腸内細菌による神経-免疫系の制御

須藤信行^{*1)}, 古賀泰裕^{*2)}, 久保千春^{*1)}

mini review

INFLAMMATION AND REGENERATION

Regulation of neuro-immune function by indigenous intestinal microflora

The gastrointestinal tract is colonized with more than 10^{14} micro-organisms that weigh more than 1 kg. Such microflora are in close contact with the largest mass of lymphoid tissue in the body, the gut-associated lymphoid tissue, and thereby provides the principal driving force in postnatal maturation of the mammalian immune system. Our studies of germ-free animals showed that if such stimuli are not available to the developing immune system during infancy, the maturation of Th1-dependent immune-deviation mechanisms is inhibited, resulting in a possible lifelong dysregulation of Th2 response. Recently, several studies showed that psychological stress disrupts the integrity of the intestinal microflora and thereby contributes to the symptomatology of functional gastrointestinal disorders. Furthermore, our recent work demonstrated that such microflora modulate the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in response to stress exposure, which indicates bidirectional communication between the brain and intestinal microflora. Taken together, these results suggest that intestinal microflora and/or their bacterial products, such as lipopolysaccharide and peptidoglycan, stimulate phagocytic cells within the gut-associated lymphoid tissue, the brain, or elsewhere, and thus influence the function not only of immune system but also of central nervous system.

Rec. 10/6/2000, Acc. 10/23/2000, pp123~127

Nobuyuki Sudo^{*1)}, Yasuhiro Koga^{*2)}, Chiharu Kubo^{*1)}

key words : *intestinal flora, allergy, oral tolerance, Th1/Th2 balance, HPA axis*

生体は体表面積の95%以上を占める広大な粘膜面を介して多数の常在細菌と接触しており、その細菌数は成人で 10^{14} 、重量にして1kgにも相当するとされている⁴⁾。これら常在細菌の菌体成分は抗原刺激をたえず宿主に及ぼし、その免疫機能を修飾することにより、免疫系のみならず神経系の発達にも深く関与していると考えられる。

本稿では、腸内細菌が神経-免疫系へ及ぼす影響について、① 経口免疫寛容、② hypothalamic-

pituitary-adrenal (HPA) axis 反応性の観点より筆者らの研究結果を基に報告する。

腸内菌叢の構成と形成^{1,2)}

胎内感染などの特殊な要因がない限り、生体は通常、無菌の状態で出生する。その後、速やかに、母体および周囲環境より常在細菌が定着し、いわゆる常在細菌叢を形成していく。正常腸内菌叢を構成する菌種は、日齢に伴う推移のパターン、宿主との間に成立している関係からみて、3菌群に分けられる(図1)¹⁾。すなわち、一つは生後やや遅れて出現するが、正常腸内菌叢の最優勢菌叢を構成する菌群(I群)で、宿主との間の長い進化の歴史の過程で高度の適応、馴化をかちえたもので、動物種特異性が強く、宿主の防御機構によって排

^{*1)} Department of Psychosomatic Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University 九州大学大学院医学研究院心身医学教室

^{*2)} Department of Infectious Diseases, Tokai University School of Medicine 東海大学医学部感染症学教室
Offprint requests to : Nobuyuki Sudo, Department of Psychosomatic Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

図 1 腸内菌叢を構成する 3 菌群(光岡, 1988)

除されることなく、一生にわたって宿主と密接な関係を保ち、いわば共生関係まで成立していると考えられる。一方、動物の出生後まもなく出現して一度最優勢菌叢を構成するが、まもなく次に出てくる I 群の菌と交代するかのよう減少し、以後中程度の菌数にとどまる菌群(II群)で、宿主の健康状態が悪くなったとき増加する傾向のある *E. coli*, *Streptococcus* が含まれる。もうひとつの菌群は、腸内菌叢のなかでは少数派に属し、*Clostridium perfringens* などはっきり病原菌の範疇に属するもので、宿主の防御機構を破ってこれまで存在しなかった場所に侵入し、いわゆる「日和見感染」を起こして病原性を発揮することのある菌群(III群)である。

こうして形成された腸内菌叢は、環境要因や食餌要因が一定であり、宿主が健康である限りかなり一定している。しかし、この生態系は不変ではなく、宿主の摂取する食餌、薬物、微生物、気象、ストレスなどの要因により左右されることが知られている。

腸内細菌叢の Th 1/Th 2 バランスへ及ぼす影響

(1) 無菌マウス、人工菌叢マウスを用いた研究筆者らは、以前より無菌および人工菌叢マウスを用いて、腸内細菌が免疫、アレルギー反応へ及ぼす影響について検討してきた³⁾。その結果、無菌

マウスでは、通常の SPF 環境下のマウスと比較し、脾細胞での IL-4 分泌が亢進していること、一方、IFN- γ の分泌は、きわめて低値であることを見出した。さらに、抗原をあらかじめ経口投与することにより全身の免疫反応が不応答になる現象、いわゆる経口免疫寛容への感受性について比較、検討したところ、抗原(ovalbumin : OVA)を経口的に前投与することにより、Th 1 タイプの反応を反映する IgG 2 a 抗体価は SPF マウスと同程度に抑制されていたが、Th 2 タイプの反応を反映する IgE, IgG 1 抗体抑制の程度は軽度であり、特に IgG 1 抗体は OVA を経口投与していないコントロール群と同程度の抗体価を維持していた。また、*in vitro* での脾細胞サイトカイン産生能の検討においても、経口免疫寛容を誘導した GF マウスの IL-4 産生はまったく抑制されず、経口免疫寛容を誘導していないコントロール群と同程度であった。さらに、その後の検討により、無菌マウスでは、SPF マウスと比較し、抗原提示細胞からの IL-12 の産生がきわめて低いことも明らかとなった。このように Th 1/Th 2 バランスの維持には腸内細菌が重要な役割を演じており、特に Th 1 タイプ細胞の発達、成熟には不可欠であることが示唆された。

それでは、実際にいかなる細菌が Th 1/Th 2 バランスの制御に関与しているのだろうか。また、

図2 *Bifidobacterium infantis* 定着時期の違いによるトランス感受性の変化

その感受性に critical period は存在するのであろうか。この疑問に答えるために、筆者らは単一細菌のみを定着させた人工菌叢マウスを作製し、さらに検討を加えた。一般に、母乳栄養児では、人工乳栄養児に比べ、*Bifidobacterium infantis* (BI) の検出率が有意に高く、一方、老化に伴い *Clostridium perfringens* (CP) は検出率、菌数ともに顕著に増加することが知られている¹⁾。これらの知見をもとに、筆者らは BI, CP を有する人工菌叢マウスを作製し、経口免疫寛容に対する感受性について比較、検討した。その結果、生下時より BI を定着させたマウスでは、SPF マウスと同様に IgE 抗体に対する経口免疫寛容が誘導されたが、一方、CP を定着させたマウスでは GF マウスと同じく IgE 抗体に対する経口免疫寛容が誘導されなかった。興味深いことに BI を 5 週齢で定着させた場合は、IgE 抗体に対する寛容は誘導され

ず、逆に抗体価の上昇を認めた(図2)。

以上の結果は、正常の粘膜免疫機構の発生、特に Th 1 型細胞の正常な誘導と制御が確立するためには、成長過程の初期の段階においてある種の腸内細菌の存在が必要であることを示している。

(2) 菌体成分による Th 1 細胞の発達

近年、グラム陰性菌のみならずグラム陽性菌の菌体成分に対するレセプターとして Toll-like receptor が同定され、グラム陽性菌由来の peptidoglycan などにも、LPS と同様な細胞内メカニズムにより炎症反応を惹起しうることが明らかにされている⁴⁾。さらに、細菌由来の DNA は、真核生物由来の DNA と異なり、その特異的な CpG motifs を介して macrophage, dendritic cellなどを活性化させ、IL-12 の分泌を促す作用を有することが明らかにされてきている⁵⁾。事実、筆者らの動物実験の結果からも食物に含まれる核酸成分は、腸内細菌とは関わりなく、Th 1 反応を促進していた⁶⁾。

以上を総合すると、常在細菌由来の菌体成分またはその DNA は、抗原提示細胞のレベルで Th 1 細胞の発達に不可欠である IL-12 の分泌を促進させ、Th 1 細胞の成熟をもたらすと考えられる。

(3) 腸内細菌とアレルギー疾患との関連

近年、腸内細菌とアレルギーとの関連を示唆する報告が相次いでいる。Bjorksten ら⁷⁾は、エストニア、スウェーデンでの健常児、アトピー患児の腸内菌叢を検討したところ、アレルギー患児では、大腸菌、黄色ブドウ球菌などの好気性菌が有意に増加しており、一方、*Lactobacilli* などの嫌気性菌は有意に減少していたという。さらに、Majamaa ら⁸⁾は、アトピー性皮膚炎患者へ *Lactobacillus* GG 菌を投与したところ、投与していないコントロール群と比較し、有意な臨床症状の改善が得られたという。症例数も少なく検討の余地はあるものの、アレルギー疾患へのプロバイオティクスの可能性を示唆する貴重な報告と思われる。

さらに、乳幼児期の抗生剤投与により成長後のアトピー発症のリスクが増加するという注目すべき報告もなされている。Farooqi ら⁹⁾は 1934 名を対象に行った retrospective 研究の結果より、三

図3 腸内細菌による Th1/Th2 バランスの制御機構

つの独立したアトピー性疾患発症のリスクファクターを上げている。すなわち、① 母親にアトピー性疾患があること、② 百日咳ワクチン接種の既往があること、③ 生下時より2歳までの間の抗生物質投与の既往があることの三つである。彼らは抗生物質投与がアトピー性疾患へのリスクファクターとなりうる原因として、抗生物質により正常な常在細菌叢が破壊され、粘膜免疫機構の発達が妨げられるからではないかと推察している。同様の結果は、ニュージーランドのグループからも報告されている¹⁰⁾。さらに、筆者らは動物実験において、離乳直後に非吸収性の抗生剤であるカナマイシンを投与することにより、成長後に血中IgE抗体が高値となることを見出している¹¹⁾。

これらの知見と筆者らの研究結果を総合して考えると、図3のようになる。すなわち、新生児の段階では、妊娠中の免疫を継続したかたちで、Th2に傾いた免疫状態にあり、生後いかにしてTh1細胞の発達を促すシグナルがもたらされるかで、アレルギーの発症しやすさが決定されるというものである。もし、乳幼児期の段階でなんらかの原因により腸内細菌叢が量的、質的な異常をきたした場合、dendritic細胞の発達、成熟に必要な細菌性因子が十分に供給されず、Th1細胞の発達が抑制される。アレルギー疾患治療への早期介入の必要性が叫ばれる今日、その治療的観点からも興味深

い仮説と思われる。

腸内細菌叢がHPA axisに及ぼす影響

いわゆるストレス反応において、内分泌系で中心的役割を果たすHPA axisは、生後のさまざまな環境因子によりその反応性が制御されることが知られている。たとえば、動物実験において、maternal care¹²⁾、handling¹³⁾などの操作が成長しからのHPA axisの反応性を減弱させるという報告は代表的なものである。筆者らは、生直後より定着してくる常在細菌叢もこの発達、成熟に関わっているのではないかと仮定し、GFマウスでのストレス反応性をSPFマウスと比較、検討した。その結果、GFマウスでは、SPFマウスと比較し、HPA axisの反応性が亢進していることがわかった。さらに、GFマウスをSPF化することによりその反応性が減弱し、SPFと同程度になることより、腸内細菌叢は、HPA axisの発達、制御にも深く関わっていることが示唆された。

おわりに

腸内細菌は、正常な消化管粘膜免疫の発達と維持に深く関わっているのみならず、最近ではアレルギー性疾患、自己免疫疾患との関連もクローズアップされてきている。さらに、HPA axisをはじめとする神経系の発達制御にも深く関与してい

ることが予想され、今後の研究の進展が期待される。

文 献

- 1) 光岡知足：腸内菌叢の分類と生態。食生活研究会，東京，1986，p 51.
- 2) 光岡知足：腸内フローラと免疫応答。光岡知足編，学会出版センター，東京，1994，p 1.
- 3) Sudo N, Sawamura S, Tanaka K et al. : The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol* 159 : 1739-1745, 1997.
- 4) Lien E, Sellati TJ, Yoshimura A et al. : Toll-like receptor 2 functions as a pattern recognition receptor for diverse bacterial products. *J Biol Chem* 274 : 33419-33425, 1999.
- 5) Pisetsky DS : Immune activation by bacterial DNA. *Immunity* 5 : 303-310, 1996.
- 6) Sudo N, Aiba Y, Takaki A et al. : Dietary nucleic acids promote a shift in the Th1/Th2 balance toward Th1-dominant immunity. *Clin Exp Allergy* 30 : 979-987, 2000.
- 7) Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M : The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy* 29 : 342-346, 1999.
- 8) Majamaa H, Isolauri E : Probiotics : A novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 99 : 179-185, 1997.
- 9) Farooqi IS, Hopkins JM : Early childhood infection and atopic disorder. *Thorax* 53 : 927-932, 1998.
- 10) Wickens K, Pearce N, Crane J, Beasley R : Antibiotic use in early childhood and the development of asthma. *Clin Exp Allergy* 29 : 766-771, 1999.
- 11) Oyama N, Sudo N, Sogawa H, Kubo C : Antibiotic use during infancy promotes a shift in the Th1/Th2 balance toward Th2-dominant immunity in mice. *J Allergy Clin Immunol* 107 : 153-159, 2001.
- 12) Meaney MJ, Aitken DH, van Berkel C et al. : Effect of neonatal handling on age related impairments associated with the hippocampus. *Science* 239 : 766-768, 1988.
- 13) Liu D, Diorio J, Tannenbaum B et al. : Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 277 : 1659-1662, 1997.