

ヒトの糖質に作用するビフィズス菌酵素の構造機能解析と応用展開

京都大学大学院生命科学研究科 片山高嶺

【略歴】

1994年3月	京都大学農学部食品工学科卒業
1996年3月	京都大学大学院農学研究科食品工学専攻修士課程修了
1999年3月	京都大学大学院農学研究科食品工学専攻博士後期課程修了
1999年4月	京都大学大学院農学研究科 リサーチアソシエイト
2002年4月	京都大学大学院生命科学研究科 助手
2005年4月	石川県立大学生物資源工学研究所 講師
2008年4月	石川県立大学生物資源工学研究所 准教授
2013年10月	石川県立大学腸内細菌共生機構学講座 寄附講座教授
2015年4月	京都大学大学院生命科学研究科 教授 現在に至る

母乳栄養児とビフィズス菌

ヒトの腸内細菌叢は一生の間で少なからず変動するが、最も急激な変化が見られるのは授乳期から離乳時にかけてである。この時期、母乳栄養児の腸管では速やかにビフィズス菌が増殖し、いわゆるビフィズスフローラが形成されるが、このフローラは離乳とともに消失する。このことから、人乳にはビフィズス菌を選択的に増殖させる因子が含まれていると長い間考えられてきたが、1899年にビフィズス菌が単離されて以来、その実体は不明なままであった。

ヒトミルクオリゴ糖

人乳の固形成分のうち最大のもは乳糖(~7%)、次が脂質(~3%)であり、これらは主に乳児の栄養源として利用される。3番目に多いのが重合度3以上のオリゴ糖(~1%)であり、ヒトミルクオリゴ糖と総称されるが、これはヒトの消化酵素に耐性であるために乳児の栄養源とはならない。それにもかかわらず母親は乳腺で多大なエネルギーを消費してオリゴ糖を合成し(理論的に糖1分子の伸長反応には1分子のATP消費を伴う)、乳児に与えている。それには生理的意義があつて然るべきであろう。ヒトミルクオリゴ糖は現在までに100種類以上の構造が同定されているが、最も多量に含まれるコア構造はラクト-N-テトラオース(Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc)である。非還元末端側のGal β 1-3GlcNAc(ラクト-N-ビオース I)は1型糖鎖構造と呼ばれ、この構造を優先的に含むのは霊長類の中でヒトのみであることが大きな特徴である。

ヒトミルクオリゴ糖に作用するビフィズス菌酵素

我々は、乳児糞便から頻繁に単離されるビフィズス菌がヒトミルクオリゴ糖を資化するための特異的な酵素群を有していることを見出し、その資化経路上の酵素について構造機能解析を行ってきた¹⁻⁵⁾。その結果、これらの酵素群のホモログ、特に1型糖鎖構造に作用する酵素群のホモログが乳児型のビフィズス菌に特異的に存在しており、他の腸内細菌にはほとんど存在しないことを見出した。このことは、ヒトミルクオリゴ糖が実際に乳児腸管内でビフィズス因子として機能していることを強く示唆している。

共生と共進化

助産院の協力を得て、母乳栄養児および混合乳栄養児の糞便を採取して遺伝子解析を行ったとこ

ろ、母乳栄養児の糞便中では混合乳栄養児に比べて有意にビフィズス菌数が多いこと、中でも *Bifidobacterium longum* が多いことが明らかとなった。そこで、1型糖鎖に作用する酵素ラクト-N-ビオシダーゼ(LnbX)の保有率を調べたところ、やはり母乳栄養児糞便において有意に高かった。また、母乳栄養児糞便においては、有意ではないものの *lnbX* 遺伝子の占有率と *B. longum* の占有率に正の相関が見られる一方、混合乳栄養児では全く相関がなかった⁶⁾。データベースに登録されている *B. longum* ゲノムを調べると、*lnbX* 遺伝子を保有する株と保有しない株は同程度見られる。それにも関わらず、母乳栄養児の糞便中でのみ *B. longum* の *lnbX* 保有率が高いということは、ヒトミルクオリゴ糖が大きな選択圧をかけていると考えられた。ヒトはその進化の過程でビフィズス菌と共生することを選択し、その分子基盤となったのがヒトミルクオリゴ糖とその分解酵素であることが推察される。

応用展開

現在の人工乳(乳児用調整乳)にはほとんどの場合ガラクトオリゴ糖やフラクトオリゴ糖などのプレバイオティクスが含まれており、これらにはビフィズス菌増殖促進効果が認められている。ただ、人工乳をより母乳に近づけるという目的において、ヒトミルクオリゴ糖は高い価値を有しており、次世代のプレバイオティクスとなる可能性を秘めている。現在、我々のグループでは、上記の研究過程で得られたヒトミルクオリゴ糖分解酵素を改変利用することでヒトミルクオリゴ糖の合成を試みている⁷⁾。

謝辞

本研究は、石川県立大学生物資源工学研究所、石川県立大学腸内細菌共生機構学講座、および京都大学大学院生命科学研究科で行われました。ご指導頂いた熊谷英彦先生および山本憲二先生、共同研究者である北岡本光先生、伏信進矢先生、芦田久先生、浦島匡先生および廣瀬潤子先生、また博士研究員および学生の皆様に心より感謝申し上げます。

参考文献

1. S. Asakuma *et al.*, Physiology of consumption of human milk oligosaccharides by infant-gut associated bifidobacteria, *J. Biol. Chem.*, 286, 34583-34592 (2011).
2. E. Yoshida *et al.*, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* uses two different β -galactosidases for selectively degrading type-1 and type-2 human milk oligosaccharides, *Glycobiol.*, 22, 361-368 (2012).
3. H. Sakurama *et al.*, 1,3-1,4- α -L-Fucosyltransferase that specifically introduces Lewis a/x antigens into type-1/2 chains, *J. Biol. Chem.*, 287, 16709-16719 (2012).
4. T. Ito *et al.*, Crystal structures of a glycoside hydrolase family 20 lacto-N-biosidase from *Bifidobacterium bifidum*, *J. Biol. Chem.*, 288, 11795-11806 (2013).
5. H. Sakurama *et al.*, Lacto-N-biosidase encoded by a novel gene of *Bifidobacterium longum* subspecies *longum* shows unique substrate specificity and requires a designated chaperone for its active expression, *J. Biol. Chem.*, 288, 25194-25206 (2013).
6. C. Yamada, A. Gotoh (equal contribution) *et al.*, Molecular insight into evolution of symbiosis between breast-fed infants and a member of the human gut microbiome *Bifidobacterium longum*, *Cell Chem. Biol.* in press.
7. Y. Sugiyama *et al.*, Introduction of H-antigens into oligosaccharides and sugar chains of glycoproteins using highly efficient 1,2- α -L-fucosyltransferase, *Glycobiol.*, 26, 1235-1247 (2016).