

特集

炎症性腸疾患と腸内環境 ～腸内細菌由来の *nanA* 遺伝子との関連について～

長坂 光夫*

内容紹介

炎症性腸疾患 (IBD) は原因不明の難治性慢性腸炎を来す疾患である。次世代シーケンサーを用いた遺伝子レベルでの網羅的解析が可能になり腸内細菌叢の構成や機能が解明され IBD の病態に腸内細菌叢の関与が示されるようになった。腸粘膜バリアの破綻、粘液層 (ムチン) の減少に腸内細菌 *Ruminococcus gnavus* の関与が示され IBD においてその割合が著しく増加していることが報告されている。N-アセチルノイラミン酸 (N-acetylneuraminic acid) 遺伝子は腸内細菌が持つシアル酸 (ムチン由来糖) を分解する代謝経路 (*nan* 遺伝子クラスター) の中心酵素である N-acetylneuraminic acid lyase をコードする。これによりムチン (腸粘液層) の糖鎖を分解、炭素源として利用し腸粘膜バリアに影響すると考えられる。潰瘍性大腸炎 (UC) 患者では健常対照群と比較して *nanA* の有意な上昇を認め、その関連性が示された一方で 16S rRNA 遺伝子解析では *R. gnavus* の有意な増加は検出されず UC の病態において細菌の種類ではなく機能遺伝子レベルでの評価の重要性が強調された。

はじめに

炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease : IBD) は潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis : UC) と Crohn 病 (Crohn's disease : CD) に代表される原因不明の難治性慢性腸炎を来す疾患で、治療にはサイトカインをターゲットとした分子標的治療が奏功している¹⁾。近年、次世代シーケンサーを用いた培養を用いない遺伝子レベルでの網羅的解析が可能になり腸内細菌叢の構成や機能が解明され IBD の病態に腸内細菌の関与が多数報告されるようになった。ヒトの腸管には数百種類、100 兆個以上の腸内細菌が存在し、腸内環境を維持することで感染防御やエネルギーの供給に寄与し、更には腸内細菌が腸管上皮細胞や免疫細胞 (免疫グロブリン、サイトカイン) の分化・誘導に関与していると考えられる¹⁾。

UC において腸粘膜バリアの破綻、粘液層 (ムチン) の減少・異常、腸内細菌による粘液層へのアクセス増加、慢性炎症の持続を認め、ムチンの減少に腸内細菌 *Ruminococcus gnavus* の関与が報告された。健常腸管では *R. gnavus* は腸内細菌叢の約 0.1% を占めるに過ぎないが、IBD 患者ではその割合が著しく増加し最大で 69% に達することが報告されている²⁾。

nanA 遺伝子は腸内細菌が持つシアル酸 (ムチン由来糖) を分解する代謝経路 (*nan* 遺伝子クラスター) の中心酵素で N-acetylneuraminic acid lyase をコードする。これによりムチンの糖鎖を分解、炭

— Key words —

炎症性腸疾患, 腸内細菌, dysbiosis, *nanA* 遺伝子* Mitsuo Nagasaka : 藤田医科大学医学部消化器内科学講座
准教授

素源として利用し腸粘膜バリアに影響すると考えられ、UC患者では健常対照群と比較して*nanA*の有意な上昇を認めその関連性が示された¹³⁾。

I. 腸内細菌

1. 腸内細菌と腸内フローラ

ヒトの消化管に存在する100兆個に及ぶ細菌は分子生物学的解析法により腸内細菌叢(gut microbiota)が数百種類の細菌でコロニーを形成していることが明らかになった。腸内細菌の99%以上が、*Firmicutes* (約60%)、*Bacteroidetes* (約20%)、*Proteobacteria*、*Actinobacteria*の4つの門に属しており³⁾、食物などにより消化管に入った外来菌、特に病原菌は常在している細菌が構成する腸内フローラにより排除される。宿主であるヒトと腸内細菌叢が共生することで生命・健康が維持されており腸内細菌叢の恒常性が保たれている。その状態をsymbiosis、腸内細菌叢の菌種の構成や菌種数・菌数の異常を来した状態をdysbiosisと呼び、このdysbiosisの状態が様々な疾患や病態を惹起すると考えられている。

2. 腸内細菌の役割

腸内細菌は食物からのエネルギー摂取に関わる多くの酵素を備えており、エネルギー摂取において腸内細菌が重要な役割を果たしている³⁾。腸内細菌が存在しない無菌マウスに腸内細菌を移植させると急速な体重増加がみられることから、食物からの栄養吸収に腸内細菌が重要な役割を果たしていることがわかる。腸内細菌は食物繊維を嫌氣的に発酵分解して上皮細胞の増殖や粘液分泌機能、水やミネラルの吸収のためのエネルギーとして利用される短鎖脂肪酸を産生する重要な機能を有する⁴⁾。

また、腸内細菌は免疫細胞(免疫グロブリン、サイトカイン)の分化・誘導に関与しており、大腸の制御性T細胞の誘導には酪酸(*Clostridium*属が食物繊維を分解して生じる)が重要な役割を果たしている⁵⁾。制御性T細胞はヘルパーT細胞のサブセットで、自己免疫やアレルギーといった病的免疫応答を制御してT helper 1 (Th1)細胞

とT helper 2 (Th2)細胞のバランスを保ち、免疫恒常性の維持に重要な役割を果たしている。制御性T細胞はT helper 17 (Th17)細胞を誘導し炎症増悪に関与するinterleukin (IL) -17やIL-22を分泌する。

II. 腸内細菌とIBD

1. IBDと腸内細菌の関わり

IBDはUCとCDに代表される難治性の慢性腸炎を来す疾患であり世界的にも近年急速にその患者数が増加している。多くの研究がなされつつもその原因は解明されておらず、それ故に根本治療がなく完治が困難であり厚生労働省の難病に指定されている。近年、免疫学的研究、ゲノムワイド関連解析(genome wide association study: GWAS)の発展によりIBDの病態形成において腸内細菌が重要な役割を果たしていることが数多く報告され⁴⁾、病因・病態の解明や病因に迫る新たな治療が期待されている。UCとCDを比較すると多くの報告がCDに関するものであり、CDでは細菌の認識・処理に関与する遺伝子、UCでは粘膜バリア機能に関連する遺伝子との相関が強い。2001年に報告された*NOD2/CARD15*はCDと強い相関が示された²⁰⁾。*NOD2*はグラム陽性菌の壁細胞構成成分である*muramyl dipeptide (MDP)*を認識する受容体である。*ATG16L*や*IRGM*といったオートファジーに関連した遺伝子もCD疾患感受性遺伝子として報告され、細胞質内に侵入した細菌の処理にも関与していることからCDにおいては腸内細菌関連遺伝子の異常が発症につながる可能性が示唆されている。

CDは細菌叢多様性の低下を示し、CDにおいて*Clostridium*や*Bacteroides*が減少し*R. gnavus*、*Escherichia coli (E. coli)*が増加していることが報告されている。*Clostridium*属の低下、特に*Faecalibacterium prausnitzii (F. prausnitzii)*の低下は酪酸の産生不全につながり炎症の惹起・増悪の可能性が示唆される。*Ruminococcus*は*Firmicutes*門の構成菌でありこの細菌は粘液分解に関わることで腸管上皮を覆う粘液を減少させ腸管炎症の増悪につながるとされている。また、

E. coli を含む *Enterobacteria* 科の増加は Th17 細胞を誘導し IBD の発症、持続に関わっていると考えられる。生後 1 年以内の抗菌薬の投与が有意に CD の発症率を上げること⁶⁾からも dysbiosis が CD 発症に関与している可能性を示唆している。IBD 特有の dysbiosis を来す細菌として *Adhesive-invasive E. coli* (AIEC) は CD の回腸粘膜に生着が報告されており、AIEC はマクロファージからの腫瘍壊死因子 α (tumor necrosis factor α : TNF α) 産生に関与している。*Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (MAP) は CD で高頻度に検出される。*Fusobacterium varium* (*F. varium*) は UC において潰瘍部の粘膜に侵入⁴⁾することで増悪を来し、*F. varium* に対して感受性のあるアモキシシリン (amoxicillin)、テトラサイクリン (tetracycline)、メトロニダゾール (metronidazole) 3 種類の抗生剤を 2 週間投与する ATM 療法は UC に対する有効性が報告されている。

2. IBD と *nanA* 遺伝子

腸内細菌の一部は、ムチンを分解し、その構成糖をエネルギー源として利用する能力を獲得している。この過程には *nan* 遺伝子群によりコードされる一連の酵素が関与しており、特に *R. gnavus* において報告⁷⁾されている。*R. gnavus* はかつては *Ruminococcus* 属に分類されていたが、近年では *Lachnospiraceae* 科の *Mediterraneibacter* 属へ再分類されている⁸⁾。

腸内環境の恒常性は、腸管内を覆うムチン層に依存している。ムチンはゲル状の糖タンパク質であり消化管粘膜表面に粘液層を形成し、病原体に対する防御バリアとして機能するとともに、円滑な消化を補助する。健常な腸管はムチン産生と腸内細菌叢によるムチン分解との間の精緻なバランスを保つことによって維持されている⁹⁾。このバランスが破綻すると粘液バリアの崩壊を惹起し細菌由来抗原の腸粘膜への侵入を来して炎症応答を誘導する。これは、IBD に代表される炎症性腸疾患の特徴的病態である。

nan 遺伝子クラスターの主要遺伝子である

nanA は、N-アセチルノイラミン酸リアーゼをコードし、シアル酸(9炭素糖)をピルビン酸(3炭素ケト糖)および N-アセチルマンノサミン(6炭素アミノ糖)へと分解する酵素を産生する⁷⁾。*nan* 遺伝子群に依存する当該代謝経路は腸管バリア機能の破綻、すなわち「リーキーガット」の誘導に関与し、結果として免疫異常の発症に寄与する可能性が示唆されている。

加えて、腸内細菌叢および腸管透過性の亢進は、免疫系のみならず精神疾患や行動異常にも影響を及ぼすことが報告されており、腸内環境と精神的健康との間に密接な関連が存在することが示されている^{10,11)}。

健康な個体において *R. gnavus* は腸内細菌叢の約 0.1% を占めるに過ぎないが、IBD 患者ではその割合が著しく増加し、最大で 69% に達することが報告されている²⁾。*R. gnavus* はグルクロムナンなどの炎症誘導性多糖を産生し、宿主の Toll 様受容体 4 (Toll-like receptor4 : TLR4) を介して樹状細胞を活性化することが知られている。この活性化は腫瘍壊死因子 α (TNF- α) や IL-6 などの炎症性サイトカイン産生を誘導し IBD 病態形成に関与する可能性がある¹²⁾。

Nagasaka ら¹³⁾ は UC 患者 45 例の糞便 DNA を用いて qPCR 解析を実施し、UC 群において *nanA* は健常対照群と比較して有意に上昇しており *nanA* が UC を含む免疫疾患の臨床状態を反映する指標となりうることを示した。一方で 16S rRNA 遺伝子解析では *R. gnavus* の有意な増加は検出されないことを報告し、機能遺伝子レベルでの評価の重要性と腸内細菌叢における *nanA* を指標とした qPCR 解析は、従来の分類学的解析では捉えにくい機能的細菌動態を反映し、免疫疾患および精神・行動異常のリスク評価における新規バイオマーカーとして有用である可能性を示した。

3. IBD 治療における腸内細菌の関わり

腸内細菌に関わる IBD 治療はプロバイオティクスと糞便微生物移植 (fecal microbiota transplantation : FMT) が主な治療である。プロ

バイオティクスとしてIBDに対して乳酸菌、ビフィズス菌の投与が一般的に行われている。さらにdysbiosisを改善する治療法として2013年に再発性*Clostridium difficile*感染症に対する無作為割付比較試験の結果、無再発治癒率はバンコマイシンによる治療群に比してFMTによる治療群が有意に高かったと報告された¹⁴⁾。以降のランダム化比較試験やsystematic reviewによると単回のFMTによって60~90%が再発せずに治癒すると報告されている^{15, 16)}。FMTは健常人の腸内細菌叢を便という形で移植することによってdysbiosisを改善させることを目的とした治療で、1989年にUCに対するFMTが報告された¹⁷⁾。現在ではより患者受容性の高い投与方法としてカプセル化によるFMTが試みられている¹⁸⁾。その後本邦でもIBDに対するFMTが各施設で試験的に施行されたが再発性*Clostridium difficile*感染症に対しては一定の治療効果を示したもののIBDに対しては有効な結果を見出せなかった。IshikawaらはFMT前に前投薬としてアモキシシリン、ホスホマイシン、メトロニダゾールの抗菌薬併用療法(AFM療法)を行うことでFMTによるUCの寛解率が53%であったと報告している¹⁹⁾。CDに対するFMTの報告はあるものの限定的である。

おわりに

近年の腸内細菌叢の解析技術の進歩によりIBDにおけるdysbiosisと疾患の関連が明らかになった。しかしながらIBDは遺伝的素因をベースに食事抗原、環境因子などが加わり発症する多因子疾患であるため個々の症例により病態が異なり、腸内細菌叢の変化は原因か過程か結果かという議論に遡ることになる。現在IBD治療の中心である抗サイトカイン療法を中心とした分子標的薬治療で患者QOLは格段に改善したものの、根本治療ではないため治癒は困難で未だ治療に難渋する症例も少なくはない。腸内細菌叢を中心とした更なる病態・病因の解明により病期の進行を制御する治療、更には発症を予防する治療が開発されることを期待する。

謝辞

本稿を終えるにあたり腸内細菌叢の解析にご尽力頂いた藤田医科大学プレ・プロバイオティクス研究講座(共同研究講座)藤井匡准教授、栃尾巧教授。同講座責任者廣岡芳樹教授。検体の収集および症例の登録にご尽力頂いた藤田医科大学医学部消化器内科学講座鎌野俊彰講師、平山裕講師、大野栄三郎主任教授に深謝申し上げます。

利益相反

本論文に関して筆者らに開示すべきCOIはない。

文献

- 1) 長坂光夫：特集・下部消化管のトピック 腸内細菌と炎症性腸疾患. 現代医学 2024 ; 71 巻 1 号 : 59-62.
- 2) Hall AB, et al : A novel *Ruminococcus gnavus* clade enriched in inflammatory bowel disease patients. *Genome Medicine* 2017 ; 9(1) : 103.
- 3) 安藤朗：新たな臓器としての腸内細菌叢. 日消誌 2015 ; 112 : 1939-1946.
- 4) 安藤朗：炎症性腸疾患の病態と腸内細菌の関わり. 日内会誌 2016 ; 106 : 466-471.
- 5) Furusawa Y, et al : Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 2013 ; 504 : 446-450.
- 6) 新井万里：腸内細菌と内科疾患：IBD および IBS における腸内細菌の関与. 日内会誌 2015 104 : 35-41.
- 7) Kim, J, et al : Bacterial sialic acid catabolism at the host-microbe interface. *Journal of Microbiology* 2023 ; 61(4), 369-377.
- 8) Lawson PA, et al : Reclassification of *ruminococcus obeum* as *blautia obeum* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2015 ; 65(3), 789-793.
- 9) Ma T, et al : Targeting gut microbiota and metabolism as the major probiotic mechanism-An evidence-based review. *Trends in Food Science & Technology* 2023 ; 138 : 178-198.
- 10) Vuong HE, et al : The microbiome and host behavior. *Annual Review of Neuroscience* 2017 ; 40 : 21-49.
- 11) Watanabe N, et al). Effect of gut microbiota early in life on aggressive behavior in mice. *Neuroscience Research* 2021 ; 168 : 95-99.
- 12) Henke MT, et al : *Ruminococcus gnavus*, a member of the human gut microbiome associated with Crohn's disease, an inflammatory polysaccharide. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2019 ; 116(26) : 12672-12677.

- 13) Nagasaka M, et al : Assessment of risk for immune and psychiatric disorders using qPCR-based monitoring of the nan gene in gut microbiota : A non-invasive approach. *Microbiology Research Journal International* 2024 ; 34(11) : 107-119.
- 14) Van Nood E, et al : Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 368 : 407- 415 : 2013.
- 15) Kelly CR, et al : Effect of fecal microbiota transplantation on recurrence in multiply recurrent *Clostridium difficile* infection : a randomized trial. *Ann Intern Med* 2016 ; 165 : 609-616.
- 16) Lee CH, et al : Frozen vs fresh fecal microbiota transplantation and clinical resolution of diarrhea in patients with recurrent *Clostridium difficile* infection : a randomized clinical trial. *JAMA* 2016 ; 315 : 142-149.
- 17) Bennet JD, et al : Treatment of ulcerative colitis by implantation of normal colonic flora. *Lancet* 1989 ; 1 : 164.
- 18) Kao D, et al : Effect of oral capsule- vs colonoscopy delivered fecal microbiota transplantation on recurrent *Clostridium difficile* infection : a randomized clinical trial. *JAMA* 2017 ; 318 : 1985-1993.
- 19) Ishikawa D, et al : Changes in intestinal microbiota following combination therapy with fecal microbial transplantation and antibiotics for ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2017 ; 23 : 116-125.
- 20) Hugot JP, et al : Association of *NOD2* leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001 ; 411(6837) : 599-603 ,