

消化管ムチンを食べるビフィズス菌

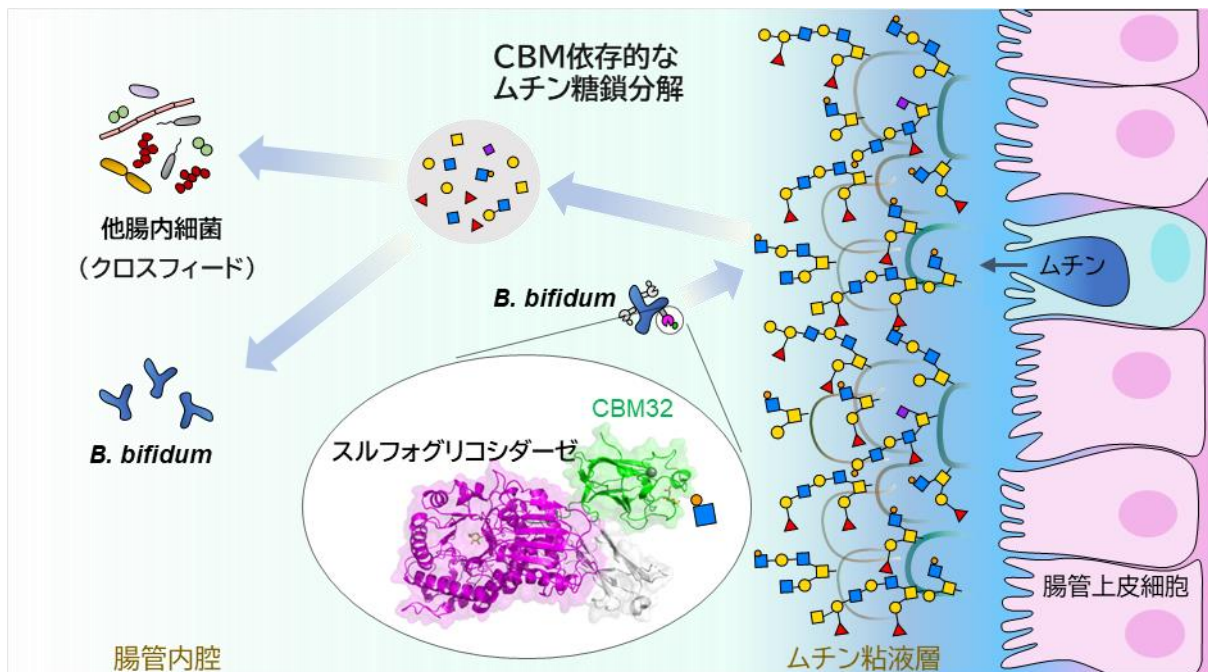
—ビフィズス菌が有する硫酸化ムチン分解酵素の発見—

概要

我々の健康や疾患に深く関与する腸内細菌叢は、食に含まれる成分だけでなく腸管上皮細胞から分泌される粘液由来の成分によっても影響を受け、その菌叢組成が変動します。特に、粘液の主成分であるムチンは腸内細菌の栄養源となる多くの糖鎖を有するため、この糖鎖がどのように腸内細菌に利用され菌叢に影響を及ぼすのかその代謝メカニズムの解明が待たれていました。

今回、加藤紀彦 京都大学大学院生命科学研究科助教および片山高嶺 同教授は、伏信進矢 東京大学大学院農学生命科学研究科教授、木村郁夫 京都大学大学院生命科学研究科教授らと共に、ヒト常在性ビフィズス菌 *Bifidobacterium bifidum* 由来の酵素スルフォグリコシダーゼ (BbhII) に関して、マウスを用いた生体内機能解析、ヒト糞便の解析、およびタンパク質 X 線構造解析によって、本酵素依存的な硫酸化ムチン糖鎖の分解機構について明らかにしました。さらにムチン分解性の腸内細菌には CBM 依存的にムチンを分解するグループがあることを見出し、腸内ムチン分解様式にあらたな概念を提唱しました。本研究結果はヒト腸管から分泌されるムチンの腸内細菌叢形成への関与の一端を明らかにするもので、より健康な社会づくりへの基盤的知見を提供すると期待されます。なお、本研究は東京大学、西オーストラリア大学、ワーゲニンゲン大学、北里大学、近畿大学、滋賀県立大学との共同研究で行われました。

本成果は、2023年3月2日に国際学術誌「*Nature Chemical Biology*」にオンライン掲載されました。



1. 背景

腸管にはおびただしい数の腸内細菌が生息しています。腸管内腔の粘膜組織は粘液でおおわれていますが、この粘液（主成分：ムチン^{注1}糖タンパク質）は、腸内細菌の体内への侵入を防ぐバリア機能を有すると同時に、腸内細菌を育むエサとしての機能があると近年の研究から考えられるようになってきました。さらにムチンの糖鎖^{注2}が特定の菌によって分解・利用されることで、菌叢から短鎖脂肪酸類が産生され、ヒトの腸管粘膜免疫の恒常性に寄与するとの報告もあります。しかし、実際に各菌の分解性について検討した例は少なく、また分解抵抗性を付与するとされる糖鎖の硫酸化修飾について、分解菌がどのように対処するのかについても詳細は不明でした。そこで我々は、プロバイオティクスであり、また糖鎖分解酵素を多く持つことも知られているビフィズス菌 *Bifidobacterium bifidum* に焦点を当てて、実際の腸管におけるムチン分解性の検討と硫酸化ムチン分解の鍵酵素（スルフォグリコシダーゼ^{注3}）について解析を行いました。

2. 研究手法・成果

マウスを用いた動物実験において、*B. bifidum* の経口投与によって盲腸や糞便中の遊離糖やムチン糖鎖のプロファイルが変化すること、特に *B. bifidum* のみを定着させたノトバイオームマウス^{注4}においてはムチン糖鎖の量が大幅に減少することを認めました。一方で、スルフォグリコシダーゼの欠損株を投与した場合には反応産物（6位硫酸化 *N*-アセチルグルコサミン）の遊離量が減少し、ムチン分子上に硫酸化糖鎖が残されたままとなっていることを見出しました。さらには、ヒト糞便サンプルにおいてもスルフォグリコシダーゼ遺伝子量とその反応産物量の間には正の相関性が認められたことから、ヒト腸管においても *B. bifidum* のムチン糖鎖分解が起こっていることが強く示唆されました。また反応産物は *Bacteroides* 属細菌などに利用されていることも示唆されました（異種間クロスフィーディング）。一方、スルフォグリコシダーゼのX線結晶構造解析と生化学的解析の結果、本酵素が硫酸化糖を特異的に認識すること、さらに本酵素中のCBM32ドメインが硫酸化糖を認識・結合することを見出しました。また、このCBM32の結合性を失うとムチン糖鎖の分解性が大きく低下することも明らかにし、CBM32によるムチン糖鎖への結合は本酵素のムチン糖タンパク質への作用にとって非常に重要であることを明らかにしました。加えて、ムチン分解性を示す腸内細菌にはムチン結合性のCBMを多く持つグループとそうではないグループに分類できること、また、比較ゲノム解析によってエンド *O*-グリカナーゼ（glycoside hydrolase family 16 subfamily 3）がこれらグループ間をわける鍵酵素であることも見出しました。エンド *O*-グリカナーゼを持たない *B. bifidum* は、CBM依存的なムチン糖鎖分解様式を示し、スルフォグリコシダーゼを介する硫酸化糖鎖分解経路を有することを見出しました。

3. 波及効果、今後の予定

「腸活」という言葉を耳にすることが増えたことから明らかなように、腸内細菌と体の関係は現代人の関心の的です。「腸内細菌を整える」と簡単にいってもその裏側にあるヒト腸管と微生物群のやり取りは大変複雑で未だに分からないことがほとんどです。本研究結果はヒト腸管から分泌されるムチンの腸内細菌叢形成への関与の一端を明らかにするもので、より健康な社会づくりへの基盤的知見を提供すると期待されます。ムチンは腸内に共生細菌を維持・制御するための宿主（ヒト）タンパク質で、その仕組みにはまだまだ未知の現象があります。今後もムチンが仲介するヒトと微生物の共生の仕組みを理解するための研究に取り組んでいきたいと考えています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、若手研究 (B)「腸内細菌由来スルフォグリコシダーゼと硫酸化ムチンの共生における機能解明と応用研究」、基盤研究 (C)「ムチン資化性菌由来スルフォグリコシダーゼの機能解明と酵素の応用的展開」、公益財団法人発酵研究所一般助成「ビフィズス菌がヒト腸内に定着するために重要なスルファターゼ遺伝子の役割の解析」等の支援を受けて行われました。

<用語解説>

注¹ ムチン

動物が産生する糖タンパク質で、多数のムチン型糖鎖修飾を持つものの総称。膜結合型と分泌型が存在する。粘液の主成分として知られる。

注² 糖鎖

糖がグリコシド結合を介してつながったものの総称。タンパク質や脂質に付加された複合糖質として存在し、なんらかの生理的機能性をもつ場合が多い。様々なタイプが存在するが、ムチンにはセリン・スレオニンの側鎖に付加されるムチン型糖鎖が多く含まれる。

注³ スルフォグリコシダーゼ

糖質加水分解酵素（グリコシダーゼ）のうち、硫酸基修飾を持つ糖を遊離する活性をもつものの総称。

注⁴ ノトバイオートマウス

無菌マウスに特定の菌のみを定着させたマウスのこと。

<論文タイトルと著者>

タイトル A bacterial sulfoglycosidase highlights mucin O-glycan breakdown in the gut ecosystem (細菌由来スルフォグリコシダーゼの解析から明らかになった腸管におけるムチン糖鎖分解メカニズム)

著者 Toshihiko Katoh, Chihaya Yamada, Michael D. Wallace, Ayako Yoshida, Aina Gotoh, Moe Arai, Takako Maeshibu, Toma Kashima, Arno Hagenbeek, Miriam N. Ojima, Hiromi Takada, Mikiyasu Sakanaka, Hidenori Shimizu, Keita Nishiyama, Hisashi Ashida, Junko Hirose, Maria Suarez-Diez, Makoto Nishiyama, Ikuo Kimura, Keith A. Stubbs, Shinya Fushinobu, and Takane Katayama

掲載誌 *Nature Chemical Biology*

DOI 10.1038/s41589-023-01272-y