

〈特集〉

腸内細菌と宿主の生理・病理

大野 博司

Gut microbiota and the host physiopathology

Hiroshi Ohno

Summary Gut microbiota, enormous numbers of commensal bacteria in the guts of animals, including humans, has a huge impact on host physiology and pathology. Recent studies using metagenomics and fecal microbiota transplantation, both in humans as well as germ-free and gnotobiotic mice, have revealed that dysbiosis, or abnormality in gut microbiota, could be pathogenic; additionally, correcting dysbiosis with symbiotic fecal microbiota transplantation can cure/ameliorate symptoms. Metagenomics attempts to make a gene catalogue of all genes from the members of a microbial community, but it is not adequate for comprehensive understanding of the gene functions. Thus, other exhaustive approaches are used in parallel with metagenomics, including epigenomics, transcriptomics, and metabolomics. This “integrated omics” approach is useful for understanding the molecular mechanisms of host-gut microbiota interactions and may identify gut microbiota-associated pathogenic biomarkers that could lead to new therapeutic or preventive strategies.

Key words: gut microbiota, integrated omics, short-chain fatty acids, regulatory T cell

I. はじめに

地球に初めて現れ、最も繁栄している生物は真正細菌であり、地球上のあらゆる環境に適応して棲息している。それは動植物の体表面も例外ではなく、われわれヒトを含む動物の消化管にも膨大な数の細菌が共生している。むしろ、動物の大腸は地球上のあらゆる環境で最も高密度の菌が棲息するとされ、この腸内細菌叢はヒト大腸では40兆以上にもおよび、約20～30兆とされる標準的な成人の人体を形成する細胞数

を超えている¹⁾(Fig. 1)。腸内細菌叢はわれわれ宿主の健康や疾患に大きな影響を及ぼすことが明らかとなってきた。本稿では、まず腸内細菌叢研究の最近の進展や疾患との関わりについて概説し、次いで筆者らが提唱する統合オミクス手法により明らかとなった腸内細菌叢の代謝産物による宿主の生体防御・免疫系制御機構について紹介する。

国立研究開発法人理化学研究所
生命医科学研究センター 粘膜システム研究チーム
神奈川県立産業技術総合研究所 腸内細菌叢プロジェクト
〒230-0045 横浜市鶴見区末広町1-7-22

Laboratory for Intestinal Ecosystem, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences
Intestinal Microbiota Project, Kanagawa Institute of Industrial Science and Technology

ヒト体細胞数 20~30兆

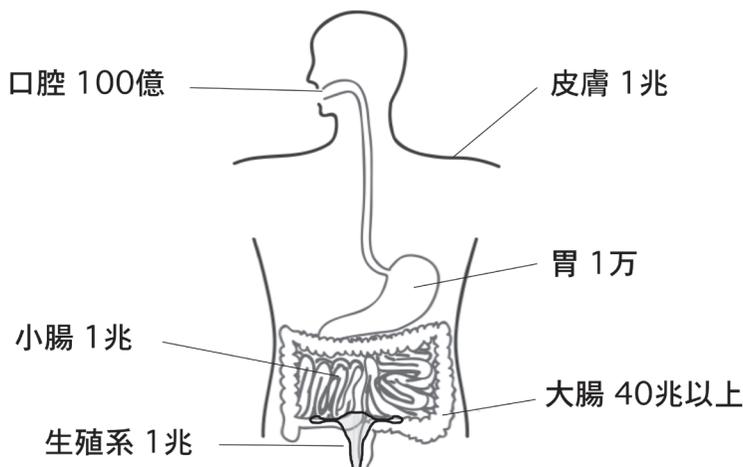


Fig. 1 Commensal microbiota associated with human body.

Approximate numbers of commensal microbiota colonized with the human skin and mucosal surfaces (the respiratory tract is omitted). Human cells constituting an adult humans are estimated to be 20 ~ 30 trillions, whereas the number of microbiota in the human colon is estimated to be 40 trillions¹⁾. (reproduced from the webpage of the author: <http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>)

II. 腸内細菌叢のゲノム解析：メタゲノム解析

腸内細菌叢の構成細菌は500 ~ 1,000菌種以上にも及び、その多くが培養困難と考えられている。従来の腸内細菌研究では、菌を単離培養し、その栄養要求性や産生する代謝物を同定することで菌の性質を解析する生化学的手法が中心であった。ゲノムDNA配列を決定する遺伝学的解析においても、従来のDNAシーケンサーでは同じ塩基配列のDNAが多コピー数ないと配列解析できなかつたため、やはり菌の単離による純粋培養が必要であった。しかし今世紀に入り、いわゆる次世代シーケンサーの開発により、理論上1コピーのDNAの塩基配列決定も可能となった。そこで、ある環境中に存在する全生物のゲノムDNAをまとめて抽出し配列解析することで、そこに存在する生物のゲノム配列の総体を取得する「メタゲノム」解析法が考案された。EUや米国では国家的プロジェクト^{2),3)}が発足し、メタゲノム解析を糞便中の細菌DNAに応用することで、腸内細菌叢が全体と

してどのような遺伝子を持つかということが明らかになると共に、次に述べるように健常群と疾患群との比較から疾患と腸内細菌叢との関連も明らかにされてきた。

III. 腸内細菌叢と疾患との関係

米国における病的肥満 (BMI \geq 30) の研究では、双生児の成人女性で、一方が正常範囲、もう一方は病的肥満の腸内細菌叢構成菌の組成を16S rDNAの配列解析から比較検討した結果、肥満群では正常体重群と比較して、腸内細菌叢の多様性が有意に低く、かつフィルミクテス門とバクテロイデス門の相対比が有意に高いことが示されている⁴⁾。

また、炎症性腸疾患については、デンマーク人およびスペイン人のメタゲノム解析の結果から、健常対照群の腸内細菌叢構成菌が保有する総遺伝子数が60万強なのに対し、患者群では約40万と、腸内細菌叢遺伝子の多様性が約2/3に減少していた⁵⁾。また、炎症性腸疾患患者群では、健常

群と比較して糞便中の酪酸産生菌や短鎖脂肪酸の濃度が減少しており、逆に炎症性腸疾患の一病型である若年性の潰瘍性大腸炎で酪酸の注腸により症状が軽快することが報告されている⁶⁾。

腸内細菌叢の多様性の減少および酪酸産生菌の減少は2型糖尿病においても報告されている⁷⁾。最近の研究から、上記以外にも様々な疾患において、健常対照群と比較して腸内細菌叢の多様性の減少や組成の変化が明らかになりつつある (Fig. 2)。

では、このように偏った腸内細菌叢、すなわちdysbiosisは疾患の結果として引き起こされるのだろうか、あるいは発症原因になり得るのだろうか。IL-2やIL-10などのサイトカインの遺伝子欠損マウスは腸炎を自然発症するが、これらの無菌マウスでは腸炎が発症しなくなる^{8),9)}。逆に、腸炎や肥満のモデルマウスの腸内細菌叢を無菌マウスに定着させるだけでそれらの症状があらわれる^{10),11)}。実際、非アルコール性脂肪肝に伴う肝癌では、過剰の脂質摂取により増加した腸内細菌による一次胆汁酸から二次胆汁酸への代謝が亢進し、増加した二次胆汁酸が門脈から肝臓に達することが肝細胞癌発症要因であることが示されている¹²⁾。一方、難治性の*Clostridium difficile*感染症 (偽膜性腸炎)の

患者腸内に健常者の糞便微生物を移植すると完治することも最近報告されている¹³⁾。このように、dysbiosisは疾患の結果というよりむしろ疾患の症状を形成する原因となり、糞便微生物移植などによりdysbiosisを是正し正常なバランスの取れた状態、いわゆるsymbiosisに戻してやることは疾患の治療や予防法になりうる。まとめると、健康な宿主の腸内細菌叢はsymbiosisの状態にあり、宿主との相互作用のもと、その恒常性は保たれている (Fig. 3)。健康な腸内細菌叢は、下痢や抗生物質の経口摂取などで一過性に組成が乱れても、そのうちに元のsymbiosis状態に戻る復元力がある (これには宿主の免疫系が正常であることなどが必要と考えられる)。一方、メタボリックシンドロームや自己免疫疾患、炎症性疾患などの疾患素因 (MHCやサイトカインなど免疫関連の遺伝子多型が比較的多くみられる) を持つ場合、その腸内細菌叢は復元力は弱く、何らかのきっかけでdysbiosis状態に陥るとそれが長く続いてしまい、最終的には腸管バリアの破綻や、上記の二次胆汁酸のようにdysbiosisの結果異常に増加した細菌代謝物やときに細菌毒素が体内に移行することなどから、全身性の慢性炎症から炎症性・代謝性疾患の発症に向かうと考えられる。

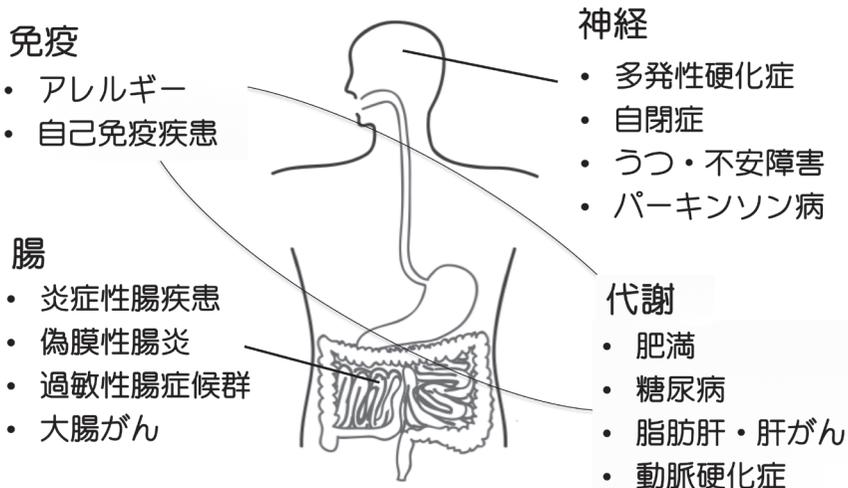


Fig. 2 Gut microbiota and diseases.

Recent studies have revealed the causal relationship between gut microbiota and various human diseases, including gastrointestinal disorders, immune disorders, metabolic disorders, and even neuronal disorders. (reproduced from the webpage of the author: <http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>)

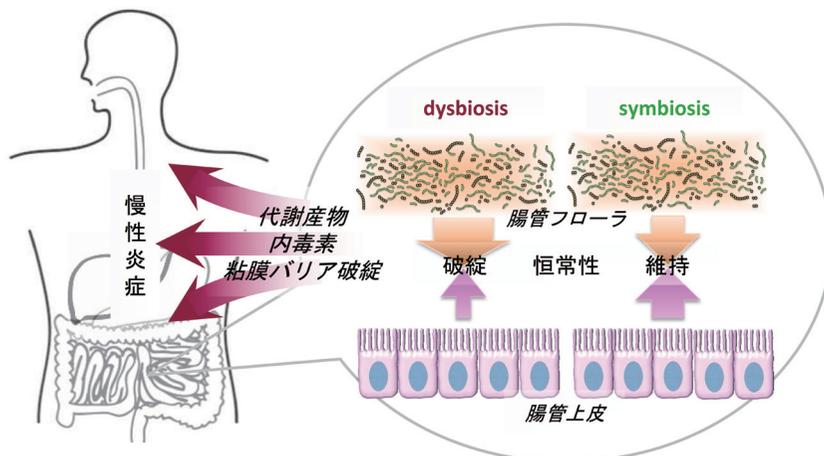


Fig. 3 Gut microbiota in health and diseases.

In healthy individuals, gut microbiota is in the state of symbiosis, where homeostasis is maintained between the host and the commensal microbiota. By contrast, in those who are genetical susceptible to adult-onset diseases, dysbiosis tends to persist, which eventually leads to chronic systemic inflammation and subsequent various diseases. (reproduced from the webpage of the author: <http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>)

IV. 統合オミクス手法による宿主 - 腸内細菌叢相互作用の解析

腸内細菌叢のメタゲノム解析により様々なことが明らかになりつつあるが、メタゲノム解析は細菌叢が全体としてどのような遺伝子を有しているかを調べる遺伝子のカタログ作りであって、機能の理解に向けた第一歩にすぎない。つまり、カタログの中の遺伝子のそれぞれが転写・翻訳されて蛋白質となり、それらがどのように相互作用したり蛋白質複合体を形成し、どのような機能を持つか（代謝物を産生するか）はゲノムからだけではわからない。

そこで筆者らは、遺伝子レベル（メタゲノム）に加え、遺伝子発現調節（エピゲノム）、遺伝子発現定量解析（トランスクリプトーム）、代謝物定量解析（メタボローム）という異なる階層の網羅的解析を組み合わせた「統合オミクス」手法を考案し、宿主-腸内細菌叢相互作用の解析に応用している（Fig. 4）。

1) 酢酸によるマウスO157感染死予防

腸内細菌叢は500～1,000菌種以上、40兆個以上にもおよび、その多くが未同定の難培養菌と考えられるため、統合オミクス解析を応用し

て得られた結果が何を意味するかの解釈は非常に難しいと予想される。そこで、無菌マウスにビフィズス菌（*Bifidobacterium*）と腸管出血性大腸菌O157:H7（O157）のみを定着させたノートバイオームマウスモデル（無菌マウスに既知の微生物のみを定着させたモデル実験系）を解析対象とした¹⁴⁾。

O157はヒト食中毒の原因菌として最もよく見られるもののひとつであり、III型分泌装置やベロ毒素などの病原因子を持ち、ヒト大腸上皮細胞に接着して機能阻害を来すことで水溶性下痢が、また細胞死を来せば血性下痢が起こる。ベロ毒素が体内に入ると時に死亡することもある危険な病原菌である¹⁵⁾。われわれが用いたO157菌株はマウス腸管上皮に対しては強い接着性を持たず、SPFマウスに経口投与しても腸内細菌叢に競合され、腸内で増殖することなく腸管を通過するだけで感染は成立しない。

無菌マウスに経口投与した場合、競合相手がいないためにO157は急速に増殖し、産生されたベロ毒素が血中に移行するためマウスは死に至る¹⁴⁾。このとき、肛門付近の大腸末端部において軽度の上皮細胞死と炎症像が認められる。一方、O157を経口投与する1週間前にビフィズ

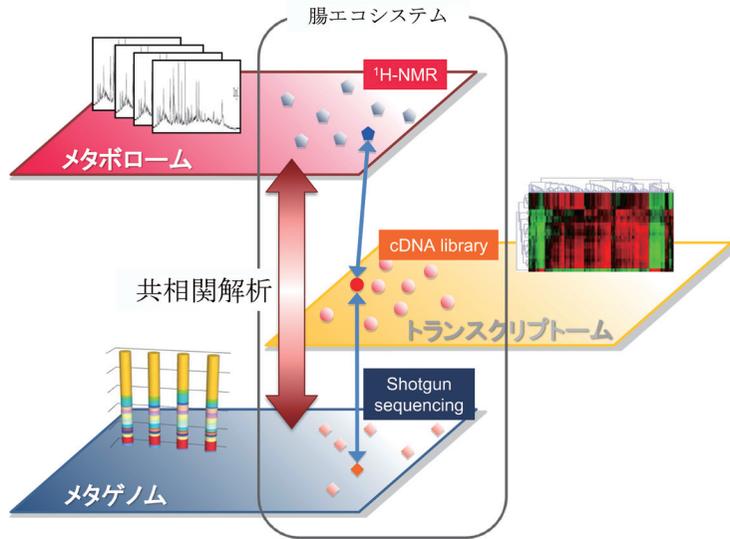


Fig. 4 Integrated Omics approach.

Integrated omics approach, where cyclopedic analyses of distinct biological layers are integrated, is suited for understanding of molecular mechanisms underlying the host-gut microbiota interaction. (reproduced from the webpage of the author: <http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>)

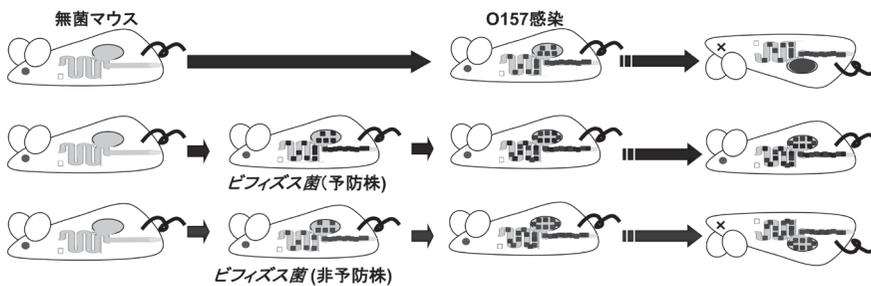


Fig. 5 Prevention of O157-infectious mouse death with prior association with certain strains of *Bifidobacterium*.

Some strains of *Bifidobacterium* protect mice from O157-infectious mouse death upon prior oral administration, while other strains fail to do so. (reproduced from the webpage of the author: <http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>)

ス菌を投与しておく、その後の無菌マウスの O157感染死を阻止できる予防株と、阻止できない非予防株が存在する (Fig. 5)。ビフィズス菌は放線菌門に属する偏性嫌気性桿菌であり、糖を代謝して乳酸や、酢酸などの短鎖脂肪酸 (Fig. 6) を産生する。予防株、非予防株のいずれを前投与した場合でも、その後に感染させた

O157やペロ毒素の糞便中の濃度に大きな違いはみられないが、血中ペロ毒素濃度は予防株投与により非予防株投与と比較して著しい低値を示す。また、予防株投与マウスでは、O157感染時にみられる大腸末端部の上皮細胞死や炎症も認められない¹⁴⁾。すなわち、予防株ビフィズス菌はマウス大腸上皮細胞に作用することで

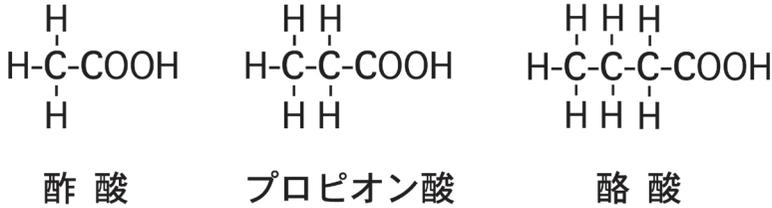


Fig. 6 Short-chain fatty acids commonly produced by gut microbiota. Among short-chain fatty acids, acetate, propionate and butyrate are predominantly produced by gut microbiota. (reproduced from the webpage of the author: <http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>)

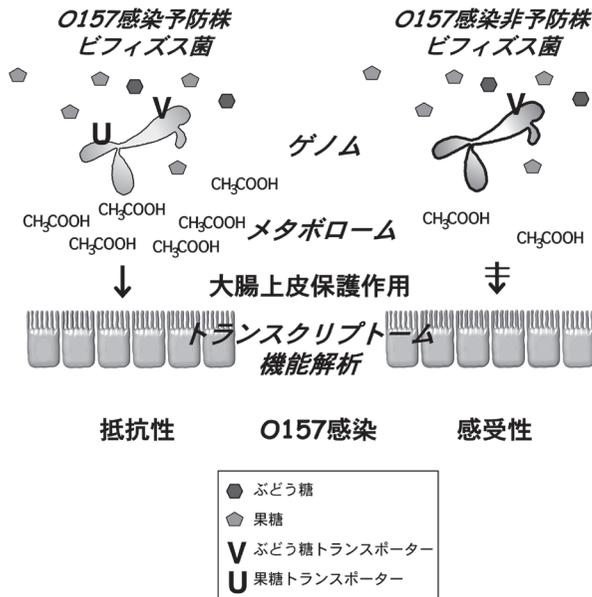


Fig. 7 Diagram of the protective effect of *Bifidobacterium* on O157-infectious death of mice. Protective *Bifidobacterium* possessing fructose transporter genes (refer to Fig. 8) produces enough amount of acetate throughout the colon to confer resistibility against O157-induced cell death on colonic epithelial cells (left). By contrast, non-protective *Bifidobacterium* lacks fructose transporter genes and thus cannot produce enough acetate in the distal part of colon where glucose is used up while fructose is still available (right). (reproduced from the webpage of the author: <http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>)

O157感染による細胞死や炎症を予防し、ペロ毒素の血中への移行を阻止すると考えられる。予防株が分泌する代謝物が上皮細胞に作用する可能性を考え、予防株・非予防株定着マウスの糞便中の代謝物をNMRを用いたメタボローム解析により網羅的に定量解析した結果、予防株定着マウスでは非予防株定着マウスに比べ酢酸含有量が有意に高かった (Fig. 7)。そこで酢酸にO157感染死予防作用があるかを検証するため、非予防株定着マウスに、加水分解により酢酸を持続的に放出するアセチル化でんぷんを餌に混ぜて投与すると、糞便中の酢酸濃度が増加するとともに、その後のO157感染死が抑えられた¹⁴⁾。

予防株が大腸上皮細胞に及ぼす作用を調べるため、予防株・非予防株定着マウスから大腸上皮細胞を回収し、マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析によりその遺伝子発現を比較した。その結果、予防株定着マウスでは非予防株定着マウスと比較して、エネルギー代謝・抗炎症作用関連遺伝子群の発現増強が認められた。これらの遺伝子群は腸管上皮細胞株の培養液に酢酸ナトリウムを添加した際にも発現の亢進がみられ、さらにO157との共培養による上皮細胞死も酢酸添加により抑制されることから、酢酸が大腸上皮細胞に作用して遺伝子発現を変化させることでO157による細胞死を抑制し、ペロ毒素の体内への移行を阻止し、マウス

の感染死を予防することが示唆された¹³⁾ (Fig. 7)。

最後に、菌株側の違いを明らかにするために予防株・非予防株の比較ゲノム解析を行ったところ、予防株に存在する果糖のトランスポーターをコードする遺伝子群が非予防株では欠損しており (Fig. 8)、結果として、予防株はブドウ糖、果糖の両者を代謝して酢酸を産生・分泌することができるが、非予防株はブドウ糖からしか酢酸を効率よく産生できないことがわかった (Fig. 7)。ブドウ糖は大腸上部に接続する盲腸の内容物中には十分量存在するが、糞便中ではほとんど検出されない。他方、果糖は糞便中に十分検出される。したがって、予防株はこの果糖を利用して大腸末端部でも酢酸を作り続けることで大腸上皮細胞の遺伝子発現に作用してO157による細胞死抵抗性を付与するが、非予防株は大腸下部では十分量の酢酸を作り続けることができず、O157による上皮細胞死が起こる結果として破綻した上皮バリアからペロ毒素が血中に移行して感染死をもたらすと考えられる。

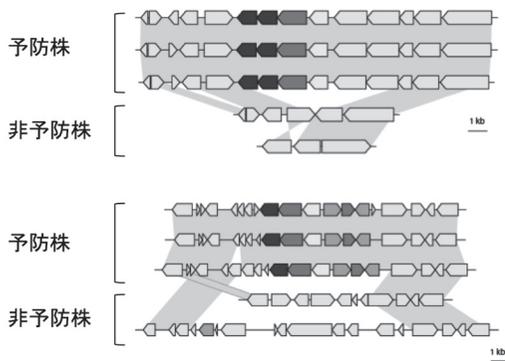


Fig. 8 Diagram of the gene structure of butyrate transporter genes.

There are two fructose transporter genes, both are ATP-binding cassette-type transporters, in the *Bifidobacterium* genome. These two genes exist in the protective *Bifidobacterium*, whereas they are lacking in the non-protective *Bifidobacterium*. (reproduced from the webpage of the author: <http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>)

2) 酪酸による大腸制御性T細胞分化促進

腸内細菌叢構成菌であるクロストリジウム目 (order Clostridiales) 細菌の中には、われわれ宿主の消化酵素では分解されない難消化性食物繊維を分解することでマウス大腸粘膜固有層におけるナイーブT細胞から制御性T細胞への分化を促進する菌群が存在する¹⁶⁾。そこで、食物繊維を豊富に含む餌と含まない餌を与えたマウスの盲腸内容物中の代謝物をメタボローム解析したところ、食物繊維を含む餌を投与されたマウスでは、短鎖脂肪酸である酪酸、プロピオン酸、酢酸、ならびにアミノ酸であるロイシン、イソロイシン、 γ アミノ酪酸が特に豊富に含まれていた。これらの物質に制御性T細胞分化促進能があるか否かを*in vitro*制御性T細胞分化誘導培養系で検討した結果、酪酸に強い誘導促進活性が認められた (Fig. 9)。制御性T細胞は、生体にとって不利益な異常・過剰な免疫応答を抑制することで、自己免疫疾患やアレルギー、炎症性疾患などの発症や増悪を抑える、いわば免疫恒常性のバランスの維持に重要な細胞である¹⁷⁾。酪酸はヒストン脱アセチル化酵素の阻害

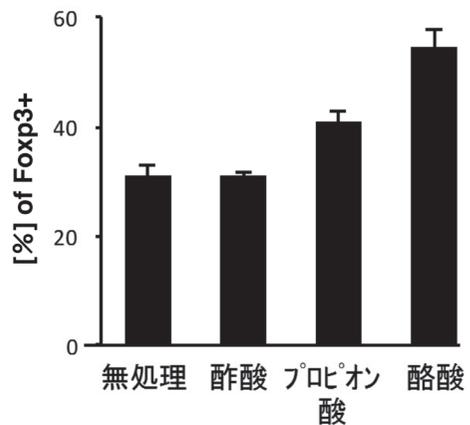


Fig. 9 Augmentation of regulatory T-cell differentiation by butyrate.

Naïve T cells purified from the spleen of C57BL/6J mice were stimulated with anti-CD3 and anti-CD28 antibodies in the presence of IL-2 and TGF β . Sodium acetate, sodium propionate or sodium butyrate were added to the culture medium, and the percentage of Foxp3 positive cells were determined with flow cytometry. (reproduced from the RIKEN press release article: http://www.riken.jp/pr/press/2013/20131114_1/)

剤である¹⁸⁾。そこで、*in vitro*分化誘導時の制御性T細胞の全ゲノムのヒストンアセチル化状態をクロマチン免疫沈降-シーケンス (ChIP-seq) 法で調べたところ、酪酸により、制御性T細胞のマスター転写因子であるFoxp3遺伝子を含む一部の遺伝子のプロモーター領域でヒストンアセチル化が亢進し、その結果Foxp3遺伝子の発現増強が起こることが、大腸制御性T細胞の分化誘導促進のメカニズムであることが示唆された (Fig. 10)。酪酸化でんぷん含有餌を投与したマウスでは、大腸粘膜固有層で増加した制御性T細胞によりマウスの実験腸炎の症状が軽快することも示され (Fig. 11)、酪酸が制御性T細胞の分化促進により腸管免疫恒常性の維持に働いていることが示唆された¹⁶⁾ (Fig. 12)。

V. おわりに

腸内細菌叢の異常は、様々な疾患の発症や増悪の原因となる可能性がある。ヒトのゲノムワイド関連解析 (GWAS) と同様、メタゲノム解析のみでは腸内細菌叢の機能に迫ることは難しく、疾患との因果関係を直接示すこともできない。しかし、上記のように、異なる階層の網羅的解析を駆使した統合オミクス手法を適用することで、宿主-腸内細菌叢相互作用のメカニズム解明が可能となる。今後の技術革新とともに、より網羅性や精度の高い統合オミクス手法が確立されれば、様々な疾患症例サンプルや大規模ヒトコホート試験サンプルを解析することで、疾患発症関連バイオマーカーの同定やそれに基づく新たな治療法、予防法の開発が期待できる。

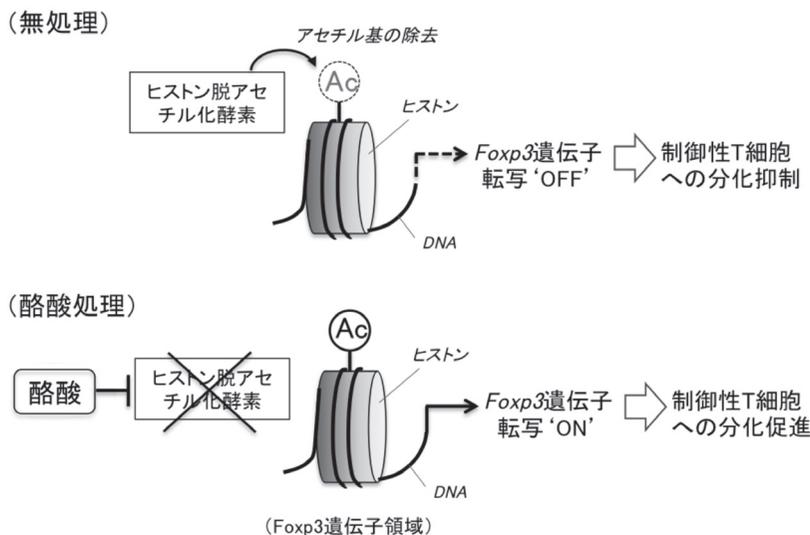


Fig. 10 Diagram of the histone acetylation status and transcriptional regulation. When histone is deacetylated by histone deacetylase (HDAC), chromatin DNA is tightly associated with histone; in case of the promoter region, the accessibility of transcription factors is limited and hence the transcription tends to be suppressed (top). In the presence of butyrate, HDAC is inhibited and histone acetylation is upregulated. As a result, chromatin DNA is loosen and the transcription tends to be enhanced (bottom). (reproduced from the RIKEN press release article: http://www.riken.jp/pr/press/2013/20131114_1/)

対照群

酪酸化でんぷん群

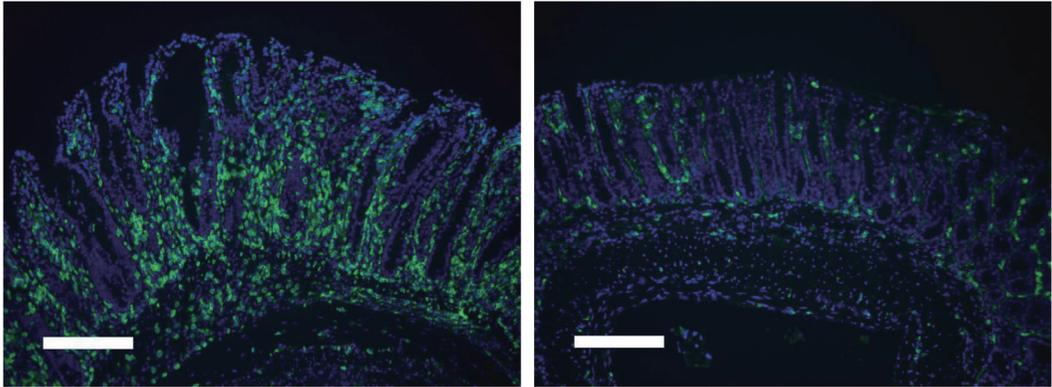


Fig. 11 Amelioration of experimental colitis in mice by butyrate-induced regulatory T cells. Experimental colitis was induced by adoptive transfer of naïve T cells purified from the spleen of C57BL/6J mice into T-cell- and B-cell-lacking RAG1-deficient mice fed with diet containing normal starch or butyrylated starch, and infiltrated CD4+ inflammatory T cells (shown white) in the colonic lamina propria were analyzed in the fixed colonic section. (reproduced from the RIKEN press release article: http://www.riken.jp/pr/press/2013/20131114_1/)

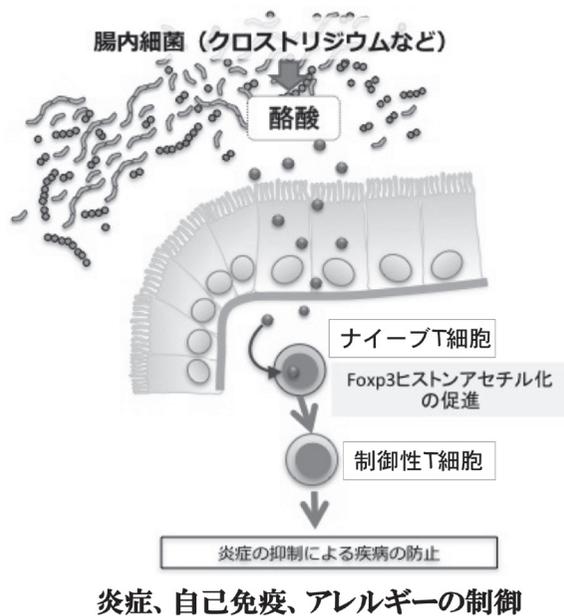


Fig. 12 Diagram of the enhanced differentiation of regulatory T cells by butyrate. Butyrate derived from gut commensal bacteria blocks histone deacetylation in differentiating regulatory T (Treg) cells, which leads to deacetylation of promoter and enhancer regions and subsequent enhanced transcription of *Foxp3* gene, ultimately resulting in the enhanced differentiation of Treg cells. In this process, commensal bacteria-derived antigens are necessary¹⁶⁾. The differentiated Treg cells secrete anti-inflammatory cytokine IL-10 to contain adverse immune responses such as prolonged inflammation, autoimmunity, and food allergy. (reproduced from the webpage of the author: <http://leib.rcai.riken.jp/riken/index.html>)

文献

- 1) Sender R, Fuchs S and Milo R: Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. PLoS Biol 14: e1002533, 2016.
- 2) <http://www.metahit.eu/>
- 3) <https://hmpdacc.org/>
- 4) Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenکو T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R and Gordon JI: A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature 457: 480-484, 2009.
- 5) Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batto JM, Hansen T, Le Paslier D, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J; MetaHIT Consortium, Bork P, Ehrlich SD and Wang J: A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464: 59-65, 2010.
- 6) Kaunitz J and Nayyar P: Bugs, genes, fatty acids, and serotonin: Unraveling inflammatory bowel disease? F1000Res 4(F1000 Faculty Rev): 1146, 2015.
- 7) Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S, Prifti E, Vieira-Silva S, Gudmundsdottir V, Pedersen HK, Arumugam M, Kristiansen K, Voigt AY, Vestergaard H, Hercog R, Costea PI, Kultima JR, Li J, Jørgensen T, Levenez F, Dore J; MetaHIT consortium, Nielsen HB, Brunak S, Raes J, Hansen T, Wang J, Ehrlich SD, Bork P and Pedersen O: Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. Nature 525: 262-266, 2015.
- 8) Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC and Horak I: Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. Cell 75: 253-261, 1993.
- 9) Shouval DS, Ouahed J, Biswas A, Goettel JA, Horwitz BH, Klein C, Muise AM and Snapper SB: Interleukin 10 receptor signaling: master regulator of intestinal mucosal homeostasis in mice and humans. Adv Immunol 122: 177-210, 2014.
- 10) Garrett WS, Lord GM, Punit S, Lugo-Villarino G, Mazmanian SK, Ito S, Glickman JN and Glimcher LH: Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. Cell 131: 33-45, 2007.
- 11) Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER and Gordon JI: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 444: 1027-1031, 2006.
- 12) Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, Iwakura Y, Oshima K, Morita H, Hattori M, Honda K, Ishikawa Y, Hara E and Ohtani N. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. Nature, 499: 97-101, 2013.
- 13) van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, Visser CE, Kuijper EJ, Bartelsman JF, Tijssen JG, Speelman P, Dijkgraaf MG and Keller JJ: Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. N Eng J Med 368: 407-415, 2013.
- 14) Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y, Yoshimura K, Tobe T, Clarke JM, Topping DL, Suzuki T, Taylor TD, Itoh K, Kikuchi J, Morita H, Hattori M and Ohno H: Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. Nature 469: 543-547, 2011.
- 15) Barnett Foster D: Modulation of the enterohemorrhagic *E. coli* virulence program through the human gastrointestinal tract. Virulence 4: 315-323, 2013.
- 16) Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, Nakanishi Y, Uetake C, Kato K, Kato T, Takahashi M, Fukuda NN, Murakami S, Miyachi E, Hino S, Atarashi K, Onawa S, Fujimura Y, Lockett T, Clarke JM, Topping DL, Tomita M, Hori S, Ohara O, Morita T, Koseki H, Kikuchi J, Honda K, Hase K, Ohno H: Commensal microbe-derived butyrate induces colonic regulatory T cells. Nature 504: 446-450, 2013.
- 17) Shevach EM: Biological functions of regulatory T cells. Adv Immunol., 112: 137-176, 2011.
- 18) Davie JR: Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate. J. Nutr., 13: 2485S-2493S, 2003.