

革新的先端研究開発支援事業

「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」

研究開発領域

ソロタイプ (PRIME) 平成30年度採択課題 事後評価結果

革新的先端研究開発支援事業

「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」

研究開発領域

課題評価委員会

－ 目 次 －

I. 概要

1. 研究開発領域の概要
2. 評価の概要
 - (1) 評価の実施時期
 - (2) 評価委員一覧
 - (3) 評価項目

II. 課題別評価結果

平成30年度採択研究開発課題

- | | | | |
|-----|------|-------|-------------|
| (1) | 代表者： | 笹部 潤平 | (慶應義塾大学) |
| (2) | 代表者： | 館野 浩章 | (産業技術総合研究所) |
| (3) | 代表者： | 玉木 秀幸 | (産業技術総合研究所) |
| (4) | 代表者： | 中司 寛子 | (慶應義塾大学) |
| (5) | 代表者： | 平安 恒幸 | (金沢大学) |
| (6) | 代表者： | 福田 晃久 | (京都大学) |
| (7) | 代表者： | 藤坂 志帆 | (富山大学) |
| (8) | 代表者： | 山下 智也 | (神戸大学) |

I. 概要

1. 研究開発領域の概要

本研究開発領域では、ヒト微生物叢の制御に着目した新しい健康・医療シーズの創出に資する、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を解明することを目的とします。

消化器、皮膚、口腔、鼻腔、呼吸器、生殖器等の人体が外部環境と接するあらゆるところに、細菌や真菌、ウイルス等の様々な微生物が生息しており、それぞれ特有な微生物叢を形成しています。近年、この微生物叢が多くの疾患や病態において健常者と異なることが明らかとなり、微生物叢が私たちの健康や疾患に深く関与していることが示唆されています。しかしながら、微生物叢の形成・変化、健康や疾患発症・進行への関与といった、微生物叢と宿主の相互作用・共生・疾患発症のメカニズムについては未だ多くの点が不明のままです。

本研究開発領域では、そのメカニズムを包括的に理解し、微生物叢と宿主の相互作用という新しい機序に基づく健康・医療技術シーズの創出につなげることを目指します。

2. 評価の概要

(1) 評価の実施時期

研究終了時に実施。

(2) 評価委員一覧

椛島 健治	京都大学 大学院医学研究科 教授
北野 宏明	システム・バイオロジー研究機構 会長
熊ノ郷 淳	大阪大学 大学院医学系研究科 教授
黒川 顕	国立遺伝学研究所 情報研究系 教授/副所長
坂田 恒昭	大阪大学 共創機構 特任教授
白髭 克彦	東京大学 定量生命科学研究所 教授/所長
土肥 多恵子	慶應義塾大学 薬学部 客員教授
林 哲也	九州大学 大学院医学研究院 教授
福崎 英一郎	大阪大学 大学院工学研究科 教授
松木 隆広	株式会社ヤクルト本社 中央研究所 共生システム研究室 室長

(所属、役職は研究開発期間終了時、五十音順、敬称略)

(3) 評価項目

本評価委員会においては、以下の評価項目に基づき総合的に評価が実施された。

① 研究開発達成状況

- ・研究開発計画に対する達成状況はどうか

② 研究開発成果

- ・予定していた成果が着実に得られたか
- ・当初計画では想定されていなかった新たな展開やそれによる成果が得られたか
- ・成果は、科学技術上のインパクト、国内外の類似研究と比較した際のレベルや重要度などの点で、質的に高いものであるか
- ・成果は医療分野の進展に資するものであるか
- ・成果は新技術の創出に資するものであるか
- ・成果は社会的ニーズへ対応するものであるか
- ・成果は研究開発目標の達成に貢献し、社会的なインパクトを与えるものであるか
- ・必要な知的財産の確保がなされたか

③ 実施体制

- ・研究開発代表者を中心とした研究開発体制が適切に組織されていたか
- ・ユニットタイプについては、研究開発分担者を置いている場合は、十分な連携体制が構築されていたか
- ・国内外の研究者や臨床医、産業界等との連携によるネットワーク形成がなされていたか
- ・研究開発費の執行状況は効率的・効果的であったか
(各グループの研究開発費は有効に執行されたか、購入機器は有効に活用されたか等)

④ 今後の見通し

- ・今後、研究開発成果のさらなる展開が期待できるか

⑤ 事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

- ・生命倫理、安全対策に対する法令等を遵守していたか
- ・ユニットタイプについては、若手研究者のキャリアパス支援が図られていたか
- ・専門学術雑誌への発表並びに学会での講演及び発表など科学技術コミュニケーション活動（アウトリーチ活動）が図られていたか
- ・ソロタイプについては、制度として世界レベルの若手研究リーダーの輩出も期待されている観点から、研究開発代表者の研究者としての飛躍につながったか、またはつながると期待されるか

⑥ 総合評価

- ①～⑤を勘案しつつこれらと別に評点を付し、総合評価をする

II. 課題別評価結果

平成30年度採択研究開発課題

(ソロタイプ) 研究開発課題別事後評価結果

1. 研究開発課題名：

D-アミノ酸を介した細菌叢-宿主相互作用による粘膜免疫構築機構と免疫疾患における病態生理学的意義の解明

2. 研究開発代表者名（所属、役職は研究開発期間終了時）：

笹部 潤平（慶應義塾大学 医学部 専任講師）

3. 事後評価結果

全ての真正細菌は自身の細胞壁合成に D-アミノ酸を必要不可欠とするが、哺乳類ではほとんどの D-アミノ酸を生合成できない。本研究開発は、真正細菌が産生する D-アミノ酸に着目し、これを代謝する D-アミノ酸酸化酵素（DAO）の働きを通じて、宿主-微生物叢が相互作用する意義を解明することを目的とした。

DAO 活性欠損マウスを用いた解析により、DAO は T 細胞非依存的なナイーブ B 細胞数の制御、および腸内細菌を介した T 細胞依存的な B 細胞の IgA クラススイッチの 2 つの経路を介して、IgA 合成を制御していることを見出した。また、マウス腸管上皮由来の培養細胞を用いた解析から、細菌由来の D-alanine が NF-kB を介して TNF-alpha などのサイトカインを放出し、B リンパ球の細胞死を抑制する、即ち D-アミノ酸が細菌と宿主の間のシグナル分子として利用されていることを見出した。これらの結果は、アミノ酸のキラリティの調節が、哺乳類の免疫反応を介して、哺乳類と細菌の共生を制御することを示唆しており、新規性・独自性が高い知見として評価される。

本研究開発において、自然発症の IgA 腎症モデルでは、DAO 遺伝子の変異による D-アミノ酸代謝障害があり、これが血中 IgA の上昇に関与することが見出された。DAO が IgA 腎症の新たな治療標的となる可能性を示した点が高く評価される。

以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られていると言える。

(ソロタイプ) 研究開発課題別事後評価結果

1. 研究開発課題名：

シングルセルグライコミクスによる微生物叢の一斉解析

2. 研究開発代表者名（所属、役職は研究開発期間終了時）：

館野 浩章（産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門 研究グループ長）

3. 事後評価結果

本研究開発は、DNA バーコード標識レクチンライブラリーを用いて、微生物叢グライコームを、培養に依存することなく、非破壊且つ単一細胞レベルで一斉解析する技術を構築することを目標とした。まず糞便からの微生物分画の分離技術を構築後、レクチン-DNA バーコードライブラリーの構築および、その微生物への反応プロトコルを構築した。反応したレクチンから DNA バーコードを遊離・増幅後、次世代シーケンサーを用いて糖鎖プロファイルを取得する技術（Glycan-seq 法）を構築した。

本研究開発において、微生物叢の糖鎖をプロファイリングする新規技術として Glycan-seq 法を構築し、論文化・特許出願したことは高く評価できる。また、うつ病マウスに本開発手法を応用した結果を得つつあり、微生物の糖鎖修飾と疾患の関係を解明することができれば、疾患の診断・治療のための新たな標的となる可能性が期待できる。

一方で、シングルセルで微生物の糖鎖とゲノムを同時解析する技術の確立までには到っていないため、今後の進展を期待する。また、ヒトではマウスより個体差がかなり大きいと予想されるが、将来それを克服して、診断・治療における技術の有用性を検証するとともに、腸内グライコームと老化や疾病との関連の解明に寄与することを期待する。

以上より、当初計画に照らして妥当な成果が得られていると言える。

(ソロタイプ) 研究開発課題別事後評価結果

1. 研究開発課題名：

生活習慣病に関わる「未知腸内細菌-ウイルス-宿主」間相互作用メカニズムの解明

2. 研究開発代表者名（所属、役職は研究開発期間終了時）：

玉木 秀幸（産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門 研究グループ長）

3. 事後評価結果

本研究開発は、生活習慣病の原因菌に感染する未知腸内ウイルスの機能解明、並びに「宿主-疾患原因菌-ウイルス」における各相互作用を解明することで、生活習慣病発症を抑制する新たなバイオ技術開発に資する研究基盤の構築を目標とした。

本研究開発において、糖尿病誘起細菌に特異的に感染し溶菌させる、門レベルで新規な腸内ファージΦFIP を世界に先駆けて発見することに成功した。また、本ファージゲノムから新規溶菌酵素候補遺伝子を同定し、本酵素が単独でペプチドグリカンの架橋構造を切断することで宿主を溶菌することを解明した。さらにΦFIP 自体が、細菌が持つファージ感染拡大防止機構である Toxin-Antitoxin (TA) システムの根幹をなす遺伝子群を全て保有し、本遺伝子群が TA システムとして機能することを実証した。これらの結果は学術的に優れた成果であるとともに、既に国内外での特許出願も完了している。将来的に糖尿病や生活習慣病を標的としたファージセラピー技術開発への応用が期待できる点でも、本成果はとても高く評価できる。

本研究開発において、絶対嫌気性の未培養・難培養性微生物の高度な培養技術・経験・ノウハウを結集し、新規性の高い嫌気性腸内細菌を 30 種以上獲得することに成功した。また、糞便試料から活きた腸内ウイルス粒子を回収・精製する技術、絶対嫌気性細菌を嫌気環境下・プレート上で安定的に生育させる技術、絶対嫌気性細菌のライブイメージング技術を確立することに成功した。これらの結果や技術は、未知ファージの探索および腸内細菌と未知ファージの相互作用解明に向けた技術基盤となり得るため、高く評価できる。

以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られていると言える。

(ソロタイプ) 研究開発課題別事後評価結果

1. 研究開発課題名：

腸内細菌叢による T 細胞の老化とがん化促進メカニズムの解明

2. 研究開発代表者名（所属、役職は研究開発期間終了時）：

中司 寛子（慶應義塾大学 医学部 助教）

3. 事後評価結果

本研究開発において、独自に開発した T 細胞特異的に DNA 脱メチル化酵素を欠損するマウスでは、CD4⁺T 細胞が老化形質を獲得することを示した。本マウスを老化促進マウスとして用いた抗生物質投与実験により、*Bacteroidaceae* および *Helicobacteraceae* に属する菌が T 細胞老化の原因である可能性が示唆された。また、エピゲノム変化に伴う T 細胞老化メカニズムの解明を試みた結果、食物中のトリプトファンより腸内細菌によって代謝された物質が、芳香族炭化水素受容体 AhR を介して T 細胞老化に関与する可能性を見出した。加齢によるエピゲノム変化が感染症や癌など様々な疾患を発症させる可能性があるが、上記の結果は腸内環境の改善あるいは食事の選択などにより、T 細胞老化の抑制による健康寿命延伸への貢献が期待される点で、波及効果が高く評価される。

一方で、腸内細菌叢と T 細胞老化の関係性にかかるメカニズムについては、より詳細な解明や検証が必要であると考えられる。また、本研究開発では、老化の実験系が TET 欠損マウスに限定されている。将来的に、ヒトサンプルを用いて生理的老化と老化に伴う病態の境界を考慮しつつ、本結果の普遍性を検証していくことを期待する。

以上より、当初計画に照らして妥当な成果が得られていると言える。

(ソロタイプ) 研究開発課題別事後評価結果

1. 研究開発課題名：

免疫抑制化レセプターに着目した微生物叢と宿主の共生および疾患発症メカニズムの解明

2. 研究開発代表者名（所属、役職は研究開発期間終了時）：

平安 恒幸（金沢大学 先進予防医学研究センター 特任准教授）

3. 事後評価結果

本研究開発において、病原因子のみならず常在細菌叢も免疫抑制化レセプターと直接相互作用し、宿主の免疫機能に影響を及ぼすとの仮説に基づき、特定の常在細菌をよく認識する免疫抑制化レセプターXと免疫抑制化レセプターYを同定することができた。

本研究開発において、免疫抑制化レセプターXには遺伝子多型が存在し、それにより常在細菌との相互作用の程度が異なる可能性が示唆された。また、免疫抑制化レセプターXと細菌Lが相互作用し、その共生関係の破綻がアトピー性皮膚炎などの疾患に関係する可能性が示唆された。今後、大規模な疾患コホートにより疾患との関連が確認できれば、常在細菌と宿主免疫抑制化レセプターに着目した個別化予防や医療に貢献することが期待できる点が評価される。

本研究開発において、免疫抑制化レセプターYが人類集団において極めてアレル多様性に富み、常在細菌に発現するリガンドとしてSを同定した。リガンドSの発現は菌株によるので、宿主および常在細菌の双方ともに相互作用分子が多型的であることが明らかとなった。この遺伝的多様性の基盤は、今後の微生物叢研究だけでなく、疾患遺伝子研究や機能解析の基盤となり得る点で評価される。

以上より、当初計画に照らして妥当な成果が得られていると言える。

(ソロタイプ) 研究開発課題別事後評価結果

1. 研究開発課題名：

微生物叢と宿主の相互作用に基づく膵がん発症メカニズムの解明

2. 研究開発代表者名（所属、役職は研究開発期間終了時）：

福田 晃久（京都大学 大学院医学研究科 講師）

3. 事後評価結果

本研究開発において、日本人のヒト膵がん患者と健常者の口腔内細菌叢・腸内細菌叢について解析を行った。その結果、膵がん患者では口腔内細菌叢・腸内細菌叢の多様性が低下していた。膵がん患者では健常者に比べて、*Streptococcus mitis* が口腔内細菌叢・腸内細菌叢ともに増加しており、*Holdemanella* 属および *Megasphaera* 属が腸内で減少していた。膵がん患者の癌病巣部と非癌部（正常膵）とでは細菌叢が異なっていた。ヒト膵がんと口腔内細菌叢・腸内細菌叢との関連性を示唆する研究成果として評価できる。上記の菌を膵がんモデルマウスに感染させた時に膵発がんおよびその影響を検討することは、微生物叢と膵がんとの因果関係解明に繋がりますので、今後の進展を期待したい。また、本研究開発において、クロマチンリモデリング因子 Arid1a が Sox9 の発現制御を介して腸幹細胞や恒常性維持に必須な機能を果たしていることを明らかにし論文化した。微生物叢が腸幹細胞の維持に及ぼす影響を解明するための研究に発展することを期待する。

一方で、当初予定されていた、ヒト臨床検体から樹立した生体外モデルを用いた、腸内細菌とヒトとの相互作用に基づく膵がん発症機序の解明については、進行中とのことで、本研究開発領域に直接繋がる成果となるよう、今後の進展を期待したい。

以上より、当初計画に照らして妥当な成果が得られていると言える。

(ソロタイプ) 研究開発課題別事後評価結果

1. 研究開発課題名：

栄養素特異的腸内細菌制御機構と腸内細菌由来代謝産物を介した免疫・代謝ネットワークの解明

2. 研究開発代表者名（所属、役職は研究開発期間終了時）：

藤坂 志帆（富山大学 学術研究部医学系 准教授）

3. 事後評価結果

本研究開発において、三大栄養素を変化させた食餌を投与した無菌マウスと有菌化マウスを用い、腸内細菌叢が宿主の血漿脂質プロファイルに与えるインパクトを、食餌の栄養組成の違いごとに網羅的リピドミクス解析により検討し、論文化した。特に、高大豆油食（ $\omega 6$ 不飽和脂肪酸に富む）による耐糖能異常および血中脂質組成変化の腸内細菌依存性を明らかにした成果は、独自性が評価される。

本研究開発において、和漢薬である防風通聖散が、高脂肪食負荷マウスにおいて腸内細菌 *A. muciniphila* を増加させ、腸管バリア機能を高めて肥満による慢性炎症を軽減し、糖代謝を改善することを見出した。我が国の伝統的和漢薬の代謝改善作用を、腸内細菌叢に焦点を当てて解析し論文化できたとともに、薬剤の多面的作用を明らかにした点でも独創的である。今後他の和漢薬や薬剤においても研究の発展性が期待できる点で評価される。

本研究開発において、ポリフェノールの一種 X が、腸管からの脂質の吸収を抑制することにより抗肥満作用を示すことに加え、インスリン抵抗性を改善することを見出した。これらの結果により、ポリフェノールが示す抗酸化作用以外の新規機能が解明され、ヒトの健康増進への効果が期待される点で評価できる。

いずれの研究成果も機序機構の解明が必要であるとともに、ヒトでの応用に向けたさらなるエビデンスを獲得していくことを期待したい。

以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られていると言える。

(ソロタイプ) 研究開発課題別事後評価結果

1. 研究開発課題名：

ヒト腸内細菌 *Bacteroides 2* 菌種の抗炎症作用機序の解明と慢性炎症性疾患治療への応用

2. 研究開発代表者名（所属、役職は研究開発期間終了時）：

山下 智也（神戸大学医学部 准教授）

3. 事後評価結果

本研究開発は、ヒト臨床研究より見出した、炎症制御作用を持つ *Bacteroides 2* 菌種の抗炎症作用機序を解明するとともに、炎症性疾患に対する微生物製剤としての効果を検証し、臨床応用するための開発基盤の確立を目指した。

本研究開発において、*Bacteroides 2* 菌種の LPS は、マウスに投与した際に、敗血症性ショックの惹起や動脈硬化増悪作用を示す大腸菌 LPS に比べて、生体内で炎症を起こしにくいことを見出した。また、*Bacteroides 2* 菌種の生菌を動脈硬化モデルマウスや肥満モデルマウスに経口投与すると、それぞれの病変部マクロファージの浸潤を抑制し、熱産生に関係する褐色脂肪細胞の代謝機能不全を改善させることを見出した。これらの結果により、*Bacteroides 2* 菌種が抗炎症および代謝改善作用の 2 つの機序により肥満や動脈硬化の治療に有効である可能性を示した点で、本研究開発は高く評価できる。

本研究開発は、*Bacteroides 2* 菌種投与の実用化に向け、LPS の構造解析や腸管バリア機能にかかる因子の解析により抗炎症作用機序を解明しつつある。また、ヒト大腸内の腸内細菌叢を再現できる嫌気培養装置を用いたシミュレーションも進められており、微生物製剤開発に向けた研究開発として高く評価できる。今後は、投与方法や安全性の面について、マウス以外の霊長類での検討を取り入れながら、慢性炎症性疾患治療のための臨床応用に展開していくことを期待する。

以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られていると言える。