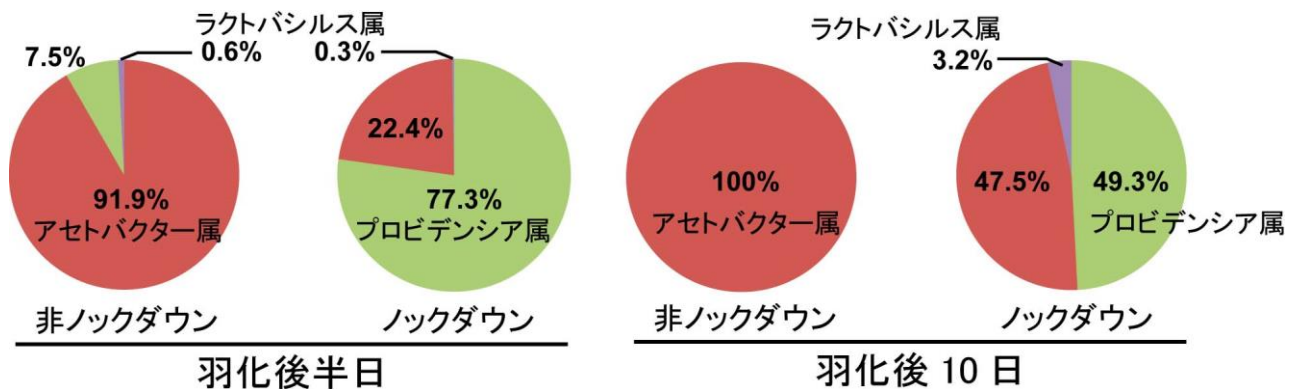




ショウジョウバエ腸内細菌の共生と破綻の分子機構を解明 —腸内細菌の単離と菌種の特定に成功、宿主・細菌の共生の分子機構の理解に前進—

宿主の腸管は常に多種多様な感染微生物にさらされており、宿主は巧妙に制御された免疫機構を発達させることで、腸内細菌叢の恒常性を保っています。九州大学大学院理学研究院の関原早苗テクニカルスタッフ、川畑俊一郎主幹教授、および高等研究院の柴田俊生助教らの研究グループは、次世代シーケンサーによりショウジョウバエの腸内細菌の遺伝子解析を行い、野生型とトランスグルタミナーゼ(※1) 遺伝子をノックダウンしたハエでは腸内細菌叢が大きく異なっていることを見出しました。また、腸管から単離した4種の細菌株(SK1~SK4)の抗菌ペプチドと活性酸素に対する耐性を比較したところ、常在菌が腸管内の環境に順応すると、試験管での培養した際の菌とは異なる性質を示すことが推定されました。さらに、無菌バエにSK1とSK4を1:1の比率で感染させると菌を単独で感染させたハエよりも短命になることが判明しました。今回の研究により、単離した細菌を無菌バエに摂食させることで、腸内環境における細菌間、あるいは細菌と宿主間の相互作用研究に利用できることが判明しました。ハエだけでなく、ほ乳類やヒトに共生している腸内細菌叢の研究にも応用できる実験系であり、今後、善玉菌や悪玉菌の性質を明らかにすることで、腸内フローラのバランスを変化させヒトの健康改善に寄与することが期待されます。

本研究成果は、米国の国際学術誌『The Journal of Biological Chemistry』のオンライン速報版で2016年10月19日(水)に掲載されました。近日中に確定版が掲載される予定です。



(参考図) 羽化後半日(左)と10日後(右)のハエ腸管の細菌叢の変化

研究者からひとこと: 私は研究成果をアナロジーで説明するのは好みませんが、宿主の腸管に定着している常在菌は、チョモランマ最終キャンプ地で生死をかける登山家のように、培養フラスコで増殖している常在菌は、高級ホテルのスイートルームでシャンパンを飲んでいる金持ちのように、振る舞っているのかもしれない。単離培養したある菌株の精査の結果をもって、その菌株の腸管での性質と見なさないよう自戒させられた研究でした。

【お問い合わせ】 大学院理学研究院 主幹教授 川畑 俊一郎

電話: 092-802-4288 FAX: 092-802-4288

Mail: skawascb@kyudai.jp

Web: <http://www.biology.kyushu-u.ac.jp/~biopoly/>

■背景

タンパク質分子間の架橋の形成は、血液凝固（フィブリン架橋）や皮膚形成（ケラチン等の架橋）などに関与しており、それを触媒する酵素はトランスグルタミナーゼ（TG）とよばれ、リジン残基とグルタミン残基の側鎖をイソペプチド結合（※2）で架橋します。哺乳類には8種のTG遺伝子がありますが、ハエには1種類のTG遺伝子しか存在しないため、その機能解析には優れたモデル系です。ハエ腸管には、10～50種、約500万個の腸内細菌が常在し、宿主の免疫系により管理されています。しかし、腸内常在菌と感染菌との識別に関する分子機構や宿主の常在菌に対する免疫寛容の分子機構には不明な点が多く残っています。当研究室では、TGが翅や腹部といった外骨格の形成に関与するとともに、常在菌に対する免疫応答の制御を担っていること、TGの架橋反応が腸管の抗菌ペプチド産生経路のNF- κ B様転写因子（※3）を不活性化させること、言い換えればTGは抗菌ペプチド産生を担う転写因子を阻害することで腸内細菌に対する過剰な免疫応答を抑制していることなどを明らかにしてきました。興味深いことに、TGの遺伝子をノックダウンするとハエの寿命が短くなることも分かり、ノックダウンハエの短命の原因が腸内細菌叢と何らかの関わりを持つことが推定されました。

■内容

次世代シーケンサーを用いて腸内細菌叢の16S rRNA遺伝子の解析を行ったところ、羽化後0.5日目の野生型ハエでは *Acetobacter*（アセトバクター、酢酸菌）属が92%を、残り8.0%を *Providencia*（プロビデンシア）属が占め、一方、TG遺伝子のノックダウンハエでは、77%を *Providencia* 属、22%を *Acetobacter* 属が占めていました。また、羽化後10日後の野生型ハエでは *Acetobacter* 属で100%占められ、ノックダウンハエでは、*Providencia* 属と *Acetobacter* 属が1:1の比率となることが判明しました。一方では、羽化後10日後のノックダウンハエから4つの菌株（SK1～SK4）を単離して、それらの16S rRNA全長の配列解析により、それぞれ、*Acetobacter persici*、*Acetobacter indonesiensis*、*Lactobacillus pentosus*、*Providencia rettgeri* と同定しました。羽化後10日後の野生型ハエからは、SK1とSK3が得られました。ショウジョウバエ腸管において主要な免疫反応は、抗菌ペプチドおよび活性酸素種（ROS）による殺菌が主体であり、これまで、通常飼育ノックダウンハエでは、腸管での抗菌ペプチドの産生量が著しく増加することが判明していました。そのため、ノックダウンハエから単離されたSK4が抗菌ペプチドに対してより強い耐性を示すことが推定されました。さらに、得られた4種の細菌について腸管の免疫反応に対する耐性を調べるために、抗菌ペプチド耐性とROS耐性を測定、比較しました。その結果、推定に反して、SK4株は抗菌ペプチド・ROSの両方に対して耐性が低いことが判明しました。これらの結果は、細菌が腸内環境に順応する際、試験管の中とは異なる性質を示すことが示唆されました。さらに、無菌バエにSK1とSK4を1:1の比率で感染させると生存率が菌を単独で感染させたハエよりも減少することが判明しました。

■効果・今後の展開

今回の研究により、単離した細菌を無菌ハエに摂食させることで、腸内環境における細菌間、あるいは細菌と宿主間の相互作用研究に利用できることが判明しました。ハエだけでなく、ほ乳類やヒトに共生している腸内細菌叢の研究にも応用できる実験系であり、今後、宿主・細菌の共生の分子機構の理解に寄与することが期待されます。

【用語解説】

（※1）：トランスグルタミナーゼ：

タンパク質を構成するアミノ酸であるグルタミン残基の側鎖とリジン残基の側鎖をイソペプチド結合で共有結合する酵素。この酵素の触媒により、ペプチド鎖の分子内および分子間の架橋が形成される。

（※2）：イソペプチド結合：

リジン側鎖の ϵ -アミノ基とグルタミン酸残基の γ -カルボキシル基の間で形成されるペプチド結合。

（※3）：NF- κ B様転写因子：

NF- κ Bとは、免疫グロブリン κ L鎖遺伝子の発現調節領域（エンハンサー）に結合する転写因子として発見されたが、その後、多くの免疫遺伝子の発現調節に関わる転写因子のファミリーを形成していることが明らかになった。