

ヒトミルクオリゴ糖とその分解酵素から考える母乳栄養児と ビフィズス菌の共生・共進化

片山高嶺

京都大学大学院生命科学研究科

略歴：1970年、愛知県生まれ。1994年 京都大学農学部卒業後、1999年 同大学院博士課程修了。1999年 京都大学大学院農学研究科リサーチアソシエイト。2002年 京都大学大学院生命科学研究科助手。2005年 石川県立大学講師。2008年 同准教授。2013年 同特任教授。2015年 京都大学大学院生命科学研究科教授。

主な研究テーマ：低分子化合物を介した腸内細菌と宿主の共生・共進化。

要約：近年の研究によって、腸内細菌が宿主の健康に大きな影響を与えていることが明らかとなってきた¹⁾。特に乳児期における菌叢の形成は成長後にも影響を与えることが知られているため²⁾、その形成機構を解明することは重要な課題である。パスツール研究所のティシエがビフィズス菌を単離して以来、母乳栄養児の腸管では授乳開始直後からビフィズス菌が速やかに増殖し、いわゆるビフィズスフローラが形成されることが広く知られていた。このビフィズスフローラは離乳と共に消失すること、また人乳を培地に加えるとビフィズス菌の増殖が促進されることから、人乳中にはビフィズス菌を特異的に増殖させる因子（ビフィズス因子）があると推察されていたが、つい最近までその実体は明らかでなかった。

我々は約10年前に、ビフィズス菌がヒト母乳オリゴ糖に作用する特異的分解経路を有していることを世界に先駆けて発見し、その経路上の酵素群の構造機能解析を行ってきた³⁾。ヒト母乳オリゴ糖は人乳中に3番目に多く含まれる固形成分でありながら（10～20g/L）、ヒトの消化酵素に耐性であるために乳児の栄養とはならない⁴⁾。それにも関わらず母親は乳腺において多大なエネルギーを消費して母乳オリゴ糖を合成し、児に与えている。

人乳は1型糖鎖構造（Gal β 1-3GlcNAc β -OR）を有するオリゴ糖を多量に含む。これはヒト母乳オリゴ糖の特徴であり、類人猿を含む他の霊長類の乳オリゴ糖は2型糖鎖構造（Gal β 1-4GlcNAc β -OR）の割合が高く、1型糖鎖構造は検出されないか、あったとしても微量であることが知られている⁴⁾。興味深いことに、1型母乳オリゴ糖に作用する酵素はヒト乳児に生息するビフィズス菌のみが有しており、他のビフィズス菌や腸内細菌には殆ど存在していない⁵⁾。1型糖鎖構造に作用する *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* (*B. longum*) 由来の酵素ラクト-N-ビオシダーゼ (*lnbX*) に着目して完全母乳栄養児の糞便解析を行ったところ、*B. longum* の存在率と *lnbX* の存在率との間に正の相関が見られることが明

らかとなった。しかしながら混合乳（母乳および人工乳）栄養児の糞便中では両者に相関は全く見られなかった。これらのことは、1型糖鎖構造を有するヒト母乳オリゴ糖が選択圧となりビフィズスフローラ形成に寄与していることを示唆すると共に、ビフィズス菌がヒトと共進化してきたことを暗示している⁶⁾。これらの成果以外に最近、*Bifidobacterium bifidum* (*B. bifidum*) によって分解された母乳オリゴ糖の一部が他のビフィズス菌種に分配されている可能性も明らかとなってきた。一般に、ビフィズスフローラにおける種レベルでの*B. bifidum*の割合は高くはないが、ビフィズスフローラ全体の形成に貢献している可能性がある。本講演では、ビフィズス菌とヒト母乳オリゴ糖に関する研究の歴史的な背景を振り返りながら、これまでの我々の研究を紹介する。

参考文献

- 1) Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, *et al.* : Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature* 474 : 327-336, 2011
- 2) Olszak T, An D, Zeissig S, *et al.* : Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 336 : 489-493, 2012
- 3) Katayama T. : Host-derived glycans serve as selected nutrients for the gut microbe : Human milk oligosaccharides and bifidobacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 80 : 621-632, 2016
- 4) Urashima T, Asakuma S, Leo F, *et al.* : The predominance of type I oligosaccharides is a feature specific to human breast milk. *Adv Nutr* 3 : 473S-82S, 2012
- 5) Asakuma S, Hatakeyama E, Urashima T, *et al.* : Physiology of consumption of human milk oligosaccharides by infant-gut associated bifidobacteria. *J Biol Chem* 286 : 34583-34592, 2011
- 6) Yamada C, Gotoh A, Sakanaka M, *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* 24 : 515-524, 2017

Symbiosis and co-evolution between breastfed infants
and *Bifidobacterium* driven by human milk oligosaccharides
and their degrading enzymes

Takane Katayama

Graduate School of Biostudies, Kyoto University

Brief curriculum vitae : Born in Aichi prefecture, Japan in 1970. Graduated from Faculty of Agriculture, Kyoto University in 1994. Completed doctoral program, Graduate School of Agriculture, Kyoto University in 1999. Research Associate at Graduate School of Agriculture, Kyoto University in 1999. Assistant Professor at Kyoto University in 2002. Senior Lecturer at Ishikawa Prefectural University (IPU) in 2005. Associate Professor at IPU in 2008. Professor at IPU in 2013. Professor at Kyoto University in 2015.

Major field studies : Small compound-based understanding of symbiosis and co-evolution between gut microbes and the host.

Abstract : The mammalian gastrointestinal tract is inhabited by a vast and diverse community of microbes and their metabolic activity significantly influences the host's health¹⁾. Especially, because gut microbial composition in early life is shown to have long-lasting effects on human health²⁾, elucidating the mechanism of how gut microbial composition is shaped in infancy is of great importance. *Bifidobacterium* sp. was isolated in 1899 from the stools of breast-fed infants by H. Tissier at the Pasteur Institute. Gut microbiota of breast-fed infants is generally dominated by bifidobacteria, but this bifidobacteria-rich microbiota disappears soon after weaning. This fact and the finding that bifidobacteria showed enhanced growth on media supplemented with human, but not cow, milk strongly suggested that human milk contains bifidogenic compounds. However, until relatively recently, there have been no reports to link human milk compound (s) with bifidobacterial physiology.

During the last decade, we have revealed that bifidobacteria have species-specific pathways for assimilation of human milk oligosaccharides (HMOs) and genetically and biochemically characterized the enzymes on the pathways³⁾. HMOs are the third most abundant solid component contained in human milk (10-20g/L). But they have no nutritional value for infants, because they are resistant to intestinal digestive enzymes⁴⁾. Nonetheless, mothers produce the oligosaccharides in mammary glands at the great expense of energy, and feed

them to neonates.

HMOs are known to be rich in type-1 chain (Gal β 1-3GlcNAc β -OR), while milk oligosaccharides of other primates including anthropoids are rich in type-2 chain (Gal β 1-4GlcNAc β -OR) and the amount of type-1 chain is very low if it is included. Thus, predominance of type-1 structure is a human-specific feature. Interestingly, the enzymes acting on HMOs with type-1 chain are exclusively found in infant gut-associated bifidobacteria among gut microbes⁵⁾. Accordingly, as an example, we focused on type-1 chain-specific enzyme lacto-*N*-biosidase (*lnbX*) from *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* (*B. longum*), and found a positive correlation between the abundance of *B. longum* and the abundance of *lnbX* in the stools of breast-fed infants. However, no correlation was detected between the two in the stools of mix-fed (breast-and formula-fed) infants. These results indicate HMOs with type-1 chain serve as a selective pressure for shaping bifidobacteria-dominant gut microbial composition in breast-fed infants. Moreover, the results imply co-evolution between bifidobacteria and humans. Apart from type-1 chain-mediated symbiosis and evolution, we have recently obtained the data indicating that *Bifidobacterium bifidum* can share HMOs degradants with the other bifidobacterial species, thereby enhancing the formation of bifidobacteria-rich microbiota. In this talk, I will present overview of our research related to HMOs and the degrading enzymes of bifidobacteria with the historic context.

References

- 1) Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, *et al.* : Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature* 474 : 327-336, 2011
- 2) Olszak T, An D, Zeissig S, *et al.* : Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 336 : 489-493, 2012
- 3) Katayama T. : Host-derived glycans serve as selected nutrients for the gut microbe : Human milk oligosaccharides and bifidobacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 80 : 621-632, 2016
- 4) Urashima T, Asakuma S, Leo F, *et al.* : The predominance of type I oligosaccharides is a feature specific to human breast milk. *Adv Nutr* 3 : 473S-82S, 2012
- 5) Asakuma S, Hatakeyama E, Urashima T, *et al.* : Physiology of consumption of human milk oligosaccharides by infant-gut associated bifidobacteria. *J*

Biol Chem 286 : 34583-34592, 2011

- 6) Yamada C, Gotoh A, Sakanaka M, *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* 24 : 515-524, 2017