

研究課題名 ヒト-微生物共生系の遺伝子解析および利用  
所属研究機関名 独立行政法人 産業技術総合研究所  
研究者氏名 古賀 隆一

## 研究計画の概要

### 研究の趣旨・目的

国民の健康の維持・増進、老化抑制を図ることは医療費の増大を抑制するのみでなく、さらには経済・分化いずれの面でも活力のある国を保つための根本的課題である。この課題を解決するためには、これまでのような対処療法のみでなく、予防医学的な方法にも目を向ける必要があり、実際にその要望が高まっている。中でも共生微生物とヒトの相互作用はヒトの一生を通じて続くため、その健康や老化に与える影響は甚大である。それゆえ、この関係を改変・改善するような食品成分や医薬品などを開発することは、ヒトの健康増進・老化抑制のために重要な方策であると思われる。このような生理活性物質を開発するためには、微生物・ヒト間相互作用をさまざまなアプローチから解析する必要がある。これまでに生理・生化学レベルでは詳細な解析がなされてきたものの、遺伝子レベルでの解析はほとんどなされてこなかった。これは微生物とヒトとの相互作用が、複数の生物および膨大な数の遺伝子が関与する非常に高度な生命現象であるため、解析が非常に困難であったためである。しかし、昨今のヒトゲノムシーケンスの解明、バイオインフォマティクスの急進展、また遺伝子発現変化を包括的に解析できる技術の開発により、高度な生命現象を解明することが出来るようになった。そこで本研究では、微生物とヒトの共生系をヒトの培養細胞をモデル系として DNA マイクロアレイなど包括的に遺伝子レベルで解析できる新規な手法を用いて解析、炎症反応やがんなどヒトの健康や老化にかかわる生命現象に関わる遺伝子群と微生物との関係を見出すこと、共生系の構築・維持に関するヒト遺伝子群を同定することを目的とした。また、得られた結果を利用したヒトと微生物の関係改善する生理活性物質開発の可能性も探る。

### 研究計画の概要

本研究課題は大きく二つの段階からなる。第1期は微生物との相互作用によってどのようなヒト遺伝子が発現変化するかを DNA マイクロアレイを中心とした解析によって明らかにするのを目標としている。具体的にはヒト腸管由来の培養細胞とさまざまな微生物を相互作用させ、そのときにヒト培養細胞側で起こる遺伝子発現変化を DNA マイクロアレイで特徴付ける。得られた遺伝子発現パターンをバイオインフォマティクスの手法により解析して特徴的な発現変化を示した遺伝子群を抽出、この中で特に注目すべき遺伝子については定量 PCR 等により詳細に解析し、ヒト-微生物間相互作用に関連する遺伝子群のカタログを作成する。

第2期はこのカタログを利用して、炎症反応やがんなど特定の生命現象と微生物との関係を見出すこと、さらには微生物を介したヒトの健康増進や老化抑制に有効なプロバイオティクスや生理活性物質のスクリーニング系を開発することを目標としている。DNA マイクロアレイで得られたデータを遺伝子が関与する細胞機能や生命現象を基準として整理・再解析し、処理した微生物との関係を推定、組織化学的手法や分子生物学的手法を用いてより詳細に解析し、この微生物と特定の細胞機能や生命現象との関係を見出す。また、これら細胞機能や生命現象の主要遺伝子の発現変化を迅速・簡便に評価できる方法を模索し、微生物を介したヒトの健康増進・老化抑制に効果のある食品成分や薬剤などの生理活性物質の新規スクリーニング法の開発を目指す。

研究計画の詳細報告

(単位:百万円)

研究項目	所要経費					
	13年度	14年度	15年度	16年度	17年度	合計
1. 宿主細胞と微生物相互作用時における遺伝子発現パターンの解析・類型化	19.5	16.4	9.0			44.9
(1)DNA マイクロアレイ実験・解析装置設置	12.5	2.4				14.9
(2)DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析	7.0	11.4	8.5			26.9
(3)遺伝子発現パターン解析		2.6	0.5			3.1
2. 微生物との相互作用により発現変化する遺伝子群の同定			3.0			3.0
(1)候補遺伝子選定			0.5			0.5
(2)候補遺伝子群発現特異性評価			2.5			2.5
3. 特定の生命現象と微生物との関連調査			1.0			1.0
(1)分子生物学的手法を用いた解析			0.5			0.5
(2)組織化学的手法を用いた解析			0.5			0.5
4. 標的遺伝子発現変化を利用した生理活性物質スクリーニング法開発						
(1)評価対象となる遺伝子の選出						
(2)遺伝子発現変化評価法の検討						
所要経費(合計) (間接経費を含む)	19.5	16.4	13.0			48.9

## .研究成果の概要

### 研究成果の概要

ヒト-微生物間相互作用に関係するヒト遺伝子群の同定とい第1期の目標を達成すべく、まず供試細胞・微生物を選定した。その後、微生物処理条件・DNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析法等の最適化を行った。DNAマイクロアレイは感度や再現性があまりよくないといわれているが、この条件検討・最適化により比較的高感度で再現性良く遺伝子発現変化を評価できるようになった。この条件を用いて9種の細菌に対するヒト細胞の応答、加えて細胞の分化および薬剤処理に伴う変化も合わせて遺伝子発現レベルで評価した。その結果、それぞれに特徴的な遺伝子発現パターンを得ることができた。得られた遺伝子発現パターンを類似度に基づいた階層型クラスタリング解析にかけたところ、薬剤処理や分化に伴う変化と微生物との相互作用によるものと異なることを強く示唆する結果を得ることができた。また炎症反応やがんなどの生命現象に関連した遺伝子群が処理した細菌に応じて差分発現変化を起こすことが示唆された。そのため、いくつかの遺伝子について定量PCRによる発現変化評価系を構築、予備的な発現解析を行ったところ、DNAマイクロアレイの結果を裏付けることができた。第1期で得られる一連の成果は第2期の研究の基礎となるものであり、この部分の正確性や網羅性によって今後の研究の精度や展開の幅が決まってくる。そのため予想以上に手間取ってしまったものの、強固な基礎を構築できる条件を見ることができたと考えている。また、当初の予定には無かったがDNAマイクロアレイデータの解析ソフトウェアも開発した。

### 波及効果、発展方向、改善点等

昨今、様々な生物の全ゲノムが決定されつつあるが、大半の遺伝子の機能は不明である。生物は他者との関わりを通じてのみ生存可能であることを考えると、この相互作用に関与する遺伝子が機能未知とされている遺伝子群に多数含まれていることは想像に難くない。これらの機能は本研究課題のように他者との相互作用の解析を念頭においた研究でのみ解明可能である。事実、微生物処理による機能未知遺伝子の発現変化がDNAマイクロアレイにより示唆されている。また、遺伝子はしばしば複数の機能を持つことが知られているが、このような遺伝子の新規機能の探索にも有効かもしれない。これにより遺伝子特許として結実することが期待できる。また、宿主種生物種や微生物種を問わず、遺伝子レベルで起こる事象は比較的共通していることが示唆されている。ゆえに本研究の成果は、単にヒトと微生物の関係に限らず、昆虫や植物など多くの高等生物と微生物との相互作用の研究の一助になることも期待できる。

DNAマイクロアレイや定量PCRで得られるのは遺伝子の発現変化量に関する情報のみであり、細胞内での空間情報はまったく含まれていない。さらに、必ずしも細胞状態変化や表現形さらには生命現象を反映しているわけではない。そのため、細胞機能や生命現象と遺伝子発現とを別の手法により連結させる必要がある。今後は上述した基礎の重積のみならず、細胞生物学的手法を用いた解析に着手し、遺伝子発現変化と生命現象の連関を明らかにしたい。この連関が明らかになって初めて遺伝子発現変化を利用した新規生理活性物質のスクリーニング系が意味をもつのである。

## 研究成果発表等の状況

### (1) 研究発表件数

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合計
国内	0件	0件	0件	0件
国際	0件	0件	0件	0件
合計	0件	0件	0件	0件

### (2) 特許等出願件数

合計 0件 (うち国内0件、国外0件)

### (3) 受賞等

0件 (うち国内0件、国外0件)

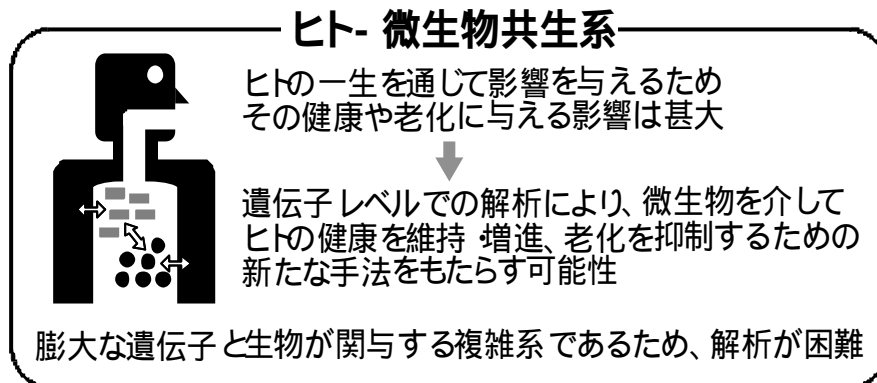
### (4) 主な原著論文による発表の内訳

なし

### (5) 主要雑誌への研究成果発表

Journal	Impact Factor
0件	

## ヒト- 微生物共生系の遺伝子解析及び利用



ヒトゲノム解析・DNAチップ・生物情報処理技術の進展

### ヒト- 微生物相互作用の遺伝子レベルでの解析

微生物と相互作用したときのヒト細胞内での遺伝子発現変化を  
多種多様な微生物について解析

得られた遺伝子発現データを生物情報処理技術により整理・統合

### 微生物との相互作用に関与するヒト遺伝子群のカタログを作成

全ての微生物に対して共通して発現変化をする遺伝子群や  
特定の微生物群に対して特徴的に発現変化する遺伝子群を記載

### 新規な食品成分、医薬品、プロバイオティクスの開発

標的となる微生物群との相互作用に関連する遺伝子群をカタログから選択し  
それらの発現変化を指標として、標的とする微生物群とヒトとの関係のみを  
選択的に改変・改良する生理活性物質やプロバイオティクスを開発

### 微生物を介したヒトの健康促進・老化抑制に貢献

#### 機能不明遺伝子の機能解明

ゲノムデータベース中の大半を占める  
機能不明遺伝子には他生物との  
相互作用に関わるものが含まれる?

他生物との相互作用解析を  
念頭においた研究(本課題)でのみ  
機能を解明可能

#### 他の生物間共生系の解析

生物種を問わず共生系の確立・維持に  
関連する遺伝子群は共通している

昆虫や植物も含めた  
多くの高等生物と微生物との  
相互作用の研究の一助となる