

第34回科学委員会

日時 令和元年10月7日(月)

15:00~

場所 PMDA会議室21~24(14階)

<開会>

- 井上委員長　それでは定刻になりましたので、第34回科学委員会を開催いたします。本日はお忙しい中ご出席いただきまして、誠にありがとうございます。
- まずは、事務局から委員の出席状況の報告と、資料の確認をお願いいたします。

<委員の出席状況と資料確認>

- 事務局(下川)　委員22名のうち、本日は13名の先生方にご出席いただいております。過半数に達しておりますので、本委員会の成立をご報告いたします。また、本日は有識者としてご講演いただくため、大阪大学免疫学フロンティア研究センター拠点長の竹田潔先生、理化学研究所生命医科学研究センター粘膜炎システム研究チームのチームリーダー、大野博司先生にお越しいただいております。

次に、配布資料の確認をさせていただきます。座席表、議事次第、資料取扱区分表のほかに、資料1~3と参考資料が1つございます。不足の資料がございましたら、事務局までお願いいたします。

次に、資料取扱区分表をご覧ください。本日の配布資料は、資料1と資料2は「取扱注意」ですが、資料3と参考資料は「その他」に該当しております。取扱いについてよろしくをお願いいたします。事務局からは以上です。

- 井上委員長　それでは、議題に移ります。先ほど事務局よりご紹介がありましたが、本日は外部有識者のお二方にご講演いただきます。ここまでの背景ですが、8月19日の第32回科学委員会でAMR専門部会の報告書についてご承認いただき、さらに新たに「コンピューターシミュレーションを活用した医療機器ソフトウェアの審査の考え方について」の専門部会を立ち上げることが決定いたしました。もう1つのゲノム編集専門部会についても順調に議論が進んでおり、今年中に報告書をまとめるべく議論が進んでいると、部会長の山口委員からご報告を受けております。

このため、次の科学委員会のテーマ検討のための話題提供として、今日は最近大きな注目を集めている研究領域のうち、マイクロバイームについての最近の研究動向についてご講演いただくことになりました。したがって、本日は議題の採択はいたしません。最初に、大阪大学免疫学フロンティア研究センター拠点長の竹田潔先生からご講演いただきます。竹田先生は腸管免疫、腸内環境、腸管上皮層を研究対象とされ、今年度初めには、腸内細菌が作る乳酸・ピルビン酸により、免疫が活性化される仕組みを解明し発表されて、この分野に大きな貢献と深い造詣をお持ち

ちであります。それでは竹田先生、よろしくお願いいたします。

＜マイクロバイームに関するご講演と意見交換：腸内細菌叢と疾患の関わりについて
（大阪大学免疫学フロンティア研究センター 竹田 潔 拠点長・教授）＞

○竹田教授 ご紹介ありがとうございます。大阪大学の竹田です。本日は、マイクロバイームの腸内細菌叢についての話題をご提供くださいということで、私から腸内細菌と様々な病気の関わりについて、私の研究実験結果等も入れながら概説させていただきたいと思います。

近年、消化管に腸内細菌というものが多数存在しているということが言われていますが、胃及び十二指腸、この辺りでは高々100個程度の細菌がいます。それが小腸の下部に行くと、100万個を超えるような細菌の数になり、大腸に至りますと、10兆個を超えて100兆個にも迫るような膨大な数の腸内細菌が存在しています。ヒトを構成する細胞数が30~40兆個と言われていいますので、ヒトを構成する細胞よりも多い数の腸内細菌が消化管腔内に存在しているのだということが分かってきています。さらに、種類にすると1,000種類を超えるような多彩な種類の腸内細菌がここに生息するようになっていっていることが分かってきました。

この腸内細菌、その多くは少しでも空気に触れると死んでしまう偏性嫌気性菌ですが、一方、大腸という組織は、特に大腸の管腔のほうは嫌気的な環境ということで、嫌気的な環境の住処を腸内細菌に提供して、そこに腸内細菌が住み着くと、今度は腸内細菌が我々の宿主の健康維持に多大なる影響を及ぼしているという好循環があるために、共生関係というものが築かれているのだということが理解されるようになっていいます。

健康維持にどのような影響を及ぼすのかということですが、大きく2つが分かっています。1つは栄養素の産生、2つ目が感染症の防御、特に、獲得免疫系の活性化を介した感染症の防御という大きな2つの役割があるのだということが理解されています。

まずは栄養素ですが、我々の消化管は、毎日食べる食事を胃や小腸で消化して栄養素を作り出すということになっていっていますが、我々が持っている消化管の酵素で全ての栄養素を作り出すことはできないということが分かっています。ここに挙げているような一部の栄養素は、腸内細菌が持っている酵素が食事を利用して作り出してくれていて、腸内細菌が作り出したこういう栄養素を我々は健康維持に用いているのだということが分かっています。

こういった栄養素の産生だけではなくて、感染症の防御、免疫系の強化という観点でも腸内細菌は大きな役割を担ってくれています。この腸内

細菌による感染症の防御という観点からは、専門用語で colonization resistance、腸内細菌がコロナイズ、定着することによって感染への抵抗性、レジスタンスが生まれるという意味での造語ですが、そういう名前が付けられています。

この colonization resistance には、間接的なものと直接的なものがあります。まず、間接的なものはどのようなものがあるかということですが、ここに記載しているように、獲得免疫細胞、Bリンパ球やTリンパ球があります。こういうBリンパ球やTリンパ球は、骨髄あるいは胸腺で産生されても、ナイーブなリンパ球で、まだまだその機能を発揮することができません。例えば、Bリンパ球が抗体産生細胞に分化するのに腸内細菌が必要であるということ、ナイーブなTリンパ球が、特にCD4陽性T細胞の場合にはエフェクターT細胞、Th1細胞、Th17細胞に分化していくのに、やはり腸内細菌が必要であるということがマウスを用いた実験から分かってきています。このように、腸内細菌がBリンパ球、Tリンパ球を活性化させることによって、間接的に感染防御を担っているのだということが明らかになっています。

こういう獲得免疫系、リンパ球の活性化だけではなくて、腸内細菌が存在している消化管には上皮があります。この上皮細胞に働きかけて、様々な抗菌物質を産生して、これが消化管感染症の防御に必要なだということも分かっています。このように、獲得免疫系、リンパ球の活性化、上皮からの抗菌物質の産生、こういったところで間接的に感染防御というものを担ってくれています。

直接的なものはどのようなものかということですが、先ほど大腸には10兆個を超えて、100兆個にも迫るような腸内細菌がいると言いましたけれども、言い替えますと、大腸というものは腸内細菌、食物残渣で充満していて、もはやここには、ほかのものが入るスペース、余地がないということです。そういったところに病原細菌が少数入ってきても、ここでは普段存在している腸内細菌が自ら必要な栄養素を作り出して、どんどん増殖しています。入ってきても栄養素を取ることができないので、なかなか増殖できない。そういったところでこの大腸、消化管では蠕動運動を起こしていますので、この蠕動運動によって増える暇もなく、糞便として排出される、こういった形で感染症を防いでいることが理解されるようになっていきます。

また、例えば乳酸菌ですが、乳酸菌というのは乳酸を産生するので乳酸菌と呼ばれていますけれども、乳酸という物質は酸性物質で、あらゆる生物にとっては toxic です。そういった微生物、生物にとっては toxic なも

のを産生することによって、やはり感染症の防御を担ってくれています。このように、様々なメカニズムで感染症の防御というものを、腸内細菌が担っているのだということが理解されるようになってきています。このように、腸内細菌は嫌気的な環境という住処をもらって一旦定着すると、特に栄養素の産生、感染症の防御という大きな2つの観点で、我々の健康維持に多大なる影響を及ぼしているのだということで着目されるようになってきています。

さらに着目されるようになってきたのは、腸内細菌が健康維持だけではなくて、様々な病気の発症あるいは病態と深く関わっているのだということが次々と報告されるようになってきたからではないかと思えます。先ほど1,000種類を超える腸内細菌が消化管に存在するという話をしましたが、同じ地域に住んでいて、同じような食べ物を食べている健康な人たちの腸内細菌を見ると、大体同じようなパターンを示していて、同じような腸内細菌を持っています。

しかし、腸内細菌の割合は、様々な要因で簡単に変化します。最も変化させる要因は、食事内容にあります。世界に目を向けると、今でも主なタンパク質源として肉ではなくて穀物を主食としている地域があるかと思えますが、主食が穀物なのかタンパク質源が肉なのかというところで、全く腸内細菌の割合が変わってしまうことが分かっています。これは、肉を好む腸内細菌が増えるのか、穀物を好む腸内細菌が増えるのかという単純な理由です。もちろん、脂肪が多い少ないによっても、脂肪を好む腸内細菌がどんどん増えることによって、高脂肪食を食べると腸内細菌の割合が変化していきます。栄養状態によっても腸内細菌の種類、あるいは数が多大なる影響を受けるということが分かっています。

こういう食事内容だけではなくて、例えば我々が日々受ける様々なストレスによっても腸内細菌の割合が変わってきます。感染症、特に消化管感染症などが起こると、劇的に腸内細菌の割合が変化していきます。加齢によっても腸内細菌の割合が変わっていくことが近年、報告されるようになっていきます。

ここに挙げていないもの、ほかにも様々な要因によって腸内細菌の割合が変化するということが分かっているわけですが、先ほど腸内細菌の機能として栄養素の産生、感染症の防御、特に獲得免疫系の活性化を介する感染症の防御という働きがあると言いましたけれども、この1,000種類を超えるような腸内細菌の割合が変化することによって、獲得免疫系の活性化状態が変わって来たりします。あるいは作り出される栄養素、代謝物の濃度も変わってきます。こういったものが変わることによって、

様々な病気の発症、病態と深く関わり得るのだということが近年、理解されるようになっていきます。

この中で順番にここを概説していきたいと思いますが、まずは私たちの研究室で主にやっている炎症性腸疾患との関わりです。これは、腸内細菌がこの病態に深く関わっているのは容易に理解できるかと思います。炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎に代表される疾患ですが、難病として現在も報告されています。これはアメリカのスタディーになりますが、健常人と炎症性腸疾患患者さんの回腸部分から大腸のそれぞれの部分、更には糞便中の腸内細菌を調べると、健常人ではこの紫色と緑色の腸内細菌がメインになっていて、今現在、日本でも大体このようなパターンです。

炎症性腸疾患の患者さんを見ると、一見して全く異なる腸内細菌を持っているということが分かっています。

炎症性腸疾患の病態はどう考えられているのかということですが、この病気は宿主側の遺伝的な素因も必要ですけれども、決してこれだけで起こる病気ではありません。遺伝的な素因で、宿主側の異常がある中で、我々が食べる食事あるいは腸内細菌、こういった腸内環境の異常、この2つが複雑に絡み合っただけで起こる病気なのだろうと考えられているわけです。こういった2つの複雑な要因によって起こる病気なので、その原因がよく分かっていないのだろうと考えられているわけですが、最終的にはこの病気というのは、消化管にある免疫細胞が、特に腸内細菌を攻撃していることが炎症の実態です。

ただ、免疫細胞というものはこういう異物を認識して、反応を起こして排除するのが基本的な原理です。免疫側からすると、炎症性腸疾患というものは当然のことをやっているわけであって、健常な状態で免疫細胞が腸内細菌を攻撃しないということが、何かおかしいことになっているのだと逆説的に考えます。どうして健常な状態で免疫細胞が腸内細菌を攻撃しないかということを考えると、この絵を見ても分かりますように、免疫細胞と腸内細菌の間には、1層の消化管上皮細胞というものが存在しています。この消化管上皮というのは先ほども言いましたように、我々が食べる食事を消化して作り出した栄養素を吸収する細胞ということはメインの機能として知られていますが、それだけではなくて、免疫にとっての異物を免疫から分け隔てるバリア機能もあるのだろうと考えられています。そういうバリア機能という観点で消化管の上皮細胞を見ると、消化管の上皮は粘液によって覆われていることが知られています。この粘液というものによって覆われているので、粘膜組織という名前も付い

ています。

胃や小腸の上皮細胞に比べて、膨大な数の腸内細菌が存在している大腸の上皮層は、極めて分厚い粘液層によって覆われていて、この粘液層は、内粘液層と外粘液層という2つの粘液層から成り立っていることが従来から知られています。外粘液層と内粘液層は何がどう違うのかということですが、ネズミの大腸を青色が宿主の細胞核、赤色が腸内細菌、緑色が粘液、ムチンを染めています。ここに大腸の組織があって、ここが大腸の管腔になっていきます。外粘液層に相当する所には、赤く染めた腸内細菌が確かに膨大な数存在していますが、内粘液層に相当する所は、粘液はありますけれども、赤く染めた腸内細菌は全然存在しない、すなわち、内粘液層が存在することによって、生体にとっての異物である腸内細菌は直接宿主と接することなく、管腔内に生息していることが分かってきます。

大腸で腸内細菌と上皮を分け隔てるメカニズムは何なのかということを見ると、これまでの常識は、粘液というのは極めて粘性が高い液体、だから粘液と呼ばれています。粘性が高いことによって、物理的に侵入を止めているのだろうと考えられていましたが、本当にそれだけなのかということを考えていろいろアプローチをすると、Lypd8 という大腸の上皮に発現していて、どんどん分泌される分子が腸内細菌の運動性を止めて、内粘液層を無菌に保つことによって腸管炎症を止めていることが分かってきました。炎症性腸疾患の患者さんでは、このLypd8の発現も減少しているということで、Lypd8による腸内細菌の分割、宿主に接しさせないということが腸管恒常性維持に極めて重要なのだろうということが分かってきています。

このように、生体にとっての異物そのものである腸内細菌は、基本的に宿主と直接接することなく、消化管腔という体の外側に生息しているわけですが、最初に言いましたように、腸内細菌は宿主の健康維持に大きく貢献しているわけです。こういったメカニズムで宿主に作用しているのかということ考えた場合には、腸内細菌が産生する様々な代謝物が生理活性を有していることが分かっています。これに関しては、次の演者の大野先生が短鎖脂肪酸が生理活性を持っている代謝物として作用するのだということを様々な観点から報告されているかと思えます。

短鎖脂肪酸だけなのかということで、私たちもいろいろ代謝物、腸内細菌が作り出すものについて解析をしているわけですが、いくつか紹介いたします。1つ目は、アデノシン3リン酸、ATPです。このATPというものは、細胞の中でATPからADPに分解される中で、エネルギーを作り出す

ような物質としてよく知られていますが、ATP は腸内細菌依存的に消化管腔内で大量に産生されて、免疫細胞、特に樹状細胞に作用してエフェクターT細胞応答を惹起し得るのだということが分かっています。

もう1つ消化管の粘膜組織には、ユニークな免疫細胞があって、これは樹状細胞の一種ですが、CX₃CR1陽性の樹状細胞というものが消化管上皮の直下に存在している。それだけではなくて、樹状突起を消化管腔内に直接伸ばして行って、消化管腔内の抗原を直接取り込むことによってエフェクターT細胞、獲得免疫応答を惹起させるということが教科書にも載っているわけです。この樹状突起を伸長させるメカニズムは何なのかと。ここまで伸ばすので、何か腸内細菌の代謝物が作用しているのではないかとということでアプローチしていくと、乳酸・ピルビン酸が腸内細菌依存的に腸管腔内で産生されて、これが樹状突起を伸ばすことによって免疫応答を惹起することが分かるようになってきています。

このように炎症性腸疾患は、腸内細菌の割合の変化が直接作用し得るということで考えやすいわけですが、そのほかにも、いろいろな疾患との関わりが分かっています。この腸内細菌の割合が変化することによって病気と関わってくる場合に、この変化自身を *dysbiosis* と呼ぶようになっています。この *dysbiosis* によって、例えば獲得免疫系の活性化状態が変わります。獲得免疫系には、エフェクターT細胞として、Th1なりTh17、Th2等がありますが、Th1、Th17が過剰応答になった場合に、Th1、Th17依存的に起こり得るようないろいろな組織の自己免疫疾患が起こり得ます。

例えば、中枢神経系の自己免疫疾患の多発性硬化症、あるいは関節リウマチなどが出てきます。大阪大学の先生との共同研究ですが、関節リウマチの患者さんの腸内細菌を調べますと、これは個々の患者さん、健常人の腸内細菌のパターンを示しています。日本では *Bacteroides* が優性となった腸内細菌を持っている場合がほとんどですが、一部ここを見ると、プレボテラ、黄色で示した腸内細菌が多いポピュレーションが出てきますけれども、ここは関節リウマチの患者さんだけになります。すなわち、関節リウマチの患者さんで、プレボテラ優位の腸内細菌の割合の変化、*dysbiosis* というものが認められるわけです。これは大阪だけではなくて、アメリカ等でも同じようなことが報告されています。

私自身は基礎研究者なので、確かに *dysbiosis* があるのですが、これが実際に関節リウマチの原因になり得るのか、単に病気の結果を見ているだけなのかということ、更にこの前田君と一緒にやっていったわけですが、マウスのモデルを用います。関節炎のモデルマウスとして、坂口志文先生が開発された SKG マウスというものがあります。SKG マウス

というのは、T細胞受容体のシグナル伝達に必須の Zap70 という分子の遺伝子に点突然変異があって、胸腺での T細胞のネガティブセレクションに障害が出て、オートリアクティブな T細胞が末梢に出ていくようなモデルです。このモデルマウスは、SPF の環境下で飼っている限りは元気にはしているのですが、そこに真菌等の感染を入れてやると、自然免疫系が活性化されて、オートリアクティブな T細胞が Th17 過剰応答になって、その結果、ひどい関節炎を発症していきます。

この SKG マウスの関節炎が腸内細菌と関わっているのかということで、SKG マウスに抗生物質を 4 剤投与して、腸内細菌をほとんどなくしてやると、確かに関節炎が起こらなくなると、腸内細菌は必要だろうということが分かります。

では、ヒトの腸内細菌は関わっているのかを解析しようということで、SKG マウスを完全無菌化します。後で Germ-free ということも紹介があるかと思いますが、完全無菌の SKG マウスをまず作製して、そこに先ほど紹介した関節リウマチのタイプのヒトの腸内細菌、プレボテラが優位です。あるいは健常人の Bacteroides が優位な腸内細菌を移植します。20 週後に SKG マウスの糞便を解析すると、関節リウマチのヒトの腸内細菌を移植した SKG マウスでは、プレボテラが優位なヒトの腸内細菌を持っていました。一方、健常人の腸内細菌を移植した SKG マウスでは、Bacteroides が優位なヒトの腸内細菌を持っていました。すなわち、同じ遺伝的なバックグラウンドで異なるヒトの腸内細菌を持つマウスが作れたわけです。

この 2 種類のマウスで、まず Th17 応答はどうかと見ていきますと、大腸、小腸、脾臓で IL-17 を産生する Th17、インターフェロン γ を産生する Th1 細胞の数を調べますと、大腸では特に、関節リウマチタイプのヒトの腸内細菌を持っていると Th17 応答が高くなっています。Th17 応答に関連した関節炎はどうかと見ると、健常人の腸内細菌を持っててもこの SKG マウスは関節炎を発症するように当然なりますが、関節リウマチのヒトの腸内細菌を持っていると、極めてひどい関節炎を発症するということが、確かに関節リウマチタイプの dysbiosis というものは、関節炎の発症あるいは少なくとも悪化に深く関わっていることが分かるようになってきています。このように、獲得免疫系の中でも Th1、Th17 が過剰になると、そこが絡んだ自己免疫疾患を発症し得ます。

逆にこの dysbiosis が Th2 を強化するような場合には、近年多くなっているアレルギー疾患の発症にも関わり得るのだと、ここは近年よく言われている衛生仮説とも関与するのだと考えますが、そういったことも分かるようになってきています。このように、獲得免疫系が異常になるこ

とによって、様々な免疫疾患の病態に深く関わっているのだということが理解されるようになっていますが、免疫系だけではなくて、作り出される代謝物の濃度も変わってきます。

そういったところがやはり病気と関わっていて、例えば動脈硬化にそういったところが関わることが分かってきています。これは欧米のスタディーになりますが、食事でチーズとか赤肉、甲殻類、卵、こういったものには Choline が多く含まれていますが、Choline を多く含む食事を食べると腸内細菌が Choline を TMA に代謝します。この TMA が吸収されて肝臓に行くと、肝臓の酵素によってトリメチルアミン N オキシド、TMAO に代謝されていきますが、この TMAO が動脈の粥状硬化を惹起するということが証明されるようになっていて、アメリカ等では Choline を TMA に代謝する酵素をターゲットにした創薬も考えられていると聞いています。

動脈硬化だけではなくて、神経系の発達性疾患、自閉症、こういったことにもやはり dysbiosis が関与していて、dysbiosis があると作り出される代謝物の濃度が変化して、それが血流を介して脳神経系の発達に影響を及ぼす可能性。あるいは迷走神経、この迷走神経は軸索を消化管まで伸ばしていますが、迷走神経の活性化状態を変えることによって、神経系の発達がおかしくなる可能性がディスカッションされています。神経系の発達性疾患だけではなくて、近年は神経の変性疾患、パーキンソン病等にも dysbiosis は関与し得るのだということが分かってきていて、そのメカニズムが詳細に解析されるようになっていきます。

消化器系のがん、もちろん大腸がん、肝がんには、やはり腸内細菌の変化が深く関わっているということが分かっていて、最後は代謝疾患、極度の肥満になります。欧米で認められる極度の肥満、極度の肥満に伴う糖尿病にも dysbiosis が関わっているということが欧米で詳細に解析されていて、同じ遺伝的バックグラウンドの双子のヒトで、極度の肥満と痩せているヒトがいるわけですが、その腸内細菌を調べると割合がやはり根本的に異なっています。私自身、食べる食事の内容も違うのでこうなるのだろうと考えますが、そういうコメントもあるかと思うので更に解析されるわけですが、同じ双子で太っているヒトと痩せているヒトの腸内細菌は異なっているわけですが、先ほどの関節リウマチと同じように、完全無菌マウスに移植すると、太っているヒトの腸内細菌を移植するとネズミが太る傾向になるということで、腸内細菌が何か太る体質、あるいは逆にこちらが痩せる体質を提供しているのではないかということが考えられるようになっていきます。

このように腸内細菌は、我々の健康維持に栄養素の産生、感染症の防御

という観点で大きな役割を担ってくれていますが、こういったことがあるがために、腸内細菌の割合が変化することによって、ざっと紹介したように様々な疾患の病態に深く関わっていることが分かるようになってきているということで、私の発表を終わらせていただきます。ありがとうございます。

○井上委員長 ありがとうございます。それでは、今の竹田先生のご講演にご質問等ありましたら、よろしく願いいたします。

○佐谷委員 素晴らしく分かりやすい講義をいただき、これほど分かりやすい講義は今まで聞いたことがなくて非常によく分かりました。現実におそらく腸内細菌が様々な疾患に関与するということは、先生のご説明で非常によく分かったのですが、腸内細菌の *dysbiosis* が起こっている環境は極めて重要ではないかと思うのです。いわゆる、無菌マウスなどは、健常なマウスが完全に無菌になった状態に、その菌を埋め込むのは、その環境よりも菌のほうに、ほぼ役割が主体になっているのですが、実際に、ヒトに対してこのようなものを是正するときには、既に病気を起こしている周辺環境が大事になってくると思うのです。

それは、先生のご説明による食物やジェネティックスなど、それらのものが全部重なって起こっているとしたら、是正するのは一時的なものになってしまうのではないかと思うのですが、その辺はいかがでしょうか。

○竹田教授 先生のご指摘のとおりだと私自身も思っています。まず、*dysbiosis* が病態と関わっているというのは、近年の様々な報告で分かるようになっていきます。では、どうして病気と関わった *dysbiosis* が起こってくるのかということが、まだ分かっていません。*dysbiosis* が病態と関わっていた場合、どのように *dysbiosis* を改善できるのかということ考えた場合、今日、紹介した疾患のほとんどは慢性的な疾患です。

例えば、感染症等々で *dysbiosis* が関わっている場合には、それは急性なものなので、一時的にポンとやれば効く、それが欧米で劇的に効果のあったディフィシル菌の感染症になります。このように紹介している慢性の疾患の場合には、恒常的な腸内細菌の割合の変化が関わっていた場合、*dysbiosis* 自身を変化させてやるというアプローチは、私自身、今のところの技術では極めて難しいのだろうと思っています。

ディフィシル菌の感染症に劇的に効いた糞便移植をこのような疾患に応用しようとしても、一時的には変わっても、すぐに元の *dysbiosis* 状態に戻ってしまい、結局、病態を劇的には改善できないという事実もあると私自身は認識しているので、そこは大きな壁だと思います。

○佐谷委員 ありがとうございます。

- 井上委員長 ほかにありますか。先生、今の双子の場合は遺伝子的には全く同じ場合であっても。
- 竹田教授 そうですね、一卵性双生児の場合ですね。
- 井上委員長 それは、やはり食物や、その原因がどのように分かっているのですか。
- 竹田教授 そうですね、私自身、最初に双子で太っているヒトと痩せているヒトの腸内細菌が違うという報告があったときには、それは食べる物が違うから当然だろうと認識はあるわけですが、食べる物が違っても、その結果、こういった病態が起こり得るのであれば、何かのアプローチ法はあるのかもしれないですし、食生活を改善することが1つのアプローチにはなるかもしれませんが。それでも、予防的なアプローチでしかありませんので、病気を治すという観点では、例えば、太っているヒトの高脂肪食、高カロリーを食べているのをやめさせるのは難しいことになるので、その辺りのアプローチはいろいろと難しい点はあるのだと思います。
- 井上委員長 ありがとうございます。ほかにありますか。後藤先生、どうぞ。
- 後藤委員 面白いお話をありがとうございます。SKG マウス、あるいはリウマチ患者さんでは、プレボテラ菌が優位という部分が、かなり健常と RA と変わっているように見えました。抗生物質投与だと全ての菌をエリミネートしてしまうのではないかと思うのですが、例えば、そのプレボテラ菌にスペシフィックな抗生物質があれば、健常な細菌叢に戻ってきて RA に対する作用もあるなど、そのような考え方もできるのでしょうか。
- 竹田教授 先生のおっしゃるとおり、プレボテラという菌が、この RA の病態には関わっていきそうだという結果が出ると、そのプレボテラ菌をエリミネートしてやればいいのかということ、当然、考えられるわけです。そこですぐに思いつくのが、今のところ抗生物質なのです。
- この菌だけをターゲットにできるような抗生物質はないと、これも先ほどのディスカッションと一緒に慢性的な疾患なので、常にずっと抗生物質を投与しないといけないということになると、抗生物質自身の副作用としての機能障害も出てき得ますし、更には、菌交代現象で耐性菌の出現もあるところで、慢性の疾患に腸内細菌への介入という観点での抗生物質の利用は極めて難しいということです。ここは、まだ臨床的には誰もそういったアプローチは考えられないということになっています。
- 井上委員長 ほかにありますか。上田先生。
- 上田委員 ありがとうございます。臨床的には、骨髄移植のときに完全に1回無菌にするのです。それで腸内細菌の再生に関して、今後、何かこのような研究から、そのような状態から正常に元に戻るには、どのようなステップを踏めばいいか、そのような suggestionable な話が、今後できる可

能性があるのではないかと期待するのですが、いかがでしょうか。

○竹田教授 上田先生のおっしゃるとおりで、骨髄移植等々で完全に叩いてやった後に、どのように腸内細菌が再生してくるのか、元と同じなのかどうかというところは、今、本当に臨床の先生方がされているところで、骨髄移植をするとともに、そのジェネティックなほうは変わってしまうので、腸内細菌の割合も違う腸内細菌が付いて来るかもしれないですし、その辺りは、まだ数はそろっていないのですが、そういったアプローチはされていますので、その観点でも新しいことが出てくる可能性はあるのだと考えてはいます。

○井上委員長 ありがとうございます。

○山口委員 少し関連するのですが、DHT のときに糞便移植のものもいろいろ含まれていると思うのですが、そのような場合には、慢性の炎症性疾患とは違うので、要するに、そのような場合には適用できるのかという話と、実際に、効果があるという報告があるかと思うのですが。

○竹田教授 はい。

○山口委員 もう1つは、実際にスーパー糞便みたいなものがあるのかどうか、その辺についてどのように考えたらいいのかを教えてくださいたいです。

○竹田教授 その辺りは、大野先生のほうが詳しいかと思うのですが、スーパー糞便、本当に健常なディフィシル菌感染症というのが欧米で応用されていて、そこには、この腸内細菌が効くというところで応用されています。ただ、それは、ディフィシル菌感染症に対して効いたというだけで、それが全てに良い腸内細菌では絶対ないはずで、それぞれの疾患、それぞれのヒトによって、適切な腸内細菌というものは異なるのだということが大きな壁になってくるのだらうと思います。

○山口委員 そうすると、かなり一般化するのは難しいと。

○竹田教授 私自身は、そのようなイメージを持っています。

○井上委員長 ありがとうございます。ほかにありますか。

○楠原委員 Lypd8 の所でお尋ねしたいのですが、コスト側の個人差が生じるような要因というのは解析されているのでしょうか。例えば、何か特定の刺激があると産生量が増えたり減ったりなど。

○竹田教授 そうですね、現在、そこを詳細に解析しているところです。MRA の発現は健常人と炎症性腸疾患の患者さんでは、全く変わっていないのですが、タンパク質の発現になると変わってきているので、それがどうしてなのか、今、ヒトのサンプルをいただいて詳細に解析をしているところで、まだ詳細な答えというものは出ていないところです。

○楠原委員 将来、患者さんを層別化していく際に、Lypd8 の発現を反映するような

バイオマーカーについては何かご経験がありますか。

○竹田教授 今のところはもう、この分子自身以外には、なかなか、まだバイオマーカーというのは見つけられていないので、では、この Lypd8 がどのように臨床応用できるのかというのは、製薬会社等々とも協議しているところで、このリコンビナント、今日、話をしませんでした。炎症性腸疾患のモデルできれいに炎症を抑えられるので、リコンビナントを投与すれば効くようなイメージはあるのですが、では、リコンビナントを作って、どう消化管腔に届けるのかという問題があり、この概念は基本的にその腸内細菌の中でも運動性の高い鞭毛を持っている腸内細菌がターゲットになっているので、それをターゲットにした別のアプローチ法があるのではないかとということで製薬会社はアプローチを始めたりもしているところでは。

○楠原委員 ありがとうございます。

○井上委員長 ほかにありますか。

○門田(淳)委員 私は呼吸器が専門なので喘息に興味があり、先生は Th1、Th17 中心でおっしゃられたのですが、喘息は基本的に Th2 ですので、このような dysbiosis が Th2 系を活性化するような方向性というのは、今、どの程度分かっているのか教えていただければと思います。

○竹田教授 この dysbiosis でも、やはり Th2 が優位になるような dysbiosis がマウスのモデルでも報告はされています。それと、もう1つは、ヒトの場合にはサイエンティフィックのエビデンスとしても疫学的な話になるのですが、よく言われているのが、まずは出産形態で、経膾分娩なのか帝王切開なのかによって、その幼児期以降の腸内細菌のパターンが根本的に異なるという事実があります。それはおそらく、最初に飲み込む細菌の種類が違うからだろうとディスカッションされています。

もう1つのエビデンスは、帝王切開で生まれた子供たちは、アレルギー疾患になりやすいという疫学的な結果もあるので、それをつなぎ合わせると dysbiosis というものがアレルギー疾患にも関わり得るのかなというディスカッションはされていますが、まだこれは、サイエンティフィックにきれいに結び付いてはいないところで、どうしたらいいのかというのは、おそらく、そのアレルギー系の方はいろいろとやっているところだと思います。

○門田(淳)委員 もう一点ですが、抗菌薬でマウスのリウマチ発症が抑制されたと言われたと思うのですが、過去の海外の論文の中に、喘息の気道過敏性が、マイクロバイオーームと非常に関連があって、マイクロバイオーームの多い群にクラリスロマイシンという抗菌薬を長期間投与することによって、気

道過敏性が改善するという報告がありました。

喘息は、マイクロバイオーームと関係があることは報告されてなかったと思うのですが、今日の先生のお話をお伺いして、さきほどの論文の報告と照らし合わせると、喘息なども、dysbiosisに関連があり、耐性化を考えると使用しにくいのですが、抗菌薬の長期投与が気道過敏性を減弱させ、喘息の軽快につながる可能性があると思ひ、非常に興味深く聞かせていただきました。ありがとうございました。

○井上委員長 ほかにありますか。

○井関委員 ありがとうございます。お伺いしたいのは、どんどん大腸に行くほど、非常に細菌が多くなってくるということで、その手前の胃などは100個とのことでしたが、そこと大腸の細菌叢との関連というのは、やはりあるのでしょうか。

○竹田教授 ご指摘、ありがとうございます。まず、胃、小腸、大腸で存在している腸内細菌の種類も違います。そこにどのような相関があるのかということまでは、まだ解析が進んでいないという現実があります。何らかの関連があるとは考えられますが、まだ全然進んでいないところです。ご指摘ありがとうございます。

○井上委員長 ほかにありますか。

○遠藤副委員長 ありがとうございます。少し乱暴な実験ですが、坂口先生のモデルマウスで、関節炎を起こした後に腸内細菌を変化させるなどの実験は、行われているのでしょうか。

○竹田教授 ご指摘ありがとうございます。そこまでは、まだ実験ができていません。起こした後にdysbiosisを改善すると、関節炎を軽減できるかというアプローチまでは、まだやっていませんでした。

○遠藤副委員長 あと、食べ物を変えたら腸内細菌が変わるだろうという事に関連しての質問ですが、例えば、動物実験で餌を変えると、どのぐらいの時間で腸内細菌が変わるなど、そのようなデータはありますか。

○竹田教授 特に、高脂肪食の実験は、ネズミで最近よくされているのですが、いわゆるヒトの高脂肪食よりも、かなり極端な高脂肪食を与えるわけです。そうすると、1週間で腸内細菌のパターンは変わってくるようになっていきます。ただ、元に戻すと、また元のパターンに戻るなので、やはり、食事の内容によって増える増えないということなのだろうと考えられます。

○遠藤副委員長 難しい話になるかと思いますが、腸内細菌の比率を変えようというときに、どのようなことをすれば変わるのでしょうか。

○竹田教授 私は、腸内細菌の割合を変化させるというアプローチは、正直、なかなか難しいと思っています。colonization resistanceが、その説明になり

ますが、腸内細菌のパターンが基本的には自分のパターンですので、それを外から変えようとする、それは感染症、感染病限定だったら、もちろん劇的に変えられますが、そこには、いわゆる腸内細菌はなかなか定着しないものなので、変えていくというアプローチは困難が予想されるというのが正直な印象です。

○遠藤副委員長 データがあればということで、例えば、関節リウマチの患者さんに、抗生物質を投与すると、症状が良くなったとか、逆に悪くなったとか、そのような疫学的なデータなどはありますか。

○竹田教授 関節リウマチに関しては報告があり、ミノマイシンを投与すると関節炎が良くなったという報告がいくつかあるのですが、そのミノマイシンはプレボテラに効く抗生物質なので、もしかしたら、何かの相関があるのかもしれませんが。ただ、やはり抗生物質なので、長期投与ができないという事実があり、それは治療の指針には入ってこない形にはなります。

○遠藤副委員長 ありがとうございます。

○許委員 非常に多彩な病気が関係しているということですが、私は高齢者の施設におり、百寿研究というのがあつたのです。その超高齢者に共通の腸内細菌のパターンというのは研究されていますか。

○竹田教授 まさに、その百寿、慶應大学等々では、その辺りもされているので、今後、その百寿、超高齢者に特有の腸内細菌というものが分かつてくるかもしれないです。ただ、やはり注意しなければいけないのが、地域ごとに特有のパターンが出てくると思うので、全世界共通のものとはならないのかなとは思つた。

○許委員 人口比で見ますと、例えば、アメリカも日本も7万から7万5千人ぐらいの百寿者がいるわけですが、人口比でいくと2倍以上違うわけです。世界の百寿研究の中では、日本がダントツに百寿者の人口の比率が高いわけです。日本の百寿者の腸内細菌の良いパターンというものが、日本人の遺伝子のパターンなどに関連しているのか、それとも、もし、日本食と関係していれば、非常に世界に対するインパクトが大きいと思うので、その辺りもまた研究していただくとありがたいと思つた。

○竹田教授 まさしく、その辺りは慶應大学が、そのようなことを考えてされていると思つたので、これから何らかの結果が出てくると期待してあります。

○井上委員長 まだまだご質問がござつたと思つたのですが、また後でお聞きしてもよろしいかと思つた。それでは、竹田先生ありがとうございました。

＜マイクロバイオームに関するご講演と意見交換：腸内細菌叢代謝物と疾患・生体防御
（理化学研究所生命医科学研究センター 粘膜炎システム研究チーム 大野 博司 チームリ

ーダー) >

○井上委員長 次に、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のチームリーダー大野博司先生にご講演いただきます。大野先生は、平成28年度に発足したAMED事業のAMED-CRESTとPRIME「微生物叢と宿主の相互作用・共生の理解と、それに基づく疾患発症のメカニズム解明」のプログラムオフィサーを務めていらっしゃいます。また、今年7月には「自然リンパ球が肥満を誘導すること」を報告されております。それでは、大野先生、よろしくお願いいたします。

○大野チームリーダー よろしく申し上げます。竹田先生が総論的なところをお話されるということで、私は、腸内細菌が作る代謝物と疾患と生体防御を中心にお話させていただきます。竹田先生がおっしゃっていましたが、お使いになられていました無菌マウスがこの研究に応用されてきて、腸内細菌の研究が超速に進んだこともあります。これは無菌アイソレータとって、中が滅菌してあって、その中でマウスを飼育、あるいは繁殖もできるというものです。帝王切開で無菌的に取り出して入れることで、そのようなことができます。更にノトバイオトと言って、ギリシャ語で既知な生命、この中にいる生命体がマウスと既知の菌、微生物だけを定着させたような系も使われているわけです。

腸内細菌の研究が急速に進んだ1つの原因がメタゲノム解析にあって、これはいわゆる次世代シーケンサーが出たことによって、それまではそこにいる微生物を単離培養して同じDNAがある程度の量がないと解析できなかったわけですが、次世代シーケンサーでは、理論的には1配列1分子のDNAがあれば配列解析ができるということで、このような解析ができるようになりました。それで、メタゲノムと言っていますけれども、本来の意味でのメタゲノムはショットガン配列解析で、抽出したDNAを断片化して、それをそのまま網羅的に配列解析するので、その環境中にある、これも理論的には全生物の全ゲノム配列が分かります。

もう1つ、もうちょっと簡易的なものは、メタ16S解析とか16Sアンプリコン解析と言われていて、バクテリアの遺伝的な系統樹を作るのに、16SリボソームRNAの遺伝子の配列を使うわけです。それがこのように9つの部位・領域と、それを挟むとといいますか、ユニバーサル領域がありますので、そのユニバーサル領域に設定したプライマーで、これも理論的にはほとんど全ての菌の、例えばここここで挟んでやればV1、V2領域の断片ができ、それをPCRしてその断片を配列解析することで、どんな遺伝子を持っているか分からないけれども、どんな菌がそこにいるか分かるということです。金額的にはこの部分だけを配列解析するので、上

の10分の1ぐらいで、16Sが今だとおそらく1サンプル数千円、ショットガン解析が数万円以上なので、こちらよりはこちらでやって、どんな菌がいるかを見て、それからいろいろなディスカッションをしていくことが多いのですが、数万円といっても大分安くなったので、これからは基礎科学的にはこちらに移行していきたくらうと。そして臨床的な多くのヒトのサンプルをとる場合には、その組合せで科学が進んでいくのではないかと考えています。

腸内細菌の世界的な研究・取組は、ヨーロッパとアメリカで2008年にEUの予算、それからアメリカの国家的予算が投入されて、大規模なブルドーザー的な配列解析、いわゆるメタゲノム解析が進められました。我が国は働きかけはしていたのですが、なかなか日本はえいやっとお金を出すシステムにはなっておらず、欧米が進んできてようやく少しずつということで、先ほどご紹介のあったAMED-CRESTが立ち上がったという状況です。ただ、EUの場合には完全にトップダウン式でいきまして、アメリカもある程度方向性を決めて、これをできる人という形で手を挙げてという形で、ご存じのAMED-CRESTは、テーマは微生物叢と言っていますけれども、微生物叢に関係していれば何でもいいということなので、結局ボトムアップなので、まとまった形で、EUやアメリカのようにこういうプロジェクトを国のお金で進めることにはなっていないのが現状です。

そのメタゲノム解析が進んだ結果、先ほどから40兆とか100兆と言われてはいますがけれども、それが細菌の数であって、遺伝子の数で言うと、ヒトは当然クローンなので遺伝子の数は約2万2,000がヒトのゲノムが分かった2002年にネイチャーに出ましたけれども、菌の場合には数百種類の菌がお腹の中にいるわけですので、遺伝子の数としては60~70万の遺伝子があり、この宿主よりも圧倒的に複雑な遺伝子を擁して、複雑な代謝系を持っていると。それが宿主と相互作用することによって、複雑なユニークな腸の生態系、ガットエコシステムが形成されているわけです。これはJoshua Lederbergが2000年にサイエンスにコラムを出して、まだこのようなことが分かっていないときから彼は、宿主というのは微生物と宿主の、もっときちんと言くと、それらのゲノムがあたかもキメラのように融合してできている超生命体なので、我々はその超生命体の生理とか病理を理解するには、この腸エコシステムの理解が必須であるということになっているわけです。先ほどの竹田先生のスライドにもありましたけれども、腸内細菌なので腸の疾患と関与するだろうというのは想像に難くないわけですが、免疫アレルギー疾患、自己免疫疾患とか、あるいは骨髄移植など、腎移植などにも腸内細菌の状態が、その生着とか、

あるいは graft-versus-host disease (移植片対宿主病) に関与するというようなこと、これも竹田先生からご紹介ありましたが、代謝系の疾患、神経疾患にも関係していると。それがニワトリかタマゴかということですが、これは順番が違ってしまい申し訳ないです。腸内細菌の多様性の減少が合言葉になっていまして、例えば先ほどご紹介のあった病的肥満であっても、それから炎症性腸疾患、こちらは EU の国家的プロジェクトで初めて示されました。また、2 型糖尿病についても、一般的に多様性が減少するというのが病態の特徴であると。もちろんどのように減少しているかはそれぞれ病気で違ったとしても、多様性が減少するのは1つの大きな特徴です。

そして病気の原因となり得るかどうかに関しては、これも竹田先生のご紹介にありましたけれども、無菌マウスにその疾患のモデルマウスとか患者の糞便を付けることによって、その病態が再現される。先ほど食事のお話が出ていましたけれども、一卵性双生児でアフリカのクワシオルコルの場合には、クワシオルコルのお子さんから取ってきた、双子にも関わらず、その病気になった子と健常な子の菌叢を無菌マウスに移植して、それだけでは何も起きないけれども、そのクワシオルコルにあるような栄養失調の餌に換えてやると、クワシオルコル菌叢のマウスだけがその衰弱のようなことが起きるということなので、菌叢プラス環境がやはり重要であろうと。

これもずっとお話にありましたクロストリジウム・ディフィシル感染症 (*C. difficile* 感染症) ですが、糞便移植はいろいろなものに試されていますけれども、先ほども感染症なら効くだろうということで、例えば炎症性腸疾患であれば、深掘れ潰瘍が特にクローン病ではありますので、その潰瘍を治してから糞便微生物移植をすると寛解が長く続くことも報告されているようなので、元の病態の治療プラス菌叢を換えることが重要ではないかと。要は腸内フローラが病態を規定するということです。

これは竹田先生は話してなかったことで、日本から出た研究ですけれども、NASH (非アルコール性脂肪肝炎) 肝がんのモデルとして、普通にマウスに高脂肪食を食べさせると、脂肪肝ができます。腸内細菌も変わります。がんはできないのですが、この DMBA という発がんを誘導する薬剤をほんの少量、普通のマウスに1回だけ投与して、一生涯がんはできないような量を投与してから、高脂肪食を食べさせると、このように肝がんができてくると。そのときに組織学的には肝星細胞が細胞老化を起こして、炎症でサイトカインが大量に出るようなセルラーセネッセンスとサイトカインストームが起きると、そこで IL-1 β が特に出ているというこ

とから、IL-1 β のノックアウトマウスを使うと、同じようにこの処理をして、高脂肪食を食べさせてもがんはほとんどできないということで、肝星細胞が暴れるということが、その炎症からがんが起きるのだろうと。

では、どうやって起きるかということ、腸内細菌が変わって行って、新種のクロストリジウムが増えて行って、そのクロストリジウムがコール酸、マウスとかヒトが分泌する1次胆汁酸を2次胆汁酸であるデオキシコール酸に変えると。腸内細菌そのものの代謝物とは言わないですけども、腸内細菌が代謝してできた物質が、これはDNA損傷効果があるのですが、それを無菌マウスにしてやるとこの菌もなくなります。無菌といいますかこれは抗生物質で、4剤の抗生物質を投与してやると、やはり高脂肪食をやっても単に脂肪肝になるだけですけども、そこにデオキシコール酸そのものを飲ませてやると、やはりがんができる。ですので、これが原因なのだろうと考えられます。この場合には、このようなデオキシコール酸が原因だと。

これも先ほど竹田先生がおっしゃっていましたが、これは動脈硬化ですけども、このように腸内細菌が作る物質が疾患と関与している可能性がある。スライドが飛びましたが、便移植の場合には、この *C. difficile* 感染症2例で、しかも免疫不全状態にあった患者で、侵襲性の感染症が発生して、この便移植は同じドナーから移植された同じ施設での2例です。その2例とも β ラクタマーゼを産生する大腸菌の感染症であったと。ドナー便から同じ菌が検出されたということで、FDAが警鐘を鳴らしていて、こういうものの検査をした便を使いなさいとか、重篤な合併症が起きる可能性があることをきちんと患者に説明するようにと。これは今年7月頃に出たわけです。

sympiosis と dysbiosis と竹田先生もおっしゃっていましたが、正常な状態、何が正常、何が健常かはなかなか議論のあるところですが、apparentlyには健常な人は健常な細菌叢、sympiosisの恒常性が維持されていると。このような場合には例えば抗生物質をやっても、期間がどのくらいかかるかは別として、何週間のうちには元に戻ると言われています。

先ほどからお話になっているような、慢性炎症とかいったもの場合には、変わってしまった菌叢がおそらく定着してしまう。dysbiosisがそこで居座ってしまうような、この恒常性の破綻が起きるだろうと。その原因は多くは遺伝的な多因子疾患ですので、そういう遺伝的なものがあるのでしょうかけれども、多くの慢性疾患は、一番大きなものはMHCだったり、あるいはサイトカインというような免疫系に関与した分子のところに

SNPs があって、おそらく責任遺伝子があるのではないかということなので、宿主の状態が免疫系のトーンが高いとか低いとか、免疫だけではないでしょうけれども、そういうものがバックグラウンドにあったときに起きる dysbiosis が長続きしてしまうのではないかと。いろいろな疾患、例えば Multiple Sclerosis (多発性硬化症) でも抗生物質を契機に、あるいは海外への移住、派遣とかそういうのを契機に発症する例が知られています。潰瘍性大腸炎や炎症性腸疾患も 20 歳ぐらいが好発で、よく聞くのは大学に入って生活が変わってからなってしまう。例えばお酒を飲むとか煙草を吸うとか、食事が変にジャンクフードになるとかいうこともあるのですが、環境因子が変わって、腸内細菌が変わったときに正常な人ならそれに対応できるのが、対応できないことでいろいろなことが起きて慢性炎症に結びつくだろうと。

それで、どうやって研究するか、メカニズムは何かです。これは私たちの例ですが、1つはこのビフィズス菌が産生する酢酸が、0157 の感染死予防をするというマウスの例です。今度は酢酸、次は酪酸の話をしてします。竹田先生のお話にもあったのですが、0157 はヒトの大腸にくっついてアタッチ・アンド・エフェシングという病態をつくって、水の再吸収を抑えるので、水様便とか上皮細胞が死ぬと血便が出て、そのうち一部の方が志賀毒素が身体の中に入って、死亡する例もあるわけです。マウスの腸にはそのようなことをしないので、普通に腸内細菌のいるマウスであれば、先ほどの colonization resistance ではないですけれども、菌は通過するだけで定着できません。ところがお腹の中が空っぽの無菌マウスでは、0157 単独でいくと菌が十分に増えて、マウスは毒素死します。下痢とかはほとんど起きないのですが、大腸の末端部に軽い炎症像、上皮細胞のアポトーシス像が見られます。末端部だけですけれども。

ビフィズス菌をあらかじめ与えておくと、その後に 0157 に感染したときに、0157 の感染死を予防できるビフィズス菌と予防できないビフィズス菌がいることが分かりました。そのときに、便の中の 0157 の菌数はどちらでも変わりません。この茶色です。何もないよりはビフィズス菌がいると 0157 は若干減ります。毒素の量も便の中の毒素の量は変わらないのですが、身体の中に入っていく毒素の量だけが減ると。このマウスでは炎症が見られない、アポトーシスは見られなくて、こちらでは炎症とかアポトーシスが見られるのですね。

代謝物の網羅的な解析をした結果、これはポンチ絵ですけれども、予防できる菌では、糞便中の酢酸が圧倒的に予防できない菌と比べて多いことが分かりました。こちらの菌は酢酸を多く作ることができると。それ

で、酢酸が重要だろうということで、酢酸を最初飲み水に入れて与えたのですが、酢酸は小さいものなので上部消化管に吸収されてしまって、糞便中の酢酸の量は、どんどん飲み水の中の酢酸の量を上げていっても増えないので、300mM に上げてしまうと、もう水をマウスが飲まなくなってしまうので、アセチル化でんぷんを食べさせます。そうするとこのアセチル基が徐放性に加水分解されるので、糞便中の酢酸量はちゃんと増えて、その結果、その後に 0157 を感染させた場合、このアセチル化でんぷんを食べた群は生き残ることが分かりました。

このメタボローム解析の結果、そのようなことが分かり、そして、データは省略しますがけれども、大腸上皮細胞のトランスクリプトーム (transcriptome)、遺伝子発現とかを見てやると、酢酸が多くあった場合には、遺伝子発現が変わり、抗炎症作用とか細胞のエネルギー代謝とかセルサイクルが亢進し、その結果、0157 の感染死に抵抗性が付与される。酢酸が多くないとそのようなことは起きないので、感受性でアポトーシスが起きて毒素が身体の中に入っていくと。

全ゲノム解析すると、ブドウ糖のトランスポーターは両方持っています。ブドウ糖は盲腸の辺りではまだ十分量が残っていて、どちらの菌が存在しても多くの、こちらと匹敵するような酢酸がどちらでも観察されます。一方、果糖のトランスポーターはこちらしか持っていない。ブドウ糖が使い尽くされて、糞便中ではブドウ糖はほとんどなくて、果糖はまだ残っています。果糖を使って酢酸を作り続けることのできる菌は、先ほどのように、大腸上皮細胞を保護することによって、マウスの感染症を予防できることが分かりました。

また、酪酸が大腸の制御性 T 細胞の分化誘導を促進する。これは先ほどの竹田先生がおっしゃっていた、腸ではなぜ炎症が起きないのか、腸内細菌に対する炎症反応が起きないのかという 1 つの説明は、この制御性 T 細胞が大腸にはたくさんいるからということです。制御性 T 細胞は有名で皆さんもご存じだと思いますが、坂口志文先生が 90 年代中頃に初めて報告された細胞で、Foxp3 という転写因子を出した T 細胞が制御性 T 細胞になります。胸腺の場合には自己反応性の T 細胞が Foxp3 を出すと、制御性 T 細胞となって、自己反応性の免疫を制御する、抑えることで、自己免疫疾患を抑えている。異常な過剰な免疫応答、つまり自己免疫とか遷延する慢性炎症やアレルギーなどを抑える働きがあるものです。

無菌マウスの餌は繊維がたくさん入っているのですが、普通の餌を食べている無菌マウスでは制御性 T 細胞がこのくらいなのが、腸内細菌がいて、繊維のある餌を食べていると、このように制御性 T 細胞が増えます。しか

しそれを繊維を抜いた合成餌を食べさせると減るので、繊維の代謝物が重要だろうと。その代謝物を網羅的に調べた結果、このような酢酸、プロピオン酸、酪酸といった短鎖脂肪酸と、ロイシン、イソロイシン、GABA といったアミノ酸が特に繊維の多い餌で増えていることが分かりました。

このような物質が、制御性 T 細胞を誘導するかを *in vitro* で見たところ、酪酸のみが強く誘導して、プロピオン酸は若干、酢酸は何も添加しないのと同じぐらいであると。これは *in vitro* です。*in vivo* で今度は酪酸化でんぶんを食べさせると、やはり制御性 T 細胞がマウスの *vivo* で、大腸で増えていると。ここに示していませんけれども、プロピオン酸化でんぶんとかアセチル化でんぶんはこのような作用はありませんでした。アミノ酸、*in vitro* でまた培養系ですが、制御性 T 細胞を増やすことはないということです。

そのメカニズムは、酪酸というのはヒストン脱アセチル化酵素、HDAC の強いインヒビターであることが 70 年代から分かっている、ヒストンが脱アセチル化しているところのクロマチオンがギュッと巻くために、もしここがプロモーター領域、転写制御領域であれば、転写因子が近寄りにくいのでオフになるだろうと。酪酸があるとアセチル基が残ってクロマチオンが緩んで、転写因子はアクセスしやすくなる。実際、時間の関係でデータをお示しませんが、そのようなことが起きていることも証明しています。

炎症性腸疾患と酪酸との関係としては、便中の酪酸やプロピオン酸が患者では少ないとか、酪酸産生菌も少ない。そして小児の若年性の潰瘍性大腸炎に酪酸を注腸すると治るということで、酪酸が多いと治る、酪酸が少ないと治らないといえますか、炎症が出るという関係にあるので、制御性 T 細胞が酪酸によって誘導されると炎症が抑えられるだろうというので、この腸炎モデルにアセチル化でんぶん、あるいはただのでんぶんを食べさせて、そうすると制御性 T 細胞が酪酸によって誘導されて、腸炎のスコアが下がる。これは coincidence かもしれないので、ここで更に抗体を打って制御性 T 細胞をなくしてやると、やはり炎症は酪酸でんぶんがあっても同じように悪い、しかもここよりもう少し悪いです。ですので、酪酸によって誘導された制御性 T 細胞が、この過剰な炎症とかを抑えて、免疫恒常性に関わっていることが分かったということです。

最後に、1 型糖尿病についてお話しします。これはどんな代謝物かは分かっているはいないのですが、背景としては、あまりにも単純ではありませんけれども、衛生仮説があることをご存じだと思います。病原菌や寄生虫の

感染症、ばく露が特に先進国では減っていて、それとともにアレルギーなども増えていますけれども、1型糖尿病とか多発性硬化症とかクローン病のような炎症疾患も短い期間で増えているので、これは何らかの環境因子が関係している。

1つにはこの虫そのものが関係しているのではないかと。これはまた別のデータですが、蠕虫の感染している区域は自己免疫疾患が少なく、それが少ない欧米を中心とした国では、自己免疫疾患が多いというようなことがあると。それで、ストレプトゾトシンという化合物によりランゲルハンス氏島を破壊するような自己免疫性の1型糖尿病を誘導するモデルマウスです。このように血糖値が上がって、血中のインスリンがなくなる。そこに *Heligmosomoides polygyrus* という蠕虫を感染させておくと、血糖値の上昇がリバーサされて、インスリンが減るのもリバーサされます。

途中は省きますけれども、実はこの虫というのは、トレハロースを盛んに分泌していることが分かりました。トレハロースというのは、生体防御に関わっているので、虫が駆虫されないために、自分を守るためにトレハロースを作っているらしいのですが、このトレハロースは2糖の α 1,1結合で、それと同じような2ブドウ糖、 α 1,4結合のマルトースを対照群として、これは虫が作らないのですが、やってやると。ここも端折っていますけれども、実は虫はCD8陽性のa typicalなTregを誘導することも分かりました。虫と同様にトレハロースはこのCD8Tregを誘導していると。マルトースにはそれが無い。その結果、マルトースでは血糖値は上がっていますけれども、トレハロースでは血糖値が抑えられることが分かりました。おそらく虫とかトレハロースが腸内細菌を介して何かしているのではないかと。抗生物質4剤を投与してやると、Hpあるいはトレハロースを投与してもCD8Tregの誘導は抑えられてしまい、血糖値は上がっていく。それがアンピシリン単独でも同じようなことが起きることが分かりました。

どんな菌が特に増えていたかというのと、ルミノコッカスという菌が増えています。こちら、1つのルミノコッカスに属する菌はコントロールのDWでもマルトースでも、マルトースは若干抑えていますけれども、トレハロースでも誘導されているわけではない。誘導されているのは、ルミノコッカスの中でもこちらの菌だったわけです。これはグナバスという菌で、こちらは自分たちが単離したものでOTU58と呼んでいますけれども、このグナバスを投与するとこちらのようにCD8Tregが誘導されるけれども、こちらのトレハロースで誘導されない菌ではそのようなことは起

きなくて、その結果として、グナバスでは血中濃度の上昇が抑えられま
すけれども、こちらの菌ではそんなことはない、何もしてないのと同
じようになっていることが分かりました。

最後に患者ですが、小児科と一緒に、ヘルシーボランティアのコン
トロールと患者群と、年齢ですが、それでヒトの CD8Treg は CD122 と
CXCR3 と CD8 がサーフェスマーカーと言われているので、これらで見て
やると、血中はヘルシーに比べて1型糖尿病の患者では、これは1つの例
ですが減っています。これはその全体像です。CD8Treg は減っている。
CD4Treg は変わらないということで、CD8Treg が重要なのではないかと。
一方、便中のルミノコッカスも患者群では健常ボランティアと比べて減
っています。このようにルミノコッカスと CD8Treg の間にも相関が見られ
るということで、患者でも同じようなことが起きているのではないかと。

まとめです。虫が作るトレハロースが腸内細菌に何らかの形で作用した
結果、おそらくルミノコッカスがこのトレハロースを餌として利用できる
のではないかと考えています。その結果、CD8Treg が増えて T1D が抑え
られるというのが、マウスモデルでも患者でも見られます。このメカニ
ズムはまだ分からないので、今はこの辺りの研究を進めているところで
す。これで私の発表を終わらせていただきます。どうもご清聴ありがと
うございます。

- 井上委員長 ありがとうございます。今の大野先生のご講演に対して、ご質問等は
ありますでしょうか。
- 高倉委員 短鎖脂肪酸のお話はすごく興味深くお聞きしました。ここでアセチル化
と酪酸を付けたでんぷんを使う実験は非常にうまく考えられていると思
ったのですが、これはでんぷんの水酸基にエステル結合で短鎖脂肪酸を
結合させたものですね。経口投与すると大腸で選択的にエステラーゼか
何かで切られると考えて良いですか。
- 大野チームリーダー いいえ。
- 高倉委員 加水分解するパターンですか。
- 大野チームリーダー そうです。ただし、どこがどう加水分解しているかは分かってい
ないので、おそらくずっと小腸でも起きていると思います。
- 高倉委員 小腸でも切れて、腸管の中でずっと切られ続けているのですね。
- 大野チームリーダー そうだと思います。
- 高倉委員 結果的に糞便中にもたくさん出てくるということですね。
- 大野チームリーダー そうですね、大腸にも到達してから切れるので。途中でデータは
示しませんでしたけれども、酢を混ぜた水だと、酢酸は小さいですので、
それはもう。

- 高倉委員 簡単に切れるのですね。
- 大野チームリーダー そうですね、200mM という濃度までは試しています。
- 高倉委員 上部で切れて吸収されてしまうということですね。
- 大野チームリーダー そうですね。200mM というと、お酢の4倍希釈で、その酢を。
- 高倉委員 それは酸っぱくて飲まないですね。
- 大野チームリーダー 私たちはむせて飲めないのですが、給水瓶から少しは飲むのです。それで脱水もしないのですが、でも、糞便で検出されなくて、300 にするともう飲まなくなって、脱水してしまうので実験にならないということです。
- 高倉委員 0157 のデータで糞便中の酢酸の数値が示されていましたが、これは死なないマウスでは確かに高いのですが、死ぬマウスとそんなにレベルは変わらないですよ。有意差は付いていますけれども。
- 大野チームリーダー 1.5 倍ぐらいですね。
- 高倉委員 この差が非常にクリティカルですか。
- 大野チームリーダー 実はビフィズス菌を投与したマウスの場合には、全く死ななくて、もう少し高いです。ですからこれはぎりぎりの濃度で、やっとできたというぐらいに。ただし、10 例中 7 例は残って、これは繰り返しても同じような感じなのです。
- 高倉委員 この系ではこのぐらいの差で、ビフィズス菌だともっと差が付くのですね。
- 大野チームリーダー はい、そうです。ただ、ビフィズス菌単独だとそんなに高くなくて、普通の腸内細菌がいるマウスとか人間では、ビフィズス単独よりは圧倒的に高く、2 倍ぐらい違うのです。これは実験的な系で、これがヒトの感染症に、0157 の感染にそのまま応用できるというわけではなくて、こういうことが起きていますという実験例です。
- 高倉委員 ありがとうございます。
- 井上委員長 ほかにありますか。
- 遠藤副委員長 大野先生、どうもありがとうございました。ヒストンの脱アセチル化酵素阻害についてですが、有名なものとして、サーチュイン長寿遺伝子と言われているものが、ヒストン脱アセチル化酵素そのものであり、酵素活性を持つと言われています。そこで寿命との関係とか、何か言われていることはあるのでしょうか。
- 大野チームリーダー 酪酸が抑えるのは、HDAC は 4 群に大きく分けられていて、クラス 4 というサーチュインだけはほかの HDAC と全く違う構造ですので、酪酸が効くのはクラシカルな、最初に見つけられてきたこの HDAC の 1 と 3 だけです。全部で 6 個、クラス 1、2、3 の中でも 6 個あるのですが、その

とあるのではないかと思うのです。腸内細菌の場合にといいますか、菌の場合には、生物でそこに入れたときに何をするか分からないし、先ほど竹田先生もおっしゃっていましたが、人それぞれ違うので、まず定着するかどうか分からないし、今度は入ったものが毒素とか持っていないかとしても、その人に何をすることも分からないと思うのです。

今までの細菌学は、単離培養してきた菌をいろいろな培地でやったときに、どんなビハイビアをするかということから、例えば乳酸菌群というのは既知の中の一部のラクト、あの辺の菌を乳酸菌と呼んでいますけれども、それも vivo で本当にそうしているのか、あるいは単独で付けたときと群集の中にいたときとで違う。我々のこの 0157 とビフィズス菌も vitro でカルチャーしたときと、お腹の中に単独でそれぞれを別々に付けたときとで、遺伝子発現も違うのですね。そういうことを考えたときには、やはり単純な物質のほうが安全性としては担保できるのではないかと思います。ただ、効果があるかどうかはこういう実験例と、本当に臨床応用で効果があるかどうか、また別途検証しなければいけないと思うのです。

○井上委員長 ほかにありますか、よろしいですか。それでは大野先生、どうもありがとうございました。

<マイクロバイオーम्関連医薬品（細菌製剤）の開発状況等について>

○井上委員長 それでは、海外の検討状況ですが、このマイクロバイオームの医薬品開発等について、事務局からご紹介させていただきたいと思います。

○事務局(下川) マイクロバイオームの関連医薬品、特に細菌製剤の開発状況について、事務局で調査いたしましたので、ご紹介したいと思います。1 ページ目の表をご覧ください。これは一部の例でして、ほかにもたくさんベンチャーがありますが、特にアメリカにマイクロバイオーム関連の医薬品開発ベンチャーが多くありました。これは1例ですが、治験薬関連番号の所に書いてありますが、これはホームページの情報でして、複数の機能を組み合わせて投与しているようで、8種類だったり11種類だったり、必ずしも数としていくつ組み合わせているかを書いてはいないのですが、カクテルの状態の開発しているように見受けられました。それで、色分け部分ですが、同じ効能を目指しているものを同じ色にしています。どこもクロストリジウム・ディフィシル感染症をやっている状態で、開発の相が進んで、一番進んでいるものはⅢ相まで進んでいます。一方、直接的に菌をやっつけるのではなくて、間接的にアレルギー等に効くようなものに関しては、まだ健常人のところまでしか、Ⅰ相ぐらいまでしか進ん

でないような状況に見受けられました。潰瘍性大腸炎とかアレルギー、その他、がんといったものを目指してやっているようです。

一方、ここには書いていないですが、日本の状況についてインターネットで検索を行ったところ、現時点で、医薬品として細菌製剤の開発を行っているのは、ネット上では見つけることはできませんでした。日本では医薬品開発ということではなく、炎症性腸疾患の治療のため、いくつかの病院で糞便移植をやられているようです。

次のページをご覧ください。これは治験の結果で、これもベンチャーのホームページに載っていたものをそのまま書いたものですが、例えば、先ほどの Rebiotix 社の、再発性クロストリジウム・ディフィシル感染症の予防を目的としたオープンラベルフェーズIIでは、投与8週間後の評価で、投与群は78.8%、一方、ヒストリカルコントロールのほうは51.8%の治療効果が出ていることで成功している結果が出ています。一方、安全性に関して主な有害事象は、下痢、腹部の痛み、鼓腸、便秘、膨満などの胃腸関連が書いてありました。もう1つ、2つ目のベンチャーですが、これも再発性クロストリジウム・ディフィシル感染症の開発です。これはまだI相の結果しか載っていないで、健常人で忍容性が確認されていて、有害事象は健常人の3分の1未満で発生し、全てグレードIであり、また、反復投与により、VE303株のコロニー形成が頑健になった、ということが記載されておりました。

同じページの下のほう、海外の規制状況ですが、米国FDAでは、生菌製剤のIND申請において提出すべき品質データに関するガイダンスが示されており、本日は説明いたしません、参考資料としてお配りしているガイダンスがそれになります。また、先ほど大野先生のご講演でもありましたが、米国のFDAは、移植用糞便微生物叢の投与によりESBL産生大腸菌による死亡等が発生したことを受けて、今年6月13日に、移植用糞便微生物叢と多剤耐性菌の伝播による重篤な副作用のリスクについてアラートを出していきまして、ドナースクリーニング、ドナー糞便の多剤耐性菌検査などの必要性の通知をIND保有者に出しております。このような情報は、マイクロバイオーム関連医薬品について議論する際には参考になるかと思われました。

最後のページ、「その他参考」と書いてあります。これ自体は細菌製剤の開発情報ではないのですが、1ページ目の表に、進行がん又は転移がん治療、ニボルマブと組み合わせて開発、細菌作用剤の開発が行われていると書いてあります。これに関連した内容かと思われましたので、参考情報として記載しました。抗PD-1免疫療法を受ける非小細胞肺がん、腎細

胞がん、尿路上皮がん患者において、抗菌薬の利用と生存期間の関連を検討し、さらに、患者の腸内細菌叢の分析まで行った文献がサイエンス誌に載っております。全生存期間は、グラフの黒の抗菌薬不使用群で20.6か月、グラフの赤の使用群で11.5か月で、抗菌薬を使用しない方が全生存期間が長い結果が出ております。その原因を確かめるために、筆者らは患者の便のメタゲノム解析を行った結果、抗PD-1療法への反応と、*A. muciniphila* 相対量が相関するということが、マウスへの*A. muciniphila*の経口投与の結果から、この菌と抗PD-1免疫療法有効性の関係が示されている文献が出ておりました。事務局からは以上です。

○井上委員長 今のご説明に関して、何かご意見あるいはご質問等はございますか。よろしいですか。本日は以上ですが、今日のご講演に関して、何かご質問等はございますか。

○高倉委員 今の細菌製剤の話聞いた上でまた大野先生の話に戻って恐縮なのですが、先ほども議論がありまして、細菌を使うこと自体は非常にポテンシャルもありますが、安全性の面からいろいろなことが起こり得ると思われまます。先ほどの酪酸のような化学物質でできるとすればすごく効率よく免疫系をコントロールできるということになります。この実験に使われている酪酸化でんぷんは、薬学的センスでいうと、これは酪酸のプロドラッグなのです。結合した状態では酪酸としては作用しないのですが、これが大腸内で分解して、先ほど加水分解的にずっと切れっぱなしということでしたが、もう少し工夫して、大腸選択的に所定の濃度で酪酸が放出されるように、経口投与製剤あるいは浣腸製剤にすることはできませんか。経口投与製剤だと消化管の中では安定で大腸で切れる工夫をすればそうなりますし、浣腸だともっとシンプルにできるのですが、そういうアプローチはあり得ないのですか。酪酸のプロドラッグ、これは高分子化プロドラッグなのです。

○大野チームリーダー まず、この物質はオーストラリアの、名前は忘れてしまったのですが、日本でいう農水系の公的機関が作っているもので、この物質については彼らが全部特許を押さえていて、非常に細かいMTAを用途を限定して、例えば私たちも最初の実験のときにもらったのと、酢酸のときと酪酸のときと同じものをもらっているのですが、もう一回書き直して、すごく細かいので、それに対して直接手を付けることはできないのですが、少しひねったもので、その特許に抵触しないようなものを作ることは可能だと思います。

○高倉委員 でんぷん以外の素材でもいいですし、結合も別の様式でもいいかもしれません。

○大野チームリーダー はい。

○高倉委員 よくジアゾ結合で、嫌氣的なところでのみ切れるようにすることがあります。我々の領域ではこれを古典的な大腸ターゲットイングと呼ぶのですが、例えばそういうもので、酪酸を大腸選択的にデリバリーできる製剤の開発には企業は興味を持たないですか。

○大野チームリーダー たぶん持たないです。というのは、薬としてのアプローチを受けたことはあまりないです。セルロースについては、製薬企業ではないです。

○高倉委員 セルロースだと、ヒトの酵素では切れませんよね。でんぷんだとどうですか。

○大野チームリーダー セルロース自身は切れなくても、そこに、何といいますか、エステル結合ですか。

○高倉委員 エステル結合ですね。

○大野チームリーダー その分は切れると思います。実はある会社とセルロースについてやっているのですが、でんぷんのほうは、おそらくでんぷんの高次構造に直接共有結合してなくて、絡みついているだけの遊離の、彼らが分析したところでは、そういうのが入っているのではないかと言っているのです。使っているものは必ずしも、そんなにきれいな感じのものではないようです。

○井上委員長 ありがとうございます。ほかにございますか。そろそろお時間です。竹田先生、大野先生、今日はどうもありがとうございました。皆さん、活発にご議論いただき、大変ありがとうございます。これを踏まえて、次回にも科学委員会としてのテーマを検討させていただければと思います。本日の議事は以上ですが、事務局から何かございますか。

<その他>

○事務局(下川) 前々回の第32回科学委員会で、岩田部会長からご報告をいただいたAMR専門部会報告書ですが、委員長のご了承の下、記載整備を行いまして、10月4日(金)にPMDAホームページに公表を行いました。先生方におかれましては、誠にありがとうございました。次回の科学委員会は12月10日(火)の14時からの開催を予定しております。詳細につきましては追ってご連絡いたします。

<閉会>

○井上委員長 では、本日の科学委員会はここまでとさせていただきます。皆様、どうもありがとうございました。

