

次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業
(腸内マイクロバイオーーム制御による次世代創薬技術の開発)
研究開発中間進捗／成果概要報告書（公開版）

公開

令和6年 10月 7日

1. 公募研究開発課題名：公募課題5：疾患克服に資する腸内細菌を標的とした先端的MB 制御技術の開発
2. 研究開発課題名： 腸内マイクロバイオーーム制御による次世代創薬技術の開発/課題5：ヒューマン粘膜エコシステムを標的とした腸内細菌創薬プラットフォーム開発研究
3. 代表機関名：国立大学法人群馬大学
4. 研究開発代表者名： 佐々木 伸雄
5. 所属・役職：生体調節研究所・教授
6. 全研究開発期間：令和3年12月3日 ～ 令和9年3月31日（予定）

【研究開発概要】

近年、世界中の大学や企業において腸内細菌を標的としたマイクロバイオーーム（MB）創薬研究が盛んに行なわれている。しかし、MB 創薬の開発現場では多くのシーズ細菌が非臨床試験から臨床試験の過程で脱落する、いわゆる創薬の死の谷が問題になっている。その原因の一つが、シーズ細菌を適切に評価する機能評価系が欠失していることが挙げられる。そこで、この問題を解決するために本研究課題では、ヒトの正常腸管臓器をシャーレ上で再現できるオルガノイド技術を用いて、嫌気性腸内細菌と共培養可能なヒト腸管環境を *in vitro* で再構築することを目指す。この開発するヒト疑似腸管 *in vitro* 再構築系を利用して、複数の腸内細菌を共培養し、宿主細胞存在下で観察される細菌同士の動態を定量的に解析し、その動態を予測する数理モデルを構築する。また、これらの開発研究の Proof-of-Concept を取得するために、腸内細菌依存的な大腸癌発症メカニズムの解明を目指す。発癌過程に関与する機能性細菌を探索し、その細菌が腸内環境に与える動態を予測することで、新規のMB 創薬標的候補菌を同定する。

【研究開発中間進捗／研究成果概要】

（項目1：オルガノイド培養装置開発）嫌気性腸内細菌と正常なヒト大腸上皮細胞の安定的な共培養を可能にする灌流培養装置の開発が順調に進んでいる。中間進捗として、①コンピューター制御可能な灌流ポンプの搭載、②装置サイズの小型化に成功したことを報告する。①により、宿主細胞上で増殖する微生物の数を制御したり、自動的に新鮮な培地を連続供給できたりするようになった。また②により、パソコンを含む装置全体を嫌気チャンバー内への設置が可能になった。以上のことより、ヒト大腸オルガノイドと超嫌気性腸内細菌が共培養できるようになった。

（項目2：予測数理モデル構築）項目1で開発した疑似ヒト腸管環境 *in vitro* 再現系を用いて、複雑な腸内細菌叢の動態を計測し、そこから素過程を抽出することで、腸内細菌の変化を予測する数理モデルを構築する。これまでに、外部標準ゲノムの spike-in を利用した腸内細菌叢の絶対定量メタゲノム解析法を構築した。その結果、環境や給餌方法を極限までコントロールした定常状態においても、腸内細菌叢は大きな変動（ゆらぎ）があることを見出した。また項目1で実施した、疑似ヒト腸管 *in vitro* 再現系でサンプリングされた菌液含有培地の定量的メタゲノム解析を実施し、腸内細菌の増殖過程の定量的測定に成功した。

（項目3：大腸癌疾患への応用）現在までに、代表班が所属する群馬大学医学部消化管外科チームと連携することで、群馬大学医学部附属病院から大腸癌患者検体を直接入手できる研究環境を整えることができた。また実際に、大腸癌患者手術検体の癌部、非癌部（正常部）組織のそれぞれからオルガノイドを樹立し、冷凍保存ストックを作製するなど、群馬大学オルガノイドバイオバンクの構築に成功した。さらに、同一患者から血液・便検体も入手することができているため、今後大腸癌発症に関与する腸内細菌の同定・機能理解について統合的に解析できる環境が整った。