

腸内細菌のポリアミン代謝・輸送機構の解明



石川県立大学生物資源環境学部 寄付講座准教授 栗 原 新

はじめに

ポリアミンは炭化水素鎖の両端にアミノ基を有する化合物群の総称であり、主要なものにプロレッシン、スペルミジン、スペルミンがある。ポリアミンは微生物から高等動植物に至るまでほぼ全ての生物の細胞内に存在する。ポリアミンは細胞増殖促進作用を始めとした様々な役割を果たす生理活性アミンであり、その細胞内濃度は10 mMオーダー以上の高濃度である。ポリアミンは生理的なpH下では正電荷を持つため、核酸やリン脂質などの負電荷をもつ細胞内成分と弱く結合して活性を調節することで、細胞増殖の場で重要な役割を果たしている。ポリアミンは真核生物では生命維持に必要不可欠であり、原核生物においては細胞増殖に重要な物質であるほか、バイオフィルム形成や細胞分化における細胞間シグナルとしても機能する重要な物質でもある。

ポリアミンの腸管内腔における濃度は最大数mMにも及び、腸内細菌の重要な代謝産物であることが証明されている。2009年以降、世界中の研究者からポリアミン摂取が動物の健康寿命延伸に著効を示すことが報告されている(表1)。ほとんどの生物はポリアミンを自ら合成するために、食品中にはポリアミンが含まれる。一方で、細胞内のポリアミン濃度は加齢とともに減少するため、動物は食物中に含まれるポリアミンを小腸から吸収する。これに加えて小腸の下流に存在する大腸の内腔には、腸内細菌叢由来のポリアミンが存在し、大腸粘膜を通じて効率よく吸収されると考えられる。したがって、腸内細菌由来のポリアミンの生産が向上すれば、これを腸管粘膜から取り込むことで加齢に伴う体内のポリアミン減少が補われ、ヒトの健康寿命が延伸することが期待される。

表1 ポリアミンによる健康増進および寿命延伸

報告年	効果	メカニズム	文献
2009	寿命延伸	炎症抑制	<i>Exp. Gerontol.</i> 44: 727-32.
2009	寿命延伸	オートファジー誘導	<i>Nat. Cell Biol.</i> 11: 1305-14.
2011	寿命延伸	炎症抑制	<i>PLoS One</i> e23652.
2013	記憶力増強	オートファジー誘導	<i>Nat. Neurosci.</i> 16: 1453-60.
2014	寿命延伸	炎症抑制	<i>Sci. Rep.</i> 4: 4548.
	認知力増強		
2016	心機能向上	オートファジー誘導	<i>Nat. Med.</i> 22: 1428-1438.

1. 大腸菌の新規プロレッシン分解系・輸送系・制御系の解明

大腸菌の機能未知遺伝子 $ycjL$ とこの周辺にある遺伝子クラスターが、プロレッシンを栄養源として利用するために必要不可欠な分解系(全く新規の反応を含む)を構成する酵素群およびこれらの酵素群と協調して働くトランスポーターPuuPをコードすることを初めて明らかにした。また、この代謝系の制御因子であるPuuRの作用機序を明らかとした¹⁾(図1)。さらに、細胞内のプロレッシンを細胞外へと放出するプロレッシンエクスポートー $SapBCDF$ を同定した²⁾(図1)。

2. 腸内細菌由来ポリアミンの健康寿命延伸作用

マウスにプロバイオティクス(ビフィズス菌)を経口投与すると、寿命が大幅に延伸し、このマウスの腸内ではスペルミン濃度が有意に上昇していることが明らかとなった。大腸腸管の遺伝子発現を網羅的に解析した結果、プロバイオティクス投与老齢マウスの遺伝子発現パターンは、非投与のコントロールマウスの発現パターンとは大きく異なっており、若齢マウス大腸腸管の遺伝子発現と類似していた。この腸内細菌のポリアミン生産を増強する目的で、糞便中のプロレッシン濃度と相関性のある糞便中の代謝産物をスクリーニングしたところ、アルギニンが糞便中のプロレッシン濃度を上昇させることを明らかにし、アルギニンとプロバイオティクスを同時投与することで腸管内プロレッシン濃度が上昇したマウスでは、寿命延伸のみならず空間認知能力が非投与群より高くなることを発見した³⁾。

3. ヒト腸内細菌叢のポリアミン代謝系・輸送系の解明と制御

3-1. ヒト腸内常在菌叢最優勢種における新規ポリアミン合成系・輸送系の探索

前項で、アルギニンを投与したマウスの糞便からmRNAを抽出し解析したところ、糞便中のポリアミン濃度が上昇したにも関わらず、既知のポリアミン合成系遺伝子群についてはその

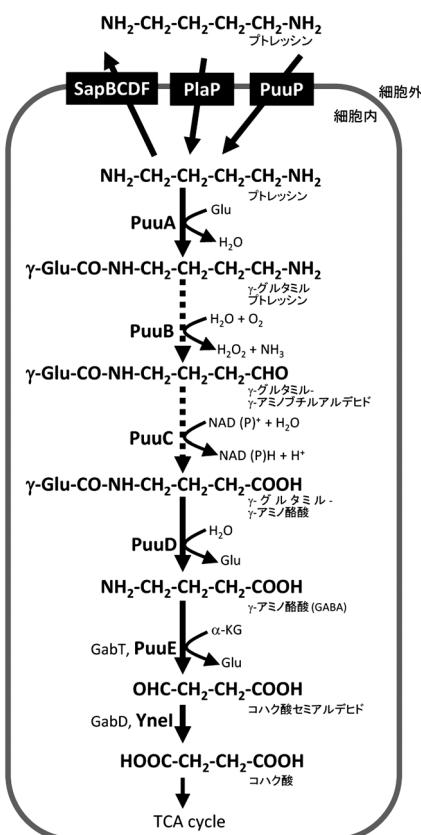


図1 大腸菌の新規プロレッシン分解・輸送系

SapBCDF はプロレッシンエクスポートー²⁾、 $\text{PlaP} \cdot \text{PuuP}$ ¹⁾はプロレッシンインポーター、 PuuA は γ -グルタミルプロレッシン合成酵素¹⁾、 PuuB は推定 γ -グルタミルプロレッシン酸化酵素¹⁾、 PuuC は推定 γ -グルタミル- γ -アミノブチルアルデヒド脱水素酵素¹⁾、 PuuD は γ -グルタミル- γ -アミノ酪酸加水分解酵素¹⁾、 PuuE はプロレッシン誘導性 γ -アミノ酪酸アミノトランسفエラーゼ¹⁾、 YneI はプロレッシン誘導性コハク酸セミアルデヒド脱水素酵素である。

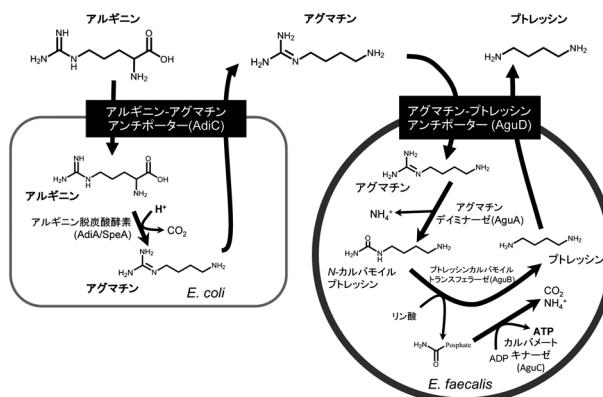


図2 腸内細菌2菌種にまたがるプトレッシンの合成経路

大腸菌(左)がアルギニンを細胞内へ取り込み、アグマチンへと変換した後に細胞外へ放出する。放出されたアグマチンは*E. faecalis*(右)により細胞内へ取り込まれ、プトレッシンへと変換された後に細胞外へと放出される。

発現量が上昇しないものがほとんどであり、新規のポリアミン合成経路の存在が示唆された³⁾。これらの新規経路をヒトの主要な腸内細菌で同定する目的で、培養を介さない手法で同定されたヒト腸内細菌叢最優勢種56種のうち、培養が可能な44種をコレクションし、そのうちの32種が汎用培地であるGAMで生育可能であることを初めて示した⁴⁾。これら32種の細胞内および培養上清中のポリアミン濃度を定量し、各菌株のゲノム情報と照らし合わせたところ、これまでの報告にないポリアミン代謝系や輸送系が存在することが示唆された⁵⁾。

3.2. ヒト腸内常在菌叢最優勢種のポリアミン合成遺伝子の同定

ヒト腸内細菌叢最優勢8位の*B. thetaiotaomicron*のスペルミジン合成系を構成するカルボキシスペルミジンデカルボキシラーゼ遺伝子および、上記解析でスペルミジンを培地に著量、放出することが判明した*Bacteroides dorei*(ヒト腸内細菌叢最優勢32位)のスペルミジン合成系を構成するアルギニンデカルボキシラーゼ遺伝子を実験的に同定した⁶⁾。

3.3. 腸内細菌2菌種にまたがる新規プトレッシン合成経路の発見

これまでの研究は腸内細菌を純粋培養した場合のポリアミン产生についてのものであるが、腸内細菌はヒト腸管内では複雑な細菌叢を形成しているため細菌間の相互作用にも考慮する必要がある。そこで腸内細菌叢の最も単純なモデルとして、腸内細菌2菌種の混合培養を行い、ポリアミンを高生産する組み合わせをスクリーニングしたところ、腸内細菌叢最優勢54位の*Enterococcus faecalis*とモデル腸内細菌である大腸菌の混合培養でポリアミン生産が飛躍的に高まることを見出した。次にその产生機構を両菌の遺伝子破壊・相補株を定着させたマウスを用いて解析したところ、以下の機構が明らかとなった(図2)。すなわち、大腸菌のAdiCによって環境中から取り込まれたアルギニンが、本菌の細胞内でAdiAによってアグマチンへと変換される。このアグマチンは大腸菌のAdiCにより環境中へと放出され、放出されたアグマチンは*E. faecalis*のAguA等の触媒する反応によりプトレッシンにまで代謝され、AguDにより環

境中へと放出されることが明らかとなった。また、ビフィズス菌が動物腸管内のpHを酸性にすることで上記機構が活性化され、プトレッシンの生産量が増大することも明らかとした⁷⁾。おわりに

21世紀初頭から糞便中のDNA、RNAの次世代シーケンス解析が精力的に行われ、腸内常在菌叢の組成・遺伝子発現が明らかとなったが、その遺伝子機能の多くは未知である。ポリアミンをはじめとした腸内細菌の有用な代謝産物の濃度を制御し人類の健康に資するためには、腸内における生産メカニズムを解明する必要がある。このためにはヒト腸内常在菌を培養し、その有用代謝産物の合成・輸送系を構成する遺伝子を同定することで、酵素・トランスポーターの阻害剤や各遺伝子の発現制御の標的を定める必要がある。今後はより多くの腸内常在菌について遺伝子レベルで解析を行い、腸内常在菌叢の適切な制御によるヒト健康寿命の延伸を目指して研究を展開していきたい。(引用文献)

- Kurihara S., Oda S., Kato K., Kim H.G., Koyanagi T., Kumagai H., Suzuki H.* *The Journal of Biological Chemistry* 280: 4602–4608 (2005).
- Sugiyama Y., Nakamura A., Matsumoto M., Kanbe A., Sakanaka M., Higashi K., Igarashi K., Katayama T., Suzuki H., Kurihara S.* *The Journal of Biological Chemistry* 291: 26343–26351 (2016).
- Kibe R.[†], Kurihara S.[†], Sakai Y., Suzuki H., Ooga T., Sawaki E., Muramatsu K., Nakamura A., Yamashita A., Kitada Y., Kakeyama M., Benno Y., Matsumoto M.* *Scientific Reports* 4: 4548 (2014).
- Gotoh A., Nara M., Sugiyama Y., Sakanaka M., Yachi H., Kitakata A., Nakagawa A., Minami H., Okuda S., Katoh T., Katayama T., Kurihara S.* *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 81: 2009–2017 (2017).
- Sugiyama Y., Nara M., Sakanaka M., Gotoh A., Kitakata A., Okuda S., Kurihara S.* *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 93: 52–61 (2017).
- Sakanaka M., Sugiyama Y., Nara M., Kitakata A., Kurihara S.* *FEMS Microbiol Letters* 365:fny003 (2018).
- Kitada Y., Muramatsu K., Toju H., Kibe R., Benno Y., Kurihara S.^{†*}, Matsumoto M.^{†*}. *Science Advances* 4: eaat0062 (2018).

謝 辞 本研究は、京都大学生命科学研究科微生物細胞機構学分野、理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料開発室、京都工芸繊維大学大学院工芸化学研究科微生物工学研究室、エモリー大学医学部微生物免疫学科、石川県立大学腸内細菌共生機構学寄附講座(IFC)で行なったものです。研究の基礎を一から教えていただきました京都工芸繊維大学・鈴木秀之教授、腸内細菌の魅力的な世界を教えていただきました理化学研究所・辨野義己特別招聘研究員、協同乳業株式会社・松本光晴主幹研究員、石川県立大学・山本憲二教授、近畿大学・芦田久教授、留学先で自由に研究をさせていただきましたエモリー大学・Philip N. Rather教授、石川県立大学で非常に恵まれた環境を与えていただきました片山高嶺教授(現・京都大学)に心より御礼申し上げます。また、様々な面からご支援いただいた諸先生方、研究員、スタッフ、卒業生、在学生、大学・企業の共同研究者の方々に深く感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました、石川県立大学・熊谷英彦学長に厚く御礼申しあげます。