

2022年3月9日

報道関係者各位

慶應義塾大学薬学部

腸内細菌が酸化ストレス防御能を高めることを発見

－酸化ストレスを抑制する活性硫黄産生菌を活用した

創薬や食品開発に期待－

慶應義塾大学の研究グループは、腸内細菌叢^(注1)が宿主の酸化ストレス防御に寄与する新たな仕組みを発見しました。本研究は慶應義塾大学薬学部薬学科の内山純（うちやま じゅん）、同薬学部の秋山雅博（あきやま まさひろ）特任講師、金倫基（きむ ゆんぎ）教授を中心とする研究グループの成果です。

酸化ストレス^(注2)は多くの疾患発症への関与が知られています。そのため、生体内の抗酸化物質の量的維持が健康維持に重要です。近年、腸内細菌が産生する多様な代謝物が、腸管を越えて宿主の多様な臓器機能に影響を与えていることが明らかになっています。しかしながら、宿主の抗酸化能に対する腸内細菌の寄与については不明なままでした。

本研究では、腸内細菌叢が抗酸化物質である活性硫黄分子^(注3)の生体内の量的維持および上昇に寄与していることを発見しました。また、腸内細菌はシスチン^(注4)を基質として活性硫黄分子のひとつであるシステインパースルフィド（CysSSH）を酵素反応的に産生することも分かりました。そこで、シスチンをマウスに投与したところ、腸内細菌叢依存的に血漿中の活性硫黄濃度が上昇し、酸化ストレス性肝障害が抑制されました。さらに、活性硫黄分子を高産生する腸内細菌も明らかにすることができました。

酸化ストレスは、食・生活習慣の悪化、心理的・肉体的ストレス、老化等により増加しますが、その結果、活性酸素種によるDNAやタンパク質の酸化的損傷が起これ、心血管疾患・がん・糖尿病・神経変性疾患を誘発します。本研究結果から、活性硫黄分子を高産生する腸内細菌が我々の酸化ストレスに対して防御的に働く可能性が示唆されました。今後はこの活性硫黄分子の高産生菌や、これらの細菌の機能を向上させる物質を利用した創薬や食品開発への進展が期待されます。

本研究成果は、宿主 - 腸内細菌間の相互作用における新たな分子基盤の解明に繋がると期待されます。本研究成果は2022年3月8日（米国東部標準時）に国際学術誌『Cell Reports』（電子版）に掲載されました。

1. 本研究のポイント

- ・腸内細菌叢は、宿主の活性硫黄分子の量を増加させる。
- ・腸内細菌はシスチンを基質としてシステインパースルフィド（CysSSH）を産生する。
- ・シスチン投与は、腸内細菌叢を介して宿主の活性硫黄分子の量を増加させる。
- ・シスチン投与は、酸化ストレス性肝炎を抑制する。
- ・Lachnospiraceae科とRuminococcaceae科の腸内細菌は活性硫黄分子産生能力が高い。

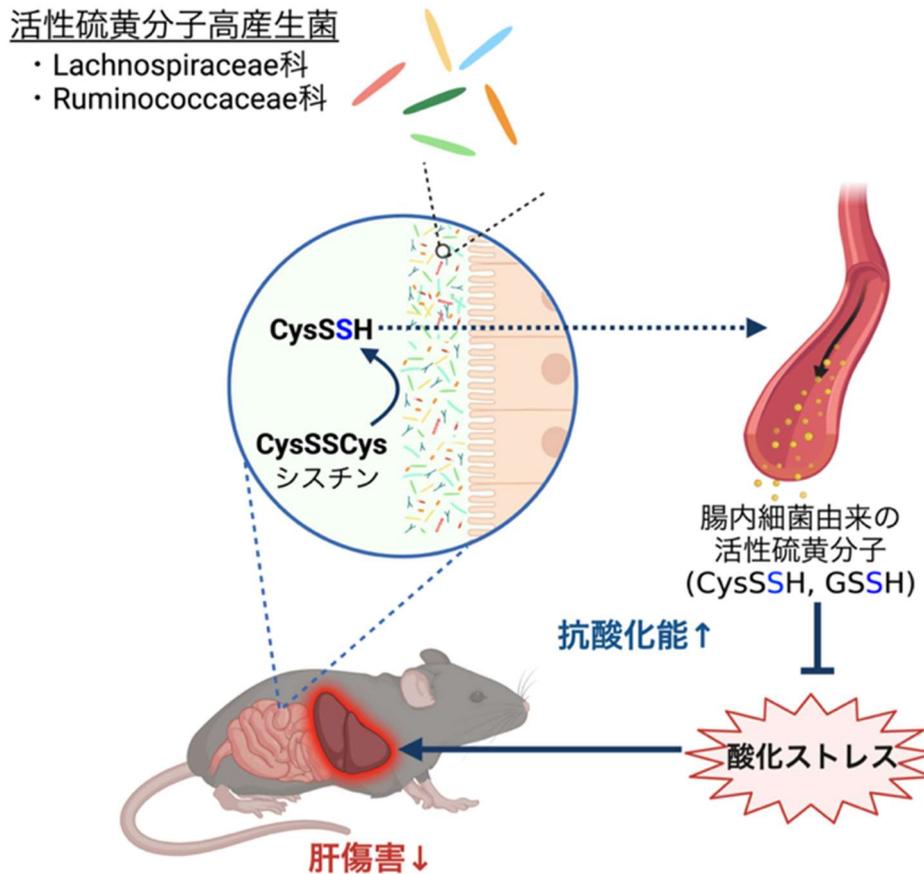


図1. 本研究の概念図

本研究により、腸管に存在する腸内細菌はシスチンを基質にして、高い抗酸化力を有する活性硫黄分子のひとつであるシステインパースルフィド (CysSSH) を産生し、宿主へ供給している可能性が示されました。また、宿主へ供給された腸内細菌由来の活性硫黄分子は、酸化ストレスに対する宿主の防御能の向上に寄与している可能性も示されました。さらに、Lachnospiraceae 科と Ruminococcaceae 科に属する腸内細菌が高い活性硫黄分子産生の能を有することを明らかにしました。

2. 研究の背景

日々の生活において、我々の体はさまざまな酸化ストレスに晒されています。一方で、私たちの体内には、酸化によるダメージを最小限に抑える防御機構が数多く存在します。抗酸化物質は、酸化修飾の形成を防ぎ、酸化ストレスによって引き起こされた損傷を中和または修復する化合物です。システイン (CysSH) やグルタチオン (GSH) などのチオール化合物^(注5) はよく知られた抗酸化物質ですが、これらに硫黄原子が付加したシステインパースルフィド (CysSSH) やグルタチオンパースルフィド (GSSH) などの活性硫黄分子も新規抗酸化物質として作用します。CysSSH や GSSH などのパースルフィドは、それぞれ親化合物である CysSH や GSH よりも高い抗酸化能を有するため、酸化ストレス防御に重要な役割を担うことが注目されています。

近年、腸内細菌が腸管内外の臓器の生理機能に関与している証拠が示されており、腸内細菌の影響が消化管内の生息域を超えて全身性に及んでいることが示唆されています。実際、代謝性疾

患、肝疾患、心血管疾患、さらには神経変性疾患などのさまざまな全身性疾患は、腸内細菌の組成の変化と関連していることが報告されています。これら多彩な生理調節機能は、腸内細菌のさまざまな代謝物を産生する能力に起因しています。

一方で、腸管は硫黄代謝が盛んに行われている臓器のひとつですが、腸内細菌による活性硫黄分子の産生と宿主に及ぼす影響については研究されていませんでした。そこで本研究では、生体の活性硫黄分子の新たな供給源のひとつとして腸内細菌に着目し、腸内細菌由来の活性硫黄分子が宿主に与える影響の検討と活性硫黄分子産生菌の探索を試みました。

3. 研究の内容・結果

まず、腸内細菌叢が生体内の活性硫黄分子量に影響するかを評価するため、通常マウス（通常群）とアンピシリンとバンコマイシンの抗菌剤併用投与により腸内細菌を除去したマウス（抗菌剤投与群）における血漿中の活性硫黄分子濃度の比較を行いました。その結果、抗菌剤投与群では通常群と比較して、活性硫黄分子である CysSSH、GSSH 濃度が有意に低下していました（図 2 A）。さらに、腸内細菌を持たない Germ free (GF) マウス（無菌群）と通常群の比較においても、無菌群で有意な活性硫黄分子レベルの低下が確認されました。一方で、無菌群のマウスに通常群の腸内細菌を定着させた exGF マウス（通常菌叢定着群）では、活性硫黄分子レベルが通常群のマウスと同程度まで上昇することが明らかになりました（図 2 B）。これらの実験結果は宿主の活性硫黄分子の一部は腸内細菌により供給されていることを示唆しています。

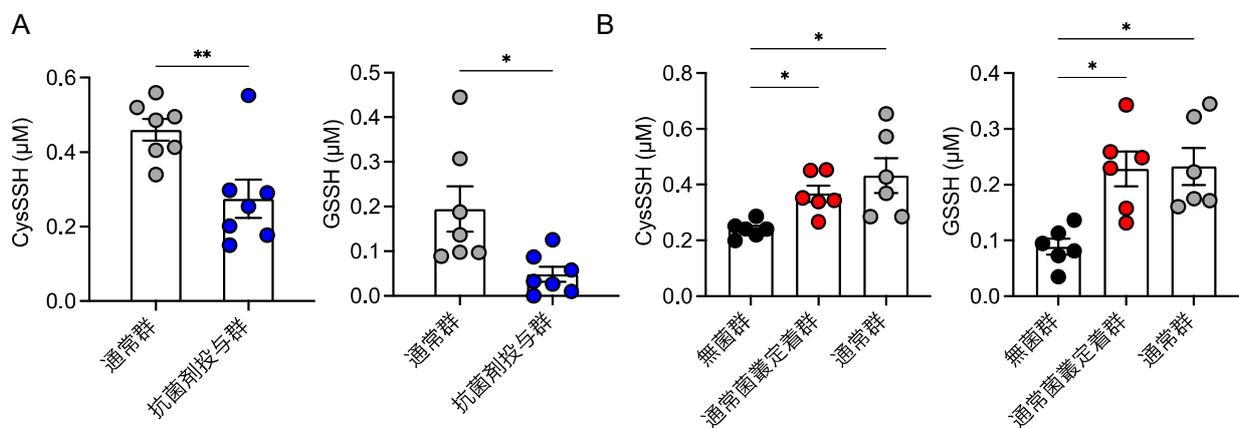


図 2. 腸内細菌は宿主の活性硫黄分子の増加に寄与している

マウス血漿中の活性硫黄分子濃度を比較しました。

(A) 通常群と抗菌剤投与群の比較

(B) 無菌群および通常菌叢定着群ならびに通常群の比較

次に、腸内細菌が直接的に活性硫黄分子を産生しているかを検討するため、マウスの糞便をメチオニン、システイン、シスチンの 3 種類の含硫アミノ酸と培養し、上清中の活性硫黄分子濃度の比較を行いました。その結果、培養上清中の CysSSH 濃度は、シスチンを添加した際に顕著に増加することが確認されました（図 3 A）。さらに、上記の活性硫黄分子産生が腸内細菌の酵素反応によるものかを検討するため、水を投与したマウス（通常群）と抗菌剤を投与したマウス（抗菌剤投与群）の糞便から、それぞれ酵素を含む高分子画分を抽出し、シスチンと反応させました。

その結果、通常群の画分を反応させた場合には、CysSSH が産生されたのに対して、抗菌剤投与群の画分を反応させた場合には CysSSH は殆ど産生されませんでした (図 3 B)。

さらに、マウスへのシスチンの経口投与により、血中の活性硫黄分子濃度が上昇しました。このシスチン投与による血中の活性硫黄分子濃度の上昇は、抗菌剤投与による腸内細菌の除去で抑制されました (図 3 C)。これらの実験結果は、腸管においてシスチンを基質として腸内細菌により産生された活性硫黄分子が宿主側へ移行している可能性を示しています。

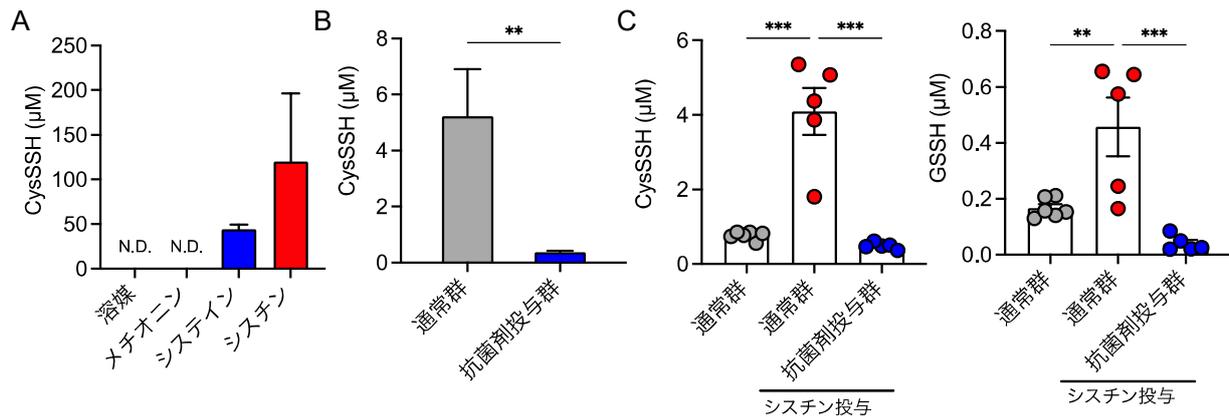


図 3. 腸内細菌はシスチンを基質として活性硫黄分子を産生する

- (A) 複数の含硫アミノ酸と糞便を培養した際の培養上清中での CysSSH 濃度
- (B) 通常群と抗菌剤投与群マウスの糞中高分子成分とシスチンとの反応による CysSSH 産生量
- (C) マウス中でのシスチンの経口投与による血中の活性硫黄分子濃度

活性硫黄分子は強力な抗酸化能を有する生体内抗酸化物質であるため、腸内細菌由来の活性硫黄分子が宿主の生体内における抗酸化能を増強させていることが考えられました。そこで、酸化ストレス性の病態モデルとして知られているコンカナバリン A 誘導性肝炎モデルを用いて、宿主の酸化ストレスに対する腸内細菌由来の活性硫黄分子の役割を検討しました。

コンカナバリン A を投与された単独投与群のマウス (コントロール群) において広範囲の壊死巣が確認されました (図 4 A 中央)。また、肝障害マーカーである血清中 ALT 値は、コンカナバリン A 投与により、コントロール群において有意に増加しました (図 4 B)。一方で、シスチン投与群では壊死巣の縮小が観察され (図 4 A 右)、血清中 ALT 値の増加も有意に抑制されました (図 4 B)。さらに、肝臓における酸化ストレスの指標として、マロンジアルデヒドの定量を行った結果、コンカナバリン A 投与による肝臓中でのマロンジアルデヒドの蓄積も同様に、コントロール群と比較して、シスチン投与群において有意に抑制されていました (図 4 C)。一方で、これらシスチン投与による肝障害抑制効果は抗菌剤投与下では確認されませんでした (図 4 D)。以上の結果より、シスチンの投与は酸化ストレス性の肝炎病態を軽減するが、この肝障害抑制効果は腸内細菌依存的であることが示唆されました。

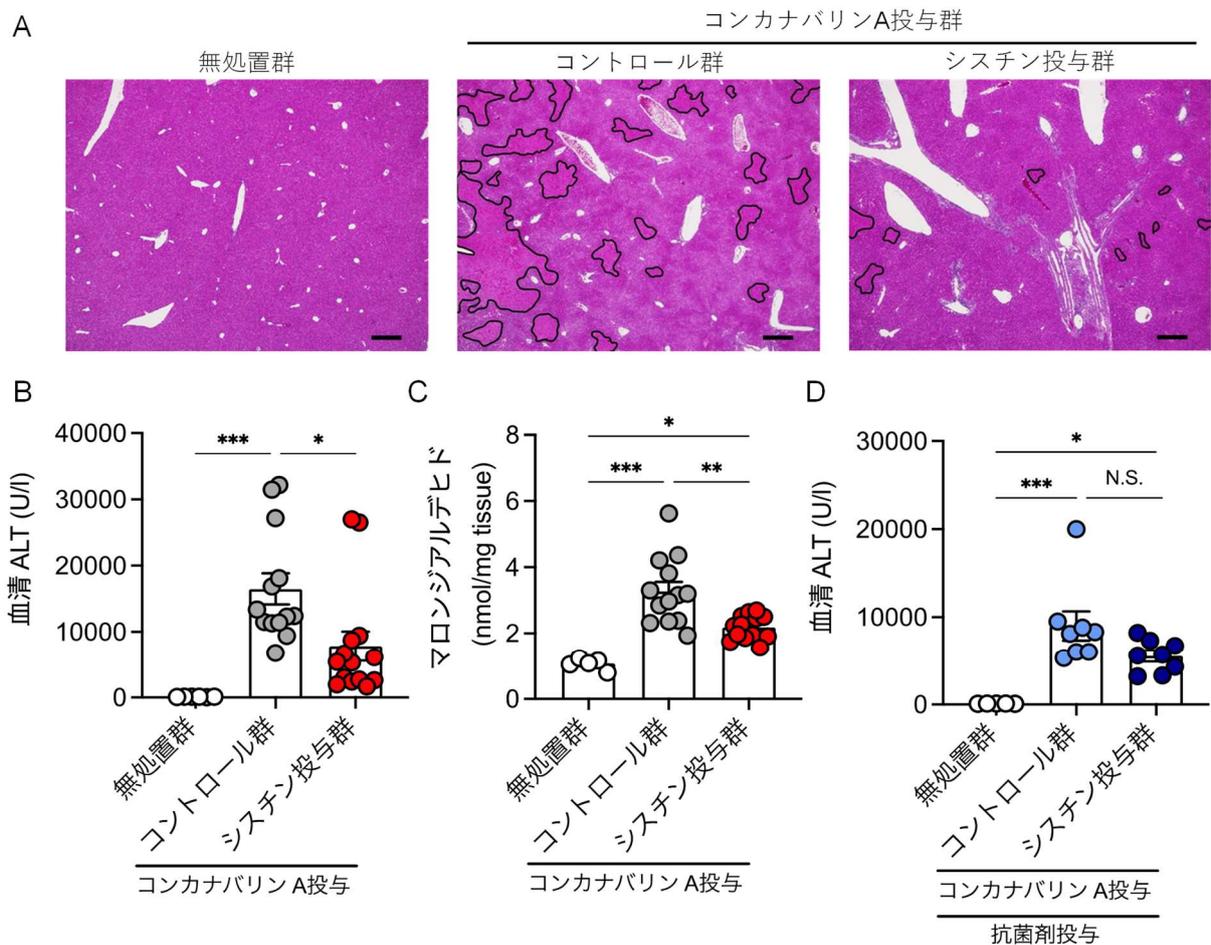


図4. シスチン投与により腸内細菌依存的に酸化ストレス性肝障害が抑制される

- (A) HE 染色による肝障害の程度の組織学的評価。黒線で囲った部分は壊死巣を示す。
- (B、D) 血清中の ALT 値
- (C) 肝臓中のマロンジアルデヒド値

最後に、活性硫黄分子を高産生する腸内細菌の探索を行うため、さまざまな腸内細菌の単菌培養においてシスチンを添加した際の培養上清中の CysSSH 濃度を測定し、CysSSH 産生能を比較しました。その結果、Ruminococcaceae 科や Lachnospiraceae 科に属する腸内細菌が高い活性硫黄分子産生能を有することを確認しました (図5)。

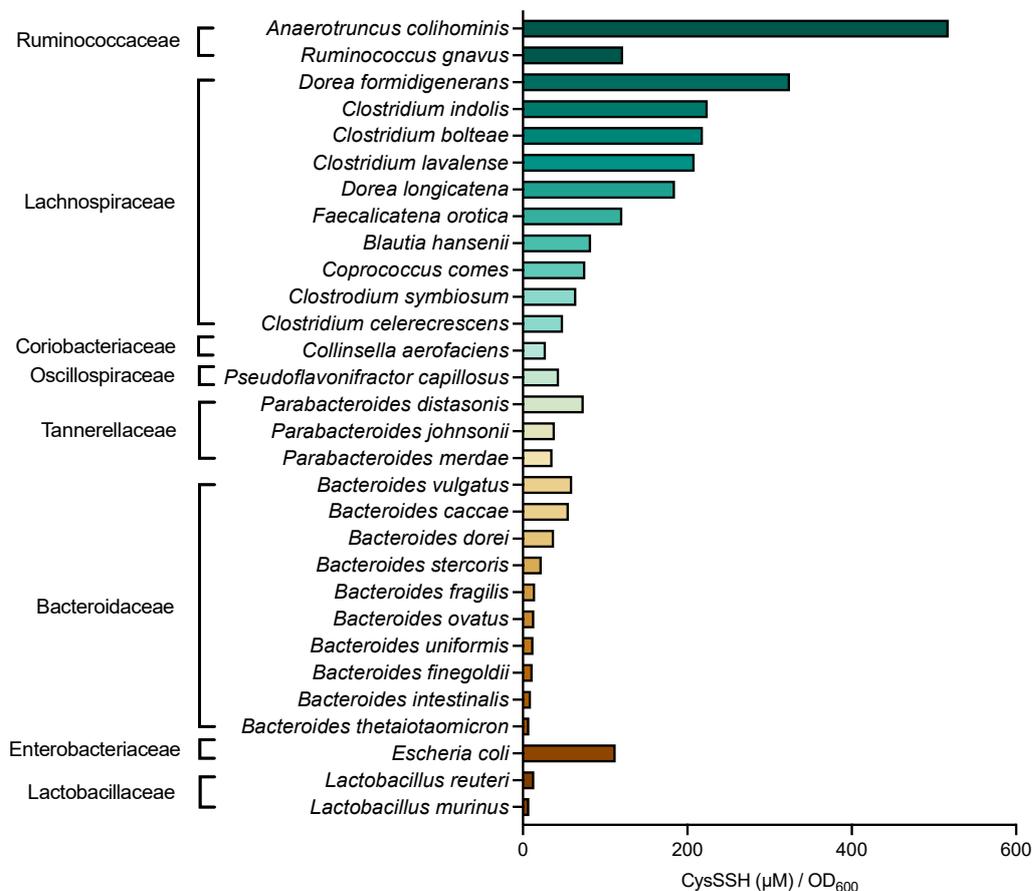


図5. Lachnospiraceae 科、Ruminococcaceae 科に属する腸内細菌は高い活性硫黄分子産生能を有する

腸内細菌の単菌培養においてシスチン添加による CysSSH 濃度を測定し、CysSSH 産生能を比較しました。

4. 結論

現代人は、食生活の悪化、運動不足・高負荷の運動、過労やストレス、電磁波・放射線・水質汚染をはじめとする環境汚染などにより、高い酸化ストレス環境に置かれているといえます。この酸化ストレスから身を守るために、生体では抗酸化物質・抗酸化酵素などが作られていることが知られていました。本研究では、これら生体の抗酸化分子に加えて、私たちと共生関係にある腸内細菌叢が活性硫黄分子を産生・供給することにより酸化ストレス防御に貢献していることが新たに分かりました。

腸内細菌叢が我々の生理機能や疾患と深く関わっていることが近年次第に明らかになってきましたが、本研究では宿主の酸化ストレス防御能を増強するという、腸内細菌叢の新たな機能を発見することができました。

今後は個体の抗酸化作用を増強する腸内細菌やこれらの細菌の機能を向上させる物質などの臨床応用に向けた研究の進展が期待されます。

5. 論文情報

〈タイトル〉 Gut Microbiota Reinforces Host Antioxidant Capacity via the Generation of Reactive Sulfur Species.

〈著者名〉 Jun Uchiyama, Masahiro Akiyama*, Koji Hase, Yoshito Kumagai, and Yun-Gi Kim* (*責任著者)

〈雑誌〉 『Cell Reports』

〈DOI〉 10.1016/j.celrep.2022.110479

<用語説明>

- (注1) 腸内細菌叢：ヒトの腸管内には百数十種類、100兆個ほどの細菌が絶えず増殖を続けている。これらは腸内細菌と呼ばれ、複雑な生態系を構築している。この腸内細菌集団のことを腸内細菌叢と呼んでいる。
- (注2) 酸化ストレス：酸化力（活性酸素種）が抗酸化力（抗酸化物質および抗酸化酵素）を上回った状態をいう。
- (注3) 活性硫黄分子：システイン (CysSH) やグルタチオン (GSH) のチオール (SH) 基にイオウ原子が付加したシステインパースルフィド (CysSSH) やグルタチオンパースルフィド (GSSH) のようなポリスルフィド構造を持つ化合物であり、通常チオール化合物に比べ、高い求核性/抗酸化能を示す。また、近年は抗酸化作用だけでなく、エネルギー産生、抗炎症作用やタンパク質の硫黄修飾を介した品質管理・シグナル伝達などの幅広い生物学的機能を有することが明らかにされてきており、超硫黄分子の総称でも呼ばれている。
- (注4) シスチン：システインが酸化されて2分子結合した含硫アミノ酸の一種。
- (注5) チオール化合物：水素化された硫黄 (SH) を末端に持つ有機化合物で、R-SH (Rは有機基) で表される構造を持つ。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

<研究内容についてのお問い合わせ先>

慶應義塾大学薬学部 創薬研究センター

教授 金 倫基 (きむ ゆんぎ)

TEL : 03-5400-2624

E-mail : ykim@keio.jp

<本リリースの配信元>

慶應義塾広報室 (若原)

TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

Email : m-pr@adst.keio.ac.jp

<https://www.keio.ac.jp/>