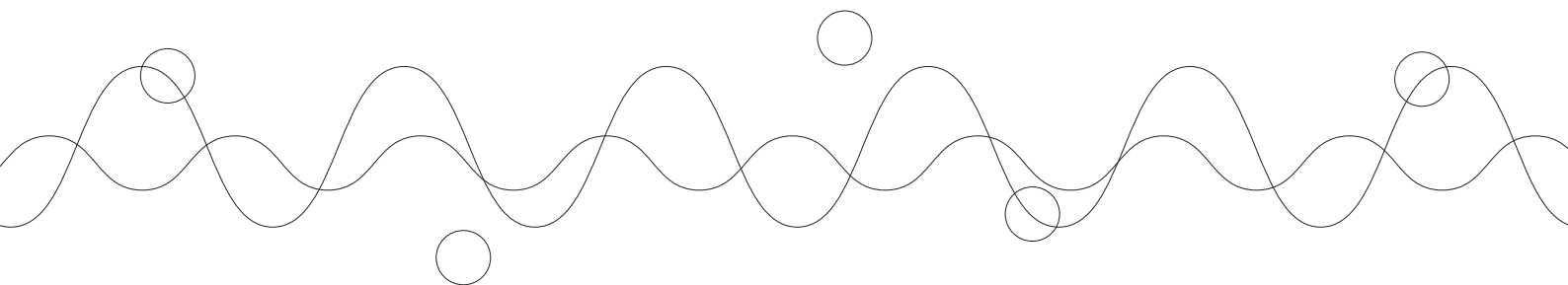


科学技術未来戦略ワークショップ報告

ヒト微生物叢 (microbiome) に関する 研究開発戦略のあるべき姿



国立研究開発法人科学技術振興機構 研究開発戦略センター
Center for Research and Development Strategy, Japan Science and Technology Agency

エグゼクティブサマリー

国立研究開発法人 科学技術振興機構研究開発戦略センター（以下「JST-CRDS」）は、わが国の社会経済の持続的発展のため、科学技術イノベーション創出の加速に向けた諸方策の提言および実現に向けた取り組みを実施している。平成 25 年度から平成 26 年度にかけて、JST-CRDS ライフサイエンス・臨床医学ユニットにおいて、国内外のライフサイエンス・臨床医学分野の研究開発動向を文献、有識者との意見交換などを通じて俯瞰し、全 11 回の俯瞰ワークショップを通じて議論を重ねたところ、わが国がトップダウンで推進すべき重点研究開発領域として「ヒト生体上皮環境（微生物叢）」が抽出された。平成 27 年度、「ヒト生体上皮環境（微生物叢）」に関する深堀調査を実施し検討を重ねたところ、わが国において推進すべき研究開発戦略に関する仮説の構築に至り、仮説検証のためのワークショップ（以下「WS」）を平成 27 年 12 月 6 日（日）に開催した。本報告書は WS における議論の概要について取りまとめたものである。

WS において、ヒト生体上皮環境（微生物叢）に関するこれまでの研究動向、今後の研究開発の方向性、わが国が推進すべきテーマ、波及効果などについて議論を行なったところ、次の結果が得られた。

まず、欧米の大型プロジェクトで、ヒト微生物叢に関する公共の基礎データがある程度整備され、これからは機能解析に向けた研究を推進すべき時期にあることが確認された。機能解析において必要な研究・技術（例えば難培養微生物培養技術、ノトバイオート技術、メタボローム解析技術、小腸内視鏡技術、免疫研究ほか）はわが国が世界トップレベルの強みを有するものが多く、それらを最大限活用することで世界をリードするインパクトの高い成果創出が期待される。また、欧米の収集した基礎データでは、日本人特有の情報（日本人健常者情報、日本人特有の細菌）が不足しているため、機能解析に向けた研究の基盤としての情報整備も強く求められる。具体的には次のテーマ設定の重要性が見出された。

【柱 1】生体恒常性の維持・破綻機構の理解

【柱 2】健康・医療技術の創出

【柱 3】研究・技術基盤の整備・活用

推進方策として、「柱 3」に挙げた技術・情報基盤を整備し、「柱 1」「柱 2」を担う全国のアカデミア・企業研究者との連携を図ることが効率的・効果的であると考えられた。

また、ヒト微生物叢研究の推進による波及効果はきわめて大きいことが強く認識された。ヒト微生物叢の理解は、様々な生命現象を解き明かす重要な切り口になるだけでなく、健康・医療産業へのインパクトも期待される。

本年度の「ヒト生体上皮環境（微生物叢）」調査で見出された研究開発戦略の方向性については、随時関連する府省に対して情報を発信しており、本 WS についても同様である。

2016 年 3 月、本 WS を含む、一連の調査を通じて収集した情報、およびわが国において推進すべき研究開発戦略について取りまとめた戦略プロポーザル「微生物叢（マイクロバイオーム）研究の統合的推進 ～生命、健康・医療の新展開～」(CRDS-FY2015-SP-05)を

発刊し、JST-CRDS ホームページ (<http://www.jst.go.jp/crds/report/index.html>) に公開している。

目 次

エグゼクティブサマリー

第 1 章	開催経緯、趣旨説明など	1
第 2 章	関連する国内の研究開発動向、今後のあるべき方向性など	6
2. 1	「情報統合データベースおよびその活用 オープンデータで世界の標準化を目指せ」	6
	黒川 顕（東京工業大学 地球生命研究所（ELSI） 副所長／教授）	
2. 2	「粘膜免疫—消化管粘膜と腸内微生物叢の相互作用—」	14
	竹田 潔（大阪大学大学院 医学系研究科 感染症免疫学講座・免疫制御学 教授）	
2. 3	「栄養・健康科学に着目した腸内細菌叢の構築と免疫応答・疾患」	19
	國澤 純（医薬基盤・健康・栄養研究所 ワクチンマテリアルプロジェクト プロジェクトリーダー）	
2. 4	「エピゲノムと微生物叢研究」	25
	牛島 俊和（国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野 分野長）	
2. 5	「微生物のゲノム解析」	32
	服部 正平（早稲田大学 理工学術院 教授）	
2. 6	「宿主と腸内細菌叢との共生関係から生まれる機能性（脂質）代謝物のメタボローム解析」	40
	有田 誠（理研 統合生命医科学研究センター メタボローム研究チーム チームリーダー）	
2. 7	「腸内細菌叢由来代謝物質による生体恒常性維持機構」	48
	福田 真嗣（慶應義塾大学 先端生命科学研究所 特任准教授）	
2. 8	「難培養微生物培養技術／食品企業研究社の視点」	55
	野本 康二（株式会社ヤクルト本社 中央研究所 特別研究員）	
2. 9	「疾患：IBD」	61
	金井 隆典（慶應義塾大学 医学部 内科学（消化器）教授）	
2. 10	「疾患：アトピー」	66
	天谷 雅行（慶應義塾大学 医学部 皮膚科 教授）	
2. 11	「健常者情報の重要性」	71
	小安 重夫（理化学研究所 理事）	
2. 12	「製薬企業の視点①」	77
	坂田 恒昭（塩野義製薬株式会社 シニアフェロー）	
2. 13	「製薬企業の視点②」	83
	鍋島 竜介（小野薬品工業株式会社 筑波研究所 先端医薬研究部 部長）	
2. 14	「わが国のヒト microbiome 研究が目指すべき方向性」	88
	大野 博司（理研 統合生命医科学研究センター 粘膜システム研究グループグループディレクター）	
第 3 章	総合討論	91
第 4 章	まとめ	98

第1章 開催経緯、趣旨説明など

説明者：辻 真博（国立研究開発法人 科学技術振興機構 研究開発戦略センター フェロー）

JST-CRDS は、わが国の社会経済の持続的発展のために、科学技術イノベーション創出の加速に向けた研究開発戦略の提言の策定、そしてその実現に向けた活動を実施している。提言の策定にあたっては、科学技術に対する社会のニーズと研究開発動向について情報を収集し、海外の研究開発動向も把握した上で、わが国において推進すべきテーマを絞り込み、研究開発戦略を検討、立案している。JST-CRDS ライフサイエンス・臨床医学ユニットでは、生命科学、健康・医療、グリーン、ヒトと社会（ELSI など）などの分野を対象とした取り組みを行なっている。当ユニットでは、調査の過程で見出された情報および政策提言について、例えば文部科学省、経済産業省、厚生労働省、農林水産省、環境省、そして内閣府、AMED などに対して積極的に発信し、施策化に向けた取り組みを行なっている。その結果、一定の割合で様々な施策へと反映されているものと認識しているが、本日のワークショップのテーマも含め、政策提言の結果が全て施策になるとは限らない点、予めご理解をお願いしたい。ヒト微生物叢に関し、インパクトを最大化するような研究開発戦略を練り上げ、政策提言を作り込みたいと考えているため、本日は先生方の活発なご議論をお願いしたい（図 1-1）。

本日のメインテーマであるヒト微生物叢の議論に入る前に、ヒト微生物叢の重要性を認識した背景について申し上げたい。まず、科学技術に対する社会のニーズを把握しておくことが必須と考えている。“社会”と言っても様々な要素があると考えており、ここでは「国民」、「産・学」、「行政」の3つと大別した。「国民」はQOLが維持され健康長寿であること、「産・学」は研究開発が活性化し産業競争力が強化されること、「行政」は社会保障制度が今後も維持されること、これらがそれぞれの“社会”ニーズになっていると考えられる。健康長寿であることと医薬品が次々と創出されることは、一般に協調関係にあると考えられる。一方で、近年の高コストな生物学的製剤が医療費高騰の一因となり、それらと対立関係にあると考えられる。従って、「国民」、「産・学」、「行政」の社会ニーズを、バランス良く、同時に満たしうるような取り組みを推進すべきであると考えており、ライフサイエンス・臨床医学に関する研究開発戦略の立案においては常に意識しなければならないものと考えている（図 1-2）。

以上の認識のもとで、当ユニットではライフサイエンス・臨床医学分野の科学技術動向の俯瞰調査を平成 25 年度～平成 26 年度にかけて、延べ 285 名の有識者の協力を得て実施した。俯瞰にあたって、ライフサイエンス・臨床医学分野を全 7 区分、77 領域に分類し、各区分・領域について国内外の研究開発動向、関連施策動向など、網羅的な情報収集を進めた。全 11 回の俯瞰ワークショップを実施し、俯瞰的な情報の収集に加え、今後検討すべき重要テーマについての議論も実施した（図 1-3）。

重要テーマ抽出の際は、先に述べた「国民」、「産・学」、「行政」のそれぞれのニーズを同時に解決しうるものであり、国内外の関連する動向を踏まえ、わが国でトップダウンにより推進する意義が特に大きいものを対象としたところ、16 テーマが抽出された（図 1-4）。

その後、CRDS 内の戦略スコープ策定委員会における議論を経て、平成 27 年度に重点的に調査を実施すべきテーマとして「ヒト生体上皮環境 (微生物叢)」が設定され、検討チームが平成 27 年 4 月に発足した。発足以降、論文・文献調査、学会参加、有識者ヒアリングなどを通じて情報収集を進め、並行してわが国が推進すべき研究開発戦略について仮説構築を行なった。ある程度の方向性が見えてきたため、本日、ワークショップにおいて先生方にご議論頂き、仮説をブラッシュアップし、2016 年 3 月を目処に政策提言を刊行したいと考えている (図 1-5)。

まだ作成段階ではあるが、政策提言の骨子を申し上げたい。まず、ヒト微生物叢に関連すると考えられる学術分野、或いは産業分野などの俯瞰図を作成した。既に先生方には事前にお送りしているため詳細は省略するが、まず、基礎生命科学については、幅広い分野が対象となりうる。また、疾患についても、ヒト微生物叢は全身の様々な疾患と関係し、対象は幅広い。生命科学、疾患科学研究を推進する上で特に重要と考えているのが、微生物叢の操作・解析に必要な技術群である。微生物叢研究がこれまでなかなか進まなかった背景には、技術的なボトルネックの大きさがあったものと考えており、近年ブレイクスルーとなったのが、メタゲノム解析の展開にあると考えている。医療技術開発について、研究段階だが期待感が強まっているのがヒト微生物叢研究の特徴であり、慶應・本田賢也教授の微生物カクテルはその最たる例であると考えている。また、いわゆる健康食品など予防介入法について、わが国の食品関連企業が伝統的に取組みを続けており、ヒト微生物叢研究によるエビデンスの構築を通じて、更なる活性化が期待される産業であると言える (図 1-6)。

ヒト微生物叢については、本日ご出席の服部先生が萌芽期からご活躍されてきたなどあるものの、その後、大型プロジェクトを走らせた欧米とは対照的に、わが国では殆ど研究費の支援が為されてこなかった現状があると認識している。しかし、そのような中においても、先程申し上げた本田先生を初め、日本が強みを有する分野の研究者の協働によって、世界をリードする成果が挙げられている点は重要であり、今後のファンディング支援によって更に多くの成果が生み出される土壌はあるものと考えている (図 1-7)。

ヒト微生物叢研究を推進するにあたって、わが国の技術的優位性は高いと考えている。詳細な説明は省略するが、難培養微生物培養技術、ノトバイオート技術、小腸内視鏡によるサンプリング技術、メタボローム解析技術などの技術は日本が極めて高いレベルにあるものと考えている。また、それら技術を使って生命や疾患の理解を進めるために必要な免疫、エピゲノム、イメージング研究なども世界トップレベルにある。また、欧米の先行するプロジェクトでは、ヒト微生物叢研究に必要な個々の微生物ゲノム情報など、研究推進に必須なデータを収集し公開し、それらを活用して微生物叢と疾患や健康状態との相関が見出されてきたものと認識している。ただし、それらの成果を健康・医療技術開発に結びつけるためには、具体的な機能を明らかにし、制御法を確立しなければならず、そのために必要な技術・研究群には、先程申し上げた、わが国が強みを有するものが非常に多いと考えている。従って、今、ヒト微生物叢分野に積極的な研究開発投資を実施することで、高い費用対効果でわが国の国際的プレゼンスを示すことが可能と考えている (図 1-8, 9)。

また、技術的優位性のみならず、疾病動向の観点からも、わが国において研究を実施する意義は高い。日本人に多い疾患、或いは欧米人と日本人の発症メカニズムが異なる疾患

が多く知られており、その中には図中に示すような、腸内細菌（叢）との関係が示唆されているものも多い。これらについては、日本人を対象とした研究を推進する必要がある、わが国で適切な研究体制を構築し研究開発、健康・医療技術開発を推進すべきである（図 1-10）。

わが国で推進すべき研究開発の方向性について、イメージを申し上げたい。本日まで出席の先生方には既にお送りしたものであるため詳細は省略するが、生命科学および疾患科学、健康医療技術開発、そして技術・情報基盤、これら3つを大きな柱として、研究を推進すべきであると考えられる。また、技術・情報基盤については、集約・拠点化を図りつつ、生命科学、疾患科学、健康医療技術開発を推進する全国の研究者を支援する体制が効率的、効果的であると考えている（図 1-11）。

最後に、ヒト微生物叢研究の推進を通じて生み出される波及効果について述べたい。微生物叢は様々な生命現象に関与しており、微生物叢研究を通じてそれら既存の領域に大きな展開をもたらすものと期待される。また、ヒト微生物叢研究を通じて健康・医療技術が次々と生み出されることが期待され、国民の QOL 向上、そして健康・医療産業の活性化にも大きく貢献しうる。実際に、国内外のベンチャー、製薬企業において、ヒト微生物叢に着目した応用開発を進める動きが複数見られ始めており、わが国として研究開発投資を実施することで、それらの動きが大きく加速するものと考えている（図 1-12）。

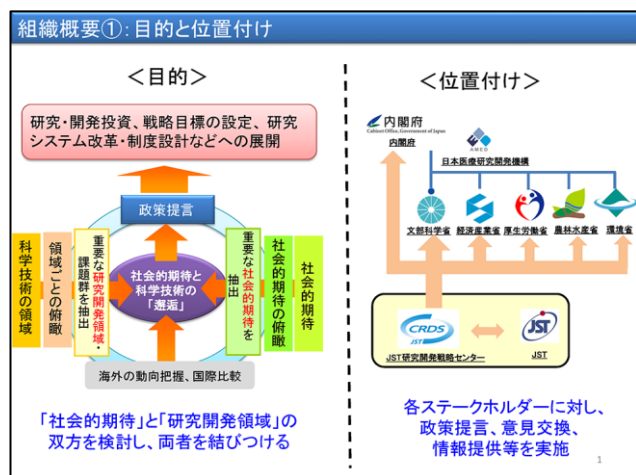


図 1-1

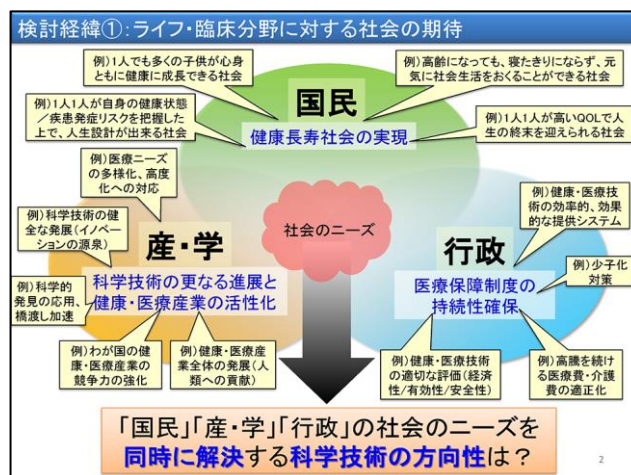


図 1-2

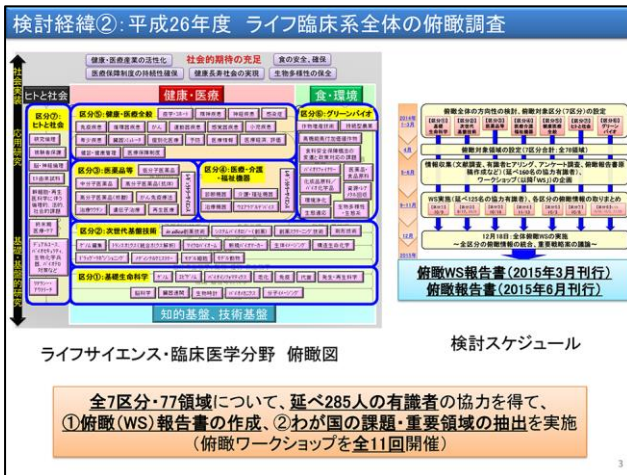


図 1-3

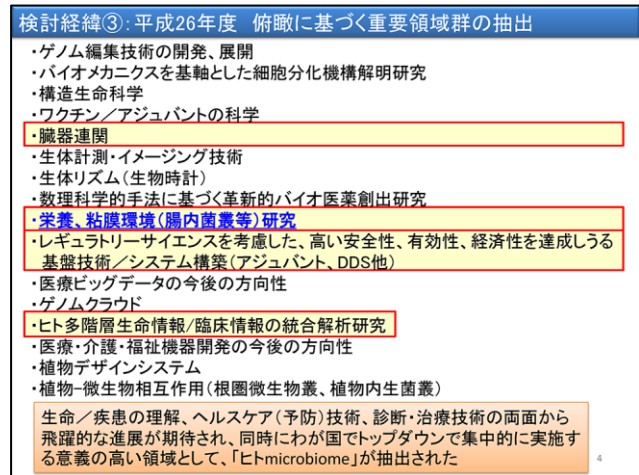


図 1-4

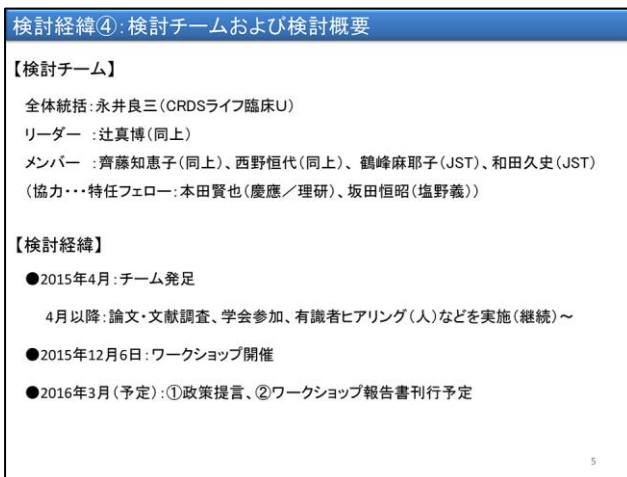


図 1-5

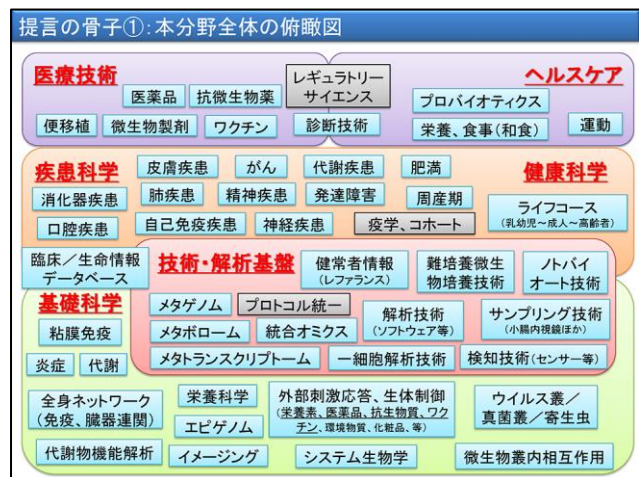


図 1-6

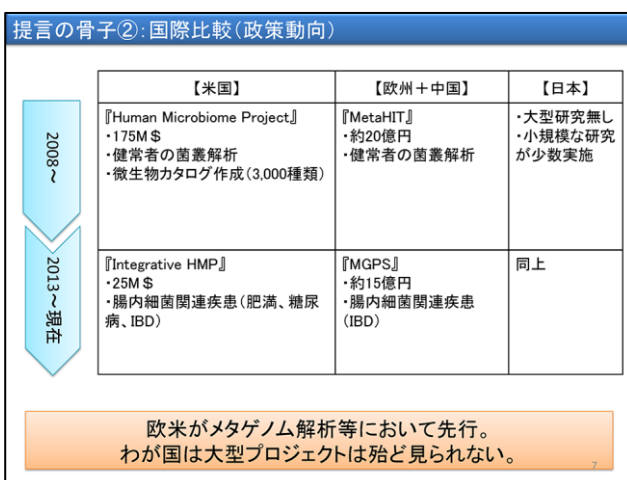


図 1-7

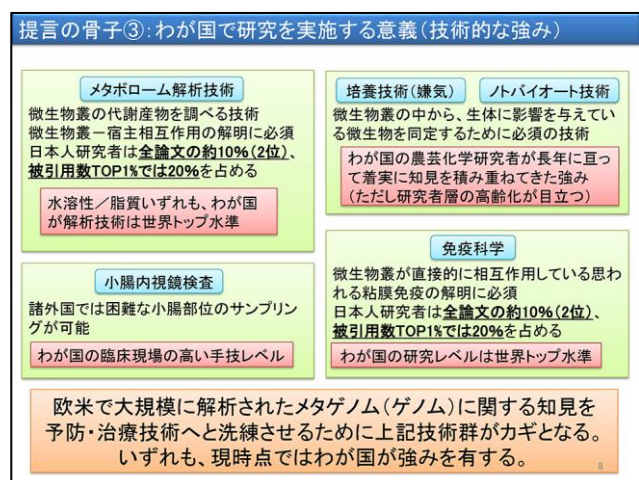


図 1-8

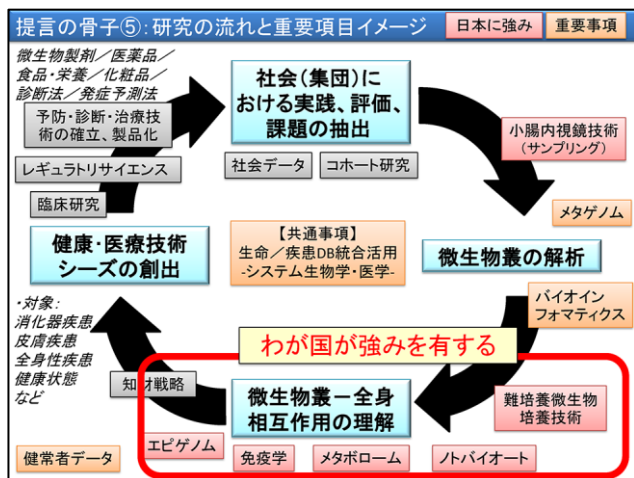


図 1-9

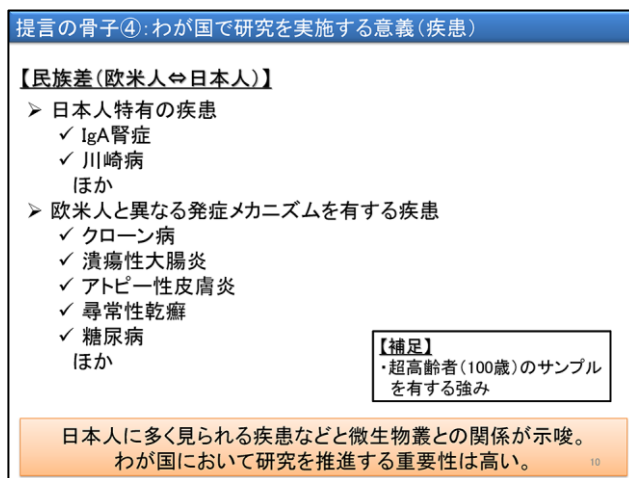


図 1-10

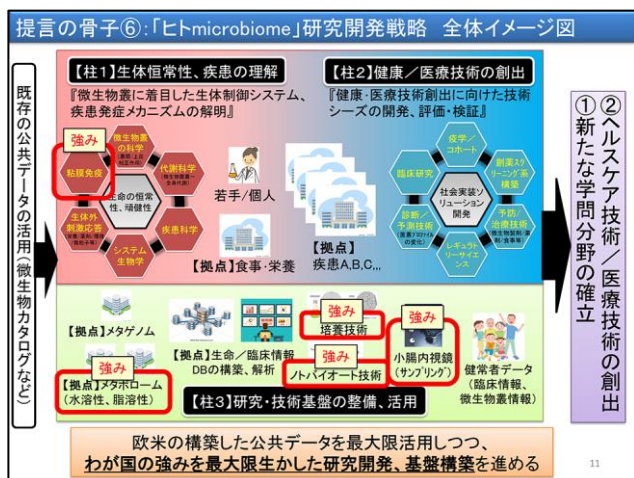


図 1-11

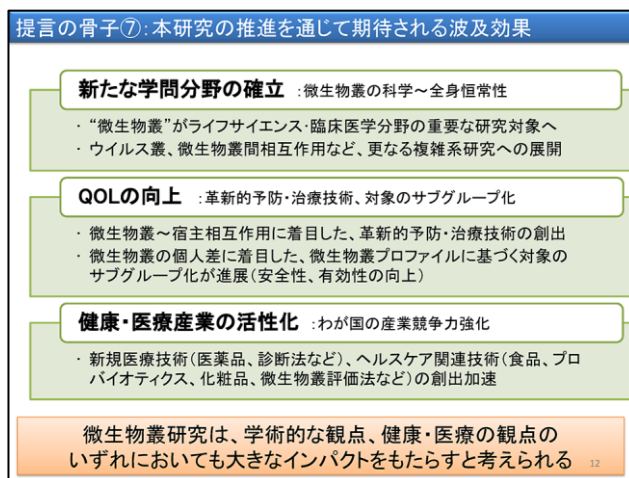


図 1-12

第2章 関連する国内の研究開発動向、今後のあるべき方向性など

2.1 「情報統合データベースおよびその活用 オープンデータで世界の標準化を目指せ」 黒川 顕(東京工業大学 地球生命研究所(ELSI) 副所長／教授)

<発表概要>

様々な分野においてデータ分析の重要性が大きく高まってきている。生命科学分野も例外ではなく、分析機器の圧倒的な発展を背景に膨大なデータが日々、産出されている。さらに多様かつ膨大なデータ（マルチオミクス含む）を統合的に分析し新たな関係性を見出ししていくことが、国内外の大きな流れとして期待されている（図 2-1-2）。

例えばメタゲノムについて述べたい。米国 NIH の元の NCBI（国立生物工学情報センター、National Center for Biotechnology Information）の SRA（Sequence Read Archive）というデータベースに登録されているヒトメタゲノムデータの増加をグラフで示す。米国の HMP（Human Microbiome Project）は 2008 年に開始され、論文が出る前（2010 年頃）からデータの登録が始まっている。HMP の成果公開時にもデータ量が大きく増加しており、現在は全世界で約 12 万サンプル、約 3,000 億リードのメタゲノムの情報が得られている。この他にプライベートなデータベースも少数ある（図 2-1-3）。

欧州の大型プロジェクトで実施された、デンマーク人、スペイン人、中国人を対象とした約 1,200 名規模のコホート研究では、過敏性腸炎や IBD、健常者などが含まれたデータが得られている。関連するメタデータは約 300 項目あるが、残念ながら、公開されているメタデータは性別や年齢、BMI にとどまっている（図 2-1-4）。

メタゲノム研究の潮流は、ゲノム研究と同様に、細菌種や遺伝子の記載、そこからの知識発見、ダイナミクスの理解、そして最終的にはデータベースで異分野融合という流れである。現状のメタゲノム研究は、ダイナミクスの研究に入りつつある段階であろう（例：ヒトであれば、1 人の患者を継続調査し変化を見出す研究）。そのための基盤的な研究をわが国でもしっかりと進めなければならない（図 2-1-5）。

これまでに公開されているヒトマイクロバイオームのデータ群の問題として、圧倒的に健常人のデータが不足している点が挙げられる。また、詳細なメタデータがほとんど付随していない点も留意すべきである。こちらは、実際には詳細なメタデータがあるものの、公開データでは隠されており、病気なのか健康なのか、といった程度しか分からない。さらに大きな問題として、公開されているデータ群の用語や単位、構造などが全く統一されていない。例えば皮膚の状態についても、moist/dry/wet などの記述はあるが、それらの評価基準が不統一である。そのようにデータベースの構造化がなされていないため、データの比較が困難である。また、解析手法の統一もなされていない（新型シーケンサーの発展が著しいため統一は容易ではないが）。そして、それらデータを使って細菌叢の構成割合を解析する手法も統一されていない。最後に、メタゲノムが他のデータ群（メタボローム、メタトランスクリプトーム、ヒトゲノムなど）と統合化されていないため、統合解析が困難な状況となっている（図 2-1-6）。

本日出席の、トップランナーの先生方の研究からは日々多様かつ膨大な多階層の情報が産出されている。そのため、それらを統合化し基盤を構築しながらあらゆる研究を展開していく必要がある (図 2-1-7)。

多層情報から新たな知識を引き出すためには、統計解析や自然言語処理、機械学習、ディープラーニング、などの高度な解析技術が必要になる。いわゆるビッグデータ解析と呼ばれるものだが、こういった技術をわが国でも大きく発展させなければならない。ただし、それらは決して本丸ではないと考えている (図 2-1-8)。

最も重要なのは、ビッグデータ解析に資する基盤データの整備、特にデータ構造化 (オントロジー開発) が必須であると考えられる。例えば「ヒト腸内」といっても「gut」「intestine」「feces」「stool」などの様々な用語で登録されてしまい、横断的に検索して目的のデータを得ようとしても、困難が生じる。そこで、コンピュータ側にそれら用語群がおおよそ同じような関係性を持っていることを予め教えなければならず、それがいわゆるオントロジーと呼ばれるものである。言葉は哲学であるため、ある先生は「gut」と「intestine」は類似するが「intestine」と「feces」は全く違うと考えるなど、人によって違ってきてしまう。そういった点については研究者コミュニティできちんとコンセンサスを取りながらオントロジーというものを作り上げていかなければならない (図 2-1-9)。

私の研究活動となってしまうが、JST の NBDC (National Bioscience Database Center) という事業で開発しているデータベースを紹介したい。ここでは、そういった語彙関係などを徹底的に作り上げ、全データ横断的に検索することができるようなデータベースのシステムを構築している。本データベースを活用すると、例えば本日まで出席の先生方が注目しているような遺伝子が、ヒトのマイクロバイオームのこういった部位からどの程度見つかるか、などを検索するだけで明らかにすることができる (図 2-1-10,11)。

このような取り組みは、Craig Venter 氏が 2014 年に設立した HUMAN LONGEVITY INC. (人間長寿株式会社) においても取組まれており、その宣伝文句として「ヒトの遺伝型、体内や皮膚におけるマイクロバイオーム、メタボローム、臨床データを含む表現型を網羅した統合データベースを構築する」となっている。なお、彼らの HP のキャリア募集要綱を見ると「ジェノタイプとフェノタイプの情報を統合したようなデータベースを我々は構築したい」と明記しており、具体的に必要とする人材 (バイオインフォマティクス・サイエンティストなど) も挙げられている (図 2-1-12,13,14,15)。

本分野で今後重要となってくる課題について述べたい。命題としては、関連研究分野から産出される多様かつ膨大な多層情報の統合化である。それらを全ての研究の基盤としていくために、データの意味づけ、構造化、ダイナミクス分析、統合化技術、などを徹底的に進めなければならない。これが整った後に、大規模学習アルゴリズムや強化学習などを使った質問応答システムなど、いわゆる AI 知識ベースの可能性が見えてくる (図 2-1-16)。

日本の強みについて述べたい。まず、INSDC (International Nucleotide Sequence Database Collaboration) という、塩基配列情報の国際的なデータ交換を進めている組織があるが、わが国は国立遺伝学研究所の DDBJ (DNA Data Bank of Japan) がその一員となっている。また、JST 内には NBDC、DBCLS (ライフサイエンス統合データベースセンター、Database Center for Life Science)、我々の開発した微生物データベース (Microbe DB) やメタボロームデータベース (KNAPSACK)、また京大の KEGG などのデー

データベースもあり、日本はデータベース関連で優れたものを持っている。それらの統合化が今後進展し、大規模データが活用可能な環境が整ってくれば、例えば産総研に設置された人工知能研究センターなどの AI を用いた研究が発展していくだろう (図 2-1-17)。

さらに、日本が強みを有する暗号化技術 (日立、三菱など) も考慮していくべきであろう。これまではヒトの大便や微生物が誰のものなのか曖昧な問題であったが、我々の研究においてもある疾患とある種の微生物の関係が見え始めており、もし原因遺伝子などが存在する場合、個人情報になる可能性も出てくるため、暗号化技術も重要になってくる。最後に、膨大な情報を取り扱う際にはスパコン技術も重要であり、この点は日本の強みである (図 2-1-18)。

わが国が世界で高いプレゼンスを示しうる研究開発戦略としては、まず第一にデータの意味付け、構造化、統合データベース、などの十分な整備が重要である。また、重要なキーワードとして「オープンデータ」を挙げておきたい。現状、世界もオープンデータについては足並みが揃っていないため、わが国がきちんとした枠組みを構築し、標準化することで、海外もついてくるのではないかと考えている。なお、オープンデータを進める際は、何をクローズにするかを戦略的に考えることが大前提となるため、先生方の研究に影響が出ることはないはずである。このような環境が整備されることで、AI 知識ベースの構築や微生物群集構造ダイナミクス、宿主間相互作用の系統だった発見などが大きく進展するだろう。そして最終的には、微生物叢の制御を通じ人々を健康にする、といったことが大きく進んでくるものと考えている (図 2-1-19)。

<質疑応答>

【大野】日本の強みとして DDBJ などのデータベースが多くあるとのことだが、それでも十分ではないという理解か。

【黒川】その通りで、今後更なる展開を進めるための下地はあるという意味である。例えば DDBJ はデータを蓄積するだけという組織となっており、米国の NCBI とは少し異なる。NBDC は組織として存在するが、例えば微生物やメタボロームなどのデータは今のところ個別に存在しており、今後更なる統合が求められる。DBCLS はデータベースを統合化するときに必要となる技術開発を集中的に推進するセンターであり、世界中を見ても日本にしかない組織であるため、そういったところと一体的に進めて行くと大きな進展が期待される。

【小安】統合データベースの議論は何年も行なっているがなかなか進まない。その理由として、メタデータの中の臨床情報の扱いが大きな問題になっている。この問題をどのように解決していくかを提案することが重要である。1 人の研究者だけで解決できる問題ではないが、今後の戦略について伺いたい。

【黒川】臨床情報はメタデータに終始しており、メタゲノムは高度に隠すべきデータとされていない。NBDC 事業を進める中で、企業が関係するデータは高度な秘匿性が求められるため、例えば配列データだけはオープンとする、或いはメタデータのある一定のレベルまではオープンにするなど、非常に詳細な部分までオープン／クローズを操作可能なシステムを構築しているところではある。ヒトゲノムについては、NBDC 内に JGA というデータベースが構築されており、完全にアイソレートした形で守られている。現状、

メタゲノムはそこまで進んでいないが、今後様々なデータが付随してくると、オープン／クローズの基準について、全体として議論していかなければならない。そして、1人の研究者だけで決められる問題ではないため、プロジェクトが始まる前に議論を重ねるべきだと考えている。データ構造化についても同様であり、議論を重ね、プロジェクトが始まる段階ではおよそ決まっている状況にしなければならないと考える。

【小安】本件は総合科学技術・イノベーション会議（CSTI：Council for Science, Technology and Innovation）などから強く提言すべきと考えている。かつての総合科学技術会議（CSTP）で統合データベースの議論をした際も、総論賛成各論反対となる状況であった。

【黒川】その歴史的経緯は耳にしている。もし、ヒトマイクロバイオームのような組織を設立するのであれば、比較的限定的な情報になると思われるため、そこで議論を重ねて実践していくことで、将来的には他分野に対しても波及効果が大きいのではないかと考える。

【本田】データ統合の際、センターを設立しなければならないか。或いは現状のインフラを活用したコンソーシアム的に共通認識で進めれば良いのか。米国の場合、HMPを開始する際に DACC（Data Analysis and Coordination Center）が設立され、そこに集約することとなったが、日本におけるベストな体制について聞きたい。

【黒川】個人的な意見となるが、わが国には DDBJ のような大規模なものが既にあるため、そういったところに集約していくのが良いのではないかと考える。情報拠点がいくつかに散在していたとしても、例えば研究員の往来を活発化させ、できるだけ密な議論をしながら進めていく体制が良い。扱うべきデータの種類が多いため、1つの組織だけで全て対応するのは難しいだろう。

【本田】現在の DDBJ などには、今後さらに蓄積するであろうデータを保管し、処理する能力はあるか。

【黒川】ファシリティとしては存在するが、人材が不足している。データ構造化を進める場合は、それなりに人手が必要になってくる。データ構造化を1つのセンターにする必要があるかどうかは分からないが、ある程度の期間は出来る限り集約して進めるべきである。

【永井】オバマ大統領が Precision Medicine Initiative で主張していることと重なり、科学技術政策当局と、政治的なリーダーシップが重要であると感じる。とにかく統合しないと話にならない。当面やるべきこと、来年、再来年に向けてやるべきこと、そして如何に次へとつなげていくかという2つの形で提案していくべきだろう。予算規模については、長期的に考えると数百億円レベルの大きなものになってくるのではないかと考える。

【黒川】長期的にはその通りである。データベースは長期的な観点から進めるべきもので、構築しても維持発展させていくことが重要である。そのようにアピールしていきたい。

【天谷】そのような大きな視点でわが国のデータベースを統合化するのであれば、臨床では医療情報の共有化が非常に大きな問題である。メタゲノムデータベースの共有化のみならず、臨床データベース、医療情報も含めた共有化ができると、社会全体に研究成果を大きく還元できるのではないかと考える。

【黒川】 同感である。しかし、そのためには時間と大きな労力が必要であり、せっかく本日のような検討会があるのであれば、まずはそういった分野から始めていき、そこを突破口として大きく展開していければと考えている。

【辻】 バイオインフォマティクスが足りないという耳にするが、例えばキュレーションやオンロジーを担う人材は日本にいるのか。

【黒川】 非常に数が少ないのが現状である。しかし、DBCLS の中にそれら人材が集中しており、大きなチャンスであると考えている。通常、バイオインフォマティクスというと計算機寄りのイメージを持つが、構造化や意味づけでは相当なレベルでバイオリジの知識を要求される。従って計算機科学の研究者とは少し違うスキルを有する、特殊なバイオインフォマティクスの研究者が求められる領域である。



図 2-1-1

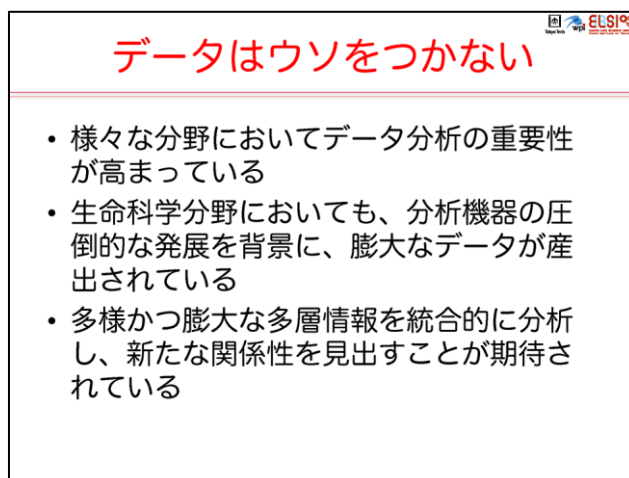


図 2-1-2

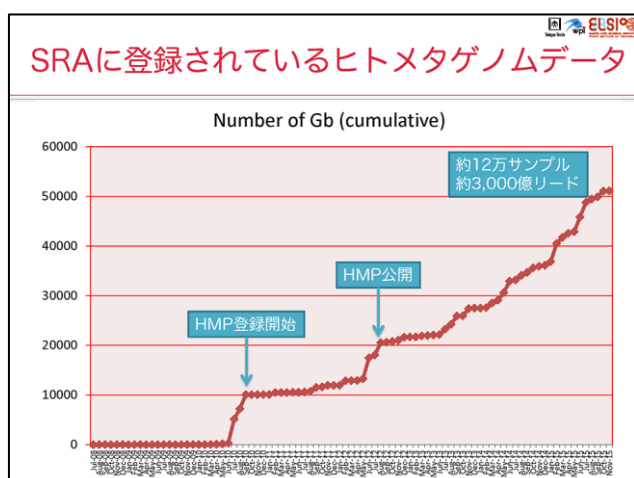


図 2-1-3



図 2-1-4



图 2-1-5



- ・ 健康人のデータが不足している
- ・ 詳細なメタデータがほとんど付随していない
- ・ メタデータの用語、単位、構造が統一されていない
- ・ 解析手法（機器・試薬含む）が統一されていない
- ・ 他のデータと統合されていない

图 2-1-6

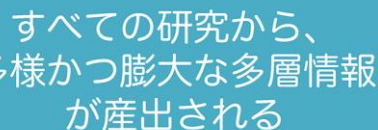


图 2-1-7



これら多層情報から新たな知識を引き出すためには、統計解析やネットワーク解析、自然言語処理、機械学習、分析アルゴリズムなど新規かつ高度な解析技術が必要となる

ここが本丸か？

图 2-1-8



ヒト腸内環境に関連した語彙

- human gut (ヒト消化官)
- human digestive tract (ヒト消化器官)
- human gastrointestinal tract (ヒト消化官)
- human intestine (ヒト腸):gutの一部
- human intestinal lumen (ヒト腸管腔):gutの一部
- human colon (ヒト大腸):gutの一部
- human stomach (ヒト胃):gutの一部
- human feces (ヒト糞便):gutと関連
- human stool (ヒト糞便):gutと関連

フリーワード検索の問題点

- ・同義語や関連語が多数存在するため対象の選択的取得が不可能
- ・文字の一致だけを調べるため不要な情報も取得してしまう

メタゲノムデータを網羅的に取得するためには
単語の意味、単語間の意味的関係性、階層性を定義する必要がある

=オントロジー



图 2-1-10

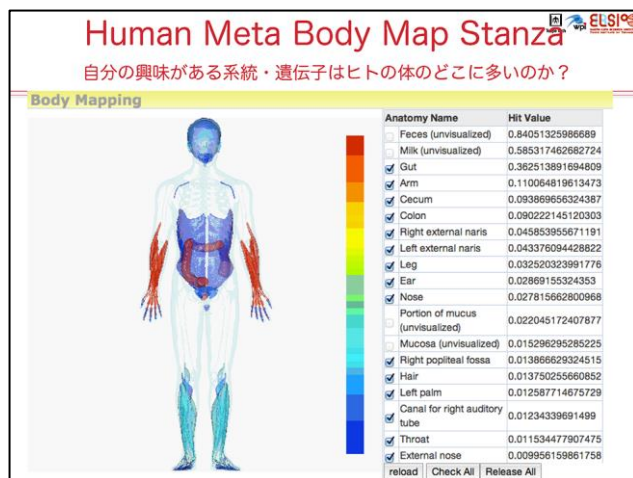


図 2-1-11



図 2-1-12

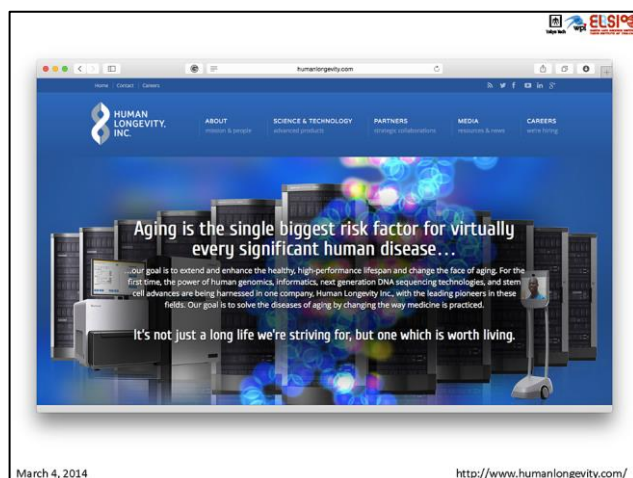


図 2-1-13

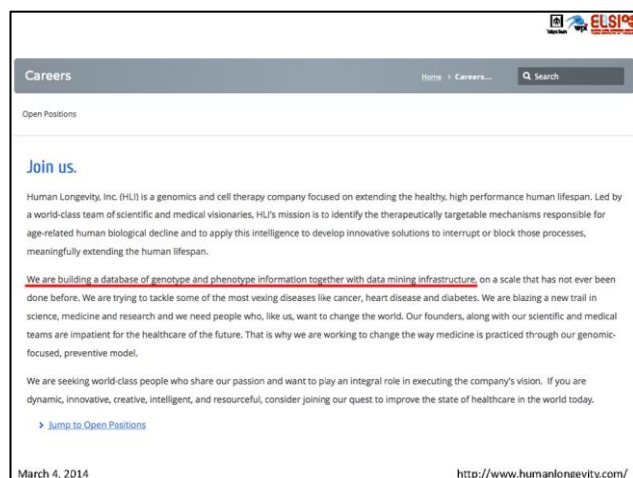


図 2-1-14

Bioinformatics Scientist (HLI0214)	La Jolla, CA, US	Full Time
Bioinformatics Scientist (HLI0614)	La Jolla, CA, US	Full Time
Bioinformatics Scientist (HLI0514)	La Jolla, CA, US	Full Time
Bioinformatics Scientist (HLI0414)	La Jolla, CA, US	Full Time
Bioinformatics Scientist (HLI0314)	La Jolla, CA, US	Full Time
Software Engineer - Genomics/Cloud and Database (HLI0714)	La Jolla, CA, US	Full Time
Software Engineer - Genomics / Cloud and Database (HLI0814)	La Jolla, CA, US	Full Time
Software Engineer - Genomics/Cloud and Database (HLI0614)	La Jolla, CA, US	Full Time
Software Engineer - Machine Learning/Big Data for Genomics (HLI4014)	Mountain View, CA, US	Full Time
Software Engineers - Machine Learning/Big Data for Genomics (HLI3314)	Mountain View, CA, US	Full Time
Bioinformatics Scientists (HLI2814)	Singapore, Singapore	Full Time
Software Engineers - Machine Learning/Big Data for Genomics (HLI3114)	Singapore, Singapore	Full Time
Software Engineer - Genomics / Cloud and Database (HLI3214)	Singapore, Singapore	Full Time
Systems Administrator - HLI3014	Singapore, Singapore	Full Time

March 4, 2014 <http://www.humanlongevity.com/>

図 2-1-15

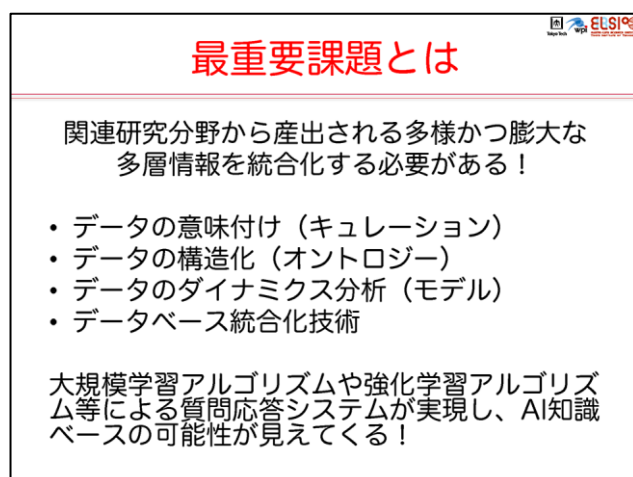


図 2-1-16



図 2-1-17



図 2-1-18

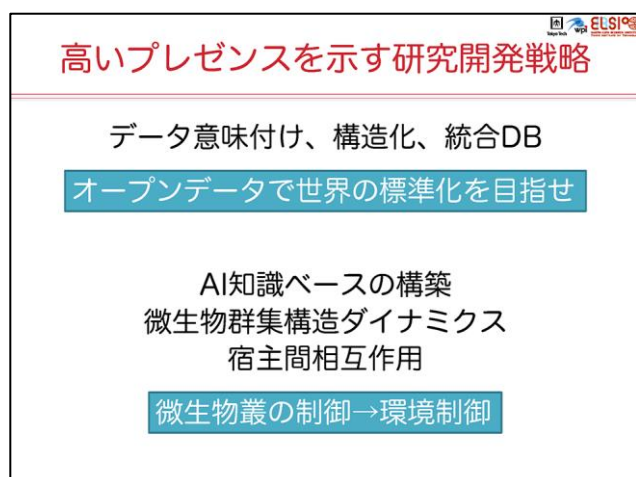


図 2-1-19

2.2 「粘膜免疫—消化管粘膜と腸内微生物叢の相互作用—」

竹田 潔(大阪大学大学院 医学系研究科 感染症免疫学講座・免疫制御学 教授)

<発表概要>

消化管に存在する腸内細菌叢と宿主動物は、宿主が消化管という細菌叢定着のための嫌気的環境を提供すると同時に、腸内細菌叢は宿主の健康に影響を及ぼすという共生関係を持つ(図 2-2-2)。宿主の健康への影響として、大きなものは栄養素の産生と感染症に対する防御・免疫系の発達である(図 2-2-3)。とくに腸内細菌叢による免疫系発達に及ぼす影響の解明については、我が国の貢献は非常に大きい。東京大学の清野宏博士は長年この分野で研究をされており、1980 年には消化管関連免疫組織の発達と炎症反応の誘導に腸内細菌が関与していることを、Germ-free マウスを用いた解析により明らかにしている。ヤクルト中央研究所の梅崎良則博士は腸内で分泌される IgA 抗体の産生細胞の分化誘導、本田賢也、大野博司両博士は T 細胞の分化誘導について様々な業績を上げている(図 2-2-4)。また腸内細菌依存的に産生される IgA 抗体が腸管内での腸内細菌叢の維持に関与することも、理化学研究所のファガラサン博士が明らかにしている(図 2-2-5,6)。

腸内細菌叢と食生活の関係についても様々な報告がなされている。インド人・日本人の腸内細菌叢比較では、日本人はバクテロイデス属細菌の割合が多く、穀物を主食とするインド人はプレボテラ属細菌が多いことがわかっている。プレボテラ細菌は短鎖脂肪酸を多く産生し、インド人糞便中の短鎖脂肪酸濃度も極めて高い。また大阪大学微生物病研究所の飯田哲也教授らは、真菌叢の網羅的解析技術を開発、日本人とインド人の比較を行っており、日本人ではサッカロマイセス属、インド人ではカンジダ属の真菌叢が優勢とのデータが出ている。このように食生活による腸内細菌叢・腸内真菌叢の変化、また近年は腸内ウイルス叢についての報告もあり、今後、消化管での宿主と細菌、ウイルス、真菌の4種の生物種間相互作用について明らかにされる必要がある(図 2-2-7)。

腸内細菌叢と種々の疾患との関連もわかってきた(図 2-2-8)。実際、疾患ごとの腸内細菌叢の変化、「dysbiosis」が見られる(図 2-2-9)。例えば、腸内細菌叢の解析を実施したところ、多くの健康な日本人でバクテロイデス属細菌が優勢の腸内細菌叢となっているが、発症後1年以内の早期関節リウマチ患者の一部では、プレボテラ属細菌優勢となっていることがわかった。dysbiosis が疾患の結果であるか、きっかけであるかについての解析が進んでいないものの、Germ-free マウスで関節リウマチ患者の腸内細菌叢を再現した、関節リウマチ型の腸内細菌叢を持つと関節炎への感受性が高くなることがわかった。つまり、dysbiosis が疾患のきっかけである可能性が見えてきた。ただし健全な状態では腸内細菌叢から全身へプラスの影響を及ぼすものの、腸内環境の悪化が全身疾患の発症につながる、その分子実態は明らかでない(図 2-2-10)。

消化管に存在する腸内細菌は、私たちが日々摂取する食物を用いて様々な代謝物を産生している。その産生代謝物には体内に吸収されて全身の循環に乗っていくものも多く、栄養・エネルギー源として働くのみならず、全身に影響するような生理活性物質も存在すると予想される。共同研究を実施している慶應大学の長谷教授らとのデータであるが、腸内代謝物の約4分の1は全身の循環に乗っていくだろうということを見出している。したがって、今後は腸内細菌代謝物に着目した研究が極めて重要である。国内ではメタボローム解

析、脂質代謝経路についての研究が非常に強いこともあり、今後は腸内細菌代謝物による全身の恒常性維持機構の解析が重要なトピックとなる。とくに日本では、1950年代に生化学の技術を用いた液性因子ホルモンの発見、1980年代には分子生物学的手法を用いた生理活性を持つ液性因子サイトカインの発見を成し遂げている。今後、腸内細菌が産生する代謝物から、ホルモンやサイトカインに次ぐ第3の生理活性液性因子が見出されると予想している（図 2-2-11）。

我々が解析している炎症性腸疾患は、遺伝的素因に加え、腸内細菌を初めとする腸内環境因子の異常が相まって起こる疾患である。健康な状態では細菌叢は炎症を誘導することなく腸管に定着するものの、炎症を誘導せずに腸管に定着できるメカニズムは全く明らかでない（図 2-2-12,13）。ただし腸内環境と腸管免疫系の間に単層の腸管上皮細胞が存在し、この腸管上皮細胞から産生される粘液によって、特に大腸では図のように赤く染まる腸内細菌叢と宿主（上皮）を分け隔てるメカニズムが存在する。このように、腸内細菌が炎症を起こさずに定着できるメカニズムについて、今後さらなる解析が必要となる（図 2-2-14）。

今日は3つの話題について話した。まず腸内微生物叢、つまり細菌、ウイルス、真菌も含めた統合的解析と宿主生理機能への作用機序を明らかにする必要があること。次に腸内微生物叢と種々の疾患の病態との関わり。これは代謝産物を中心とした機能解析が必要と予想される。そして将来的に腸内微生物、そして代謝産物を用いた創薬シーズの創出が可能となってくる（図 2-2-15）。

<質疑応答>

【有田】腸内で産生された代謝物の25%が血中移行するというのは、具体的にどういう情報をもとに計算されたのか。

【竹田】大腸内容物または糞便中の代謝物のメタボローム解析結果をSPFマウスとジャーマンフリーマウスと比較して、血中のメタボロームについても同様に比較し、相関性を見て比較したところ、およそ4分の1であったという、かなり雑駁なデータである。

【有田】今後、メタボロームもリファレンスデータを集めていく必要がある。ただし水溶性・脂溶性物質どちらも、解析対象物ごとに手法が異なる。まずリファレンスを整備し、その上で代謝物の体内移行を調べていく必要があるのではないかと。

【竹田】まずリファレンスを整備し、マウスのみならずヒトでも同様の代謝産物が見られるかどうか、きっちりと相関させて解析していく必要があると考えている。

【有田】生理活性物質の絞り込みはどうやっているのか。

【竹田】例えば大腸内容物あるいは小腸内容物から脂質系の物質を抽出、それを対象に免疫系細胞や上皮細胞での活性の有無により化合物を絞り込み、精製している。

【本田】真菌叢のデータ取得はどの程度難しいか。

【竹田】共同研究で大阪大学微生物病研究所の先生にお願いしたが、1年ぐらい試行錯誤したとのこと。細菌とは異なり真菌ではPCRで増やす配列が長く、効率よく、かつバイアスがかからないように配列を増幅させるところに苦労があった。

【本田】真菌ではどの程度リファレンスのデータが整備されているか。

【竹田】データベースがほぼ未整備で、私たちの解析結果でも多くが未登録のものであった。

【本田】ウイルスの解析は進めているか。

【竹田】 まだできていない。

【小安】 リファレンスの整備は全ての話題提供に共通の課題として出てきているので非常に重要な点である。真菌はインフォマティクスの部分が非常に重要で、細菌、ウイルスなどのバックグラウンドをどうやって抽出するかのアлゴリズムの設計が鍵のため、多くの研究者で議論する必要がある。インド人で *Candida* の、とくに *C. albicans* や *C. glabrata* といった病原性真菌が多いということが非常に驚きである。

【竹田】 生物学的に見て、どのようなことが起こっているかに興味を持っており、現在解析を進めているところである。

【辻】 dysbiosis により種々の疾患が起こるというのは間違いないか。

【竹田】 少なくとも一部の疾患では予想している。

【辻】 健康医療技術としては、予防的な色合いが強くなるのか。

【竹田】 予防的段階、または寛解に持ち込んだ段階の疾患で、いかに寛解を維持するかで重要性が発揮されると予想する。

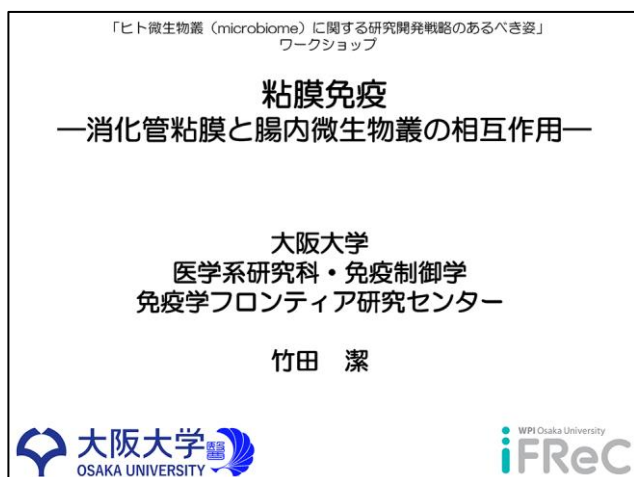


図 2-2-1

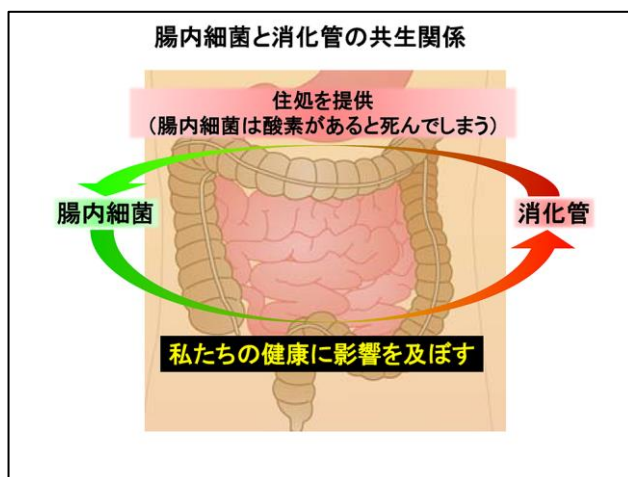


図 2-2-2

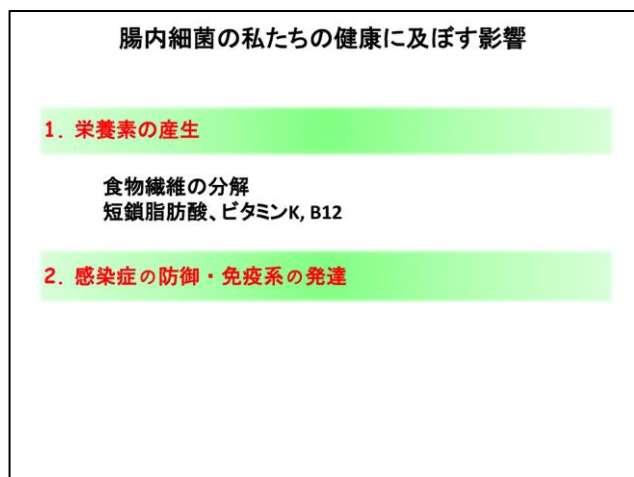


図 2-2-3



図 2-2-4

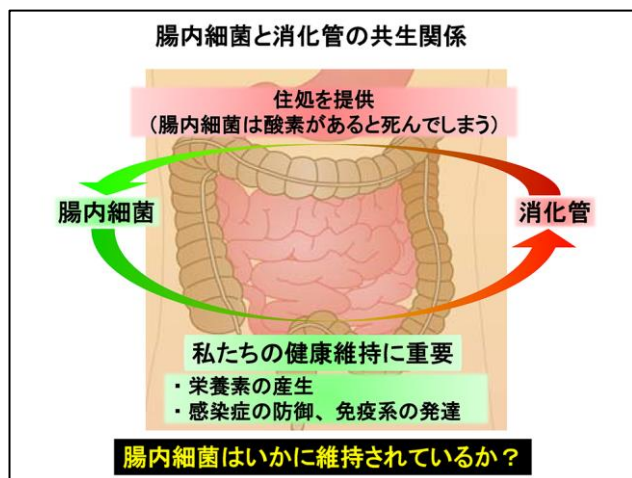


図 2-2-5

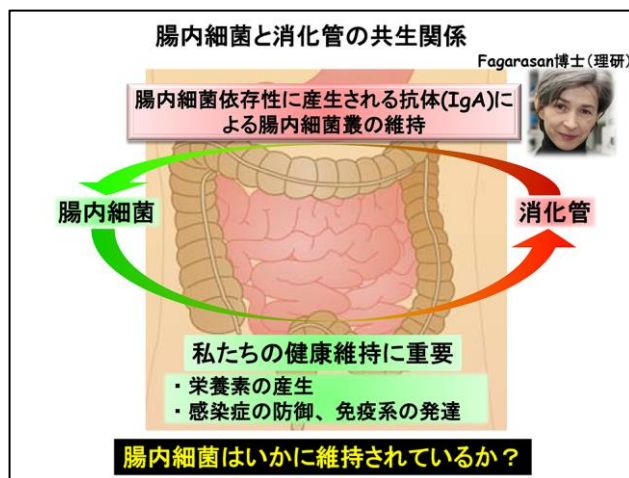


図 2-2-6

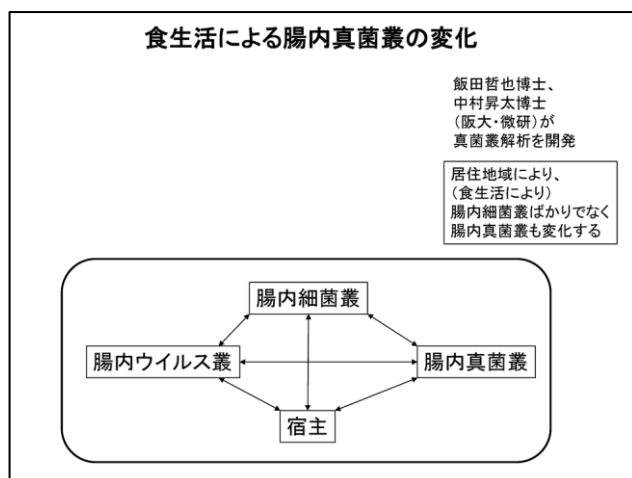


図 2-2-7

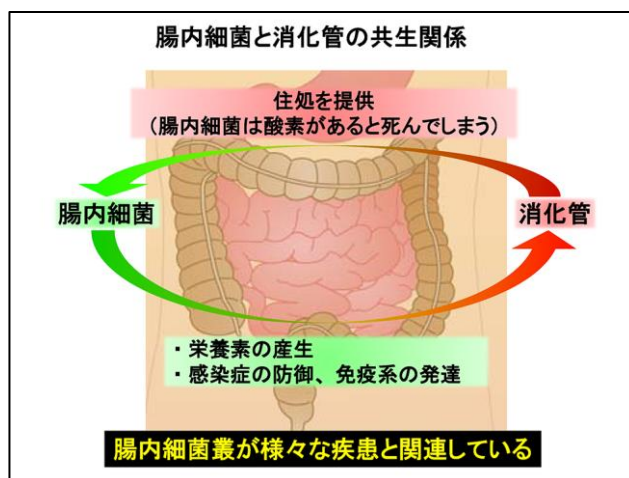


図 2-2-8

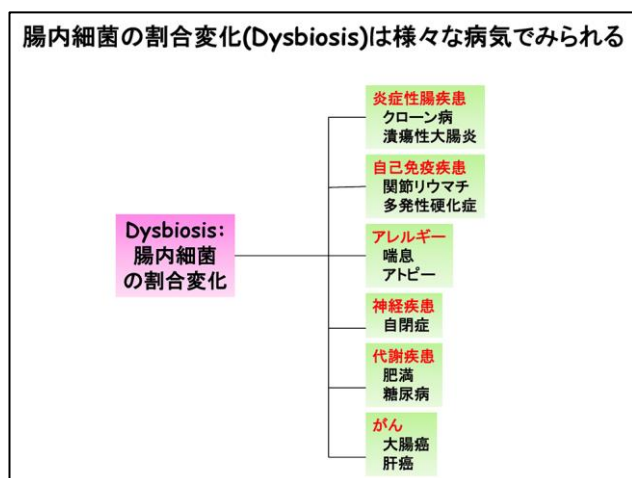


図 2-2-9

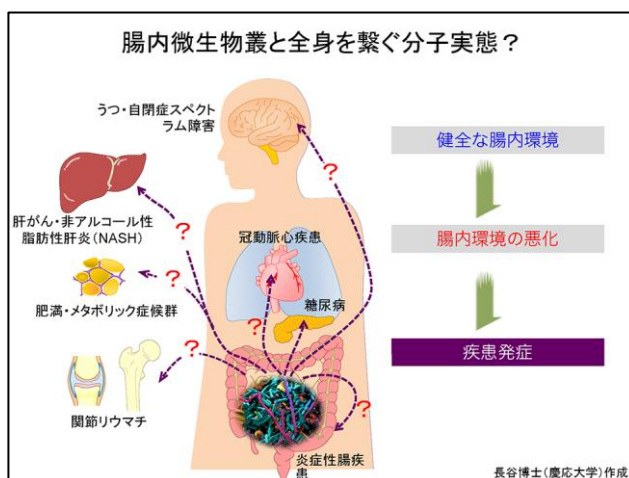


図 2-2-10

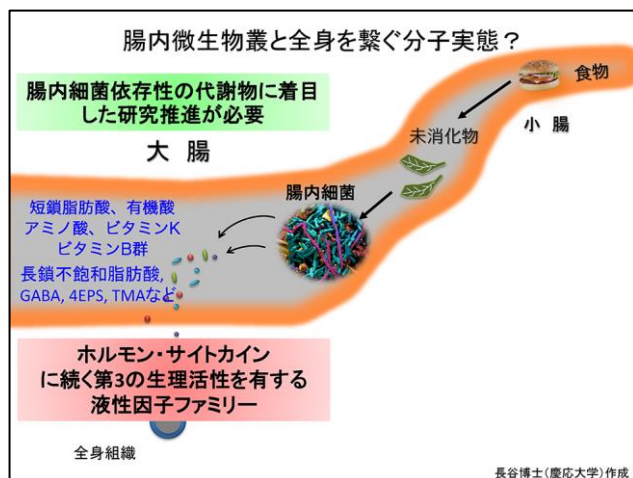


図 2-2-11

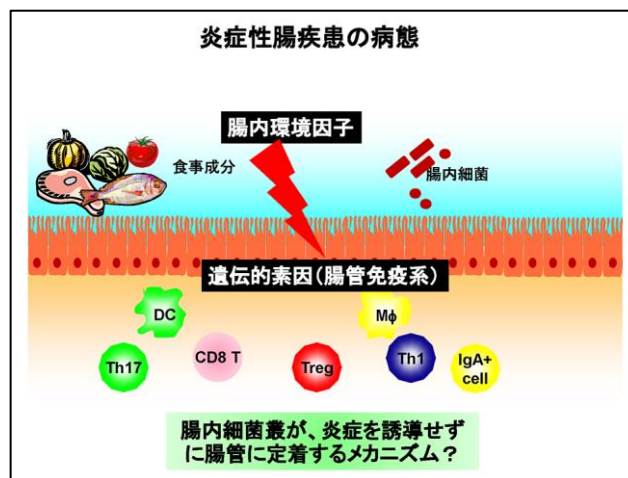


図 2-2-12

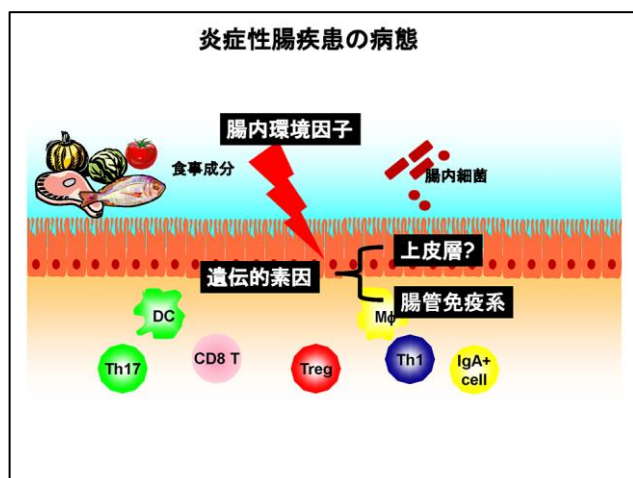


図 2-2-13

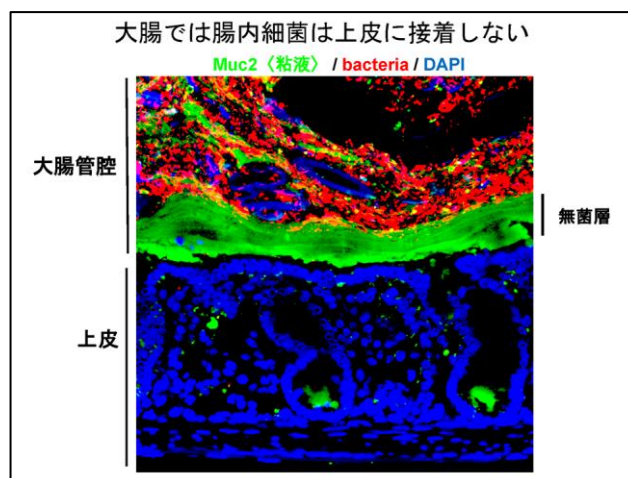


図 2-2-14

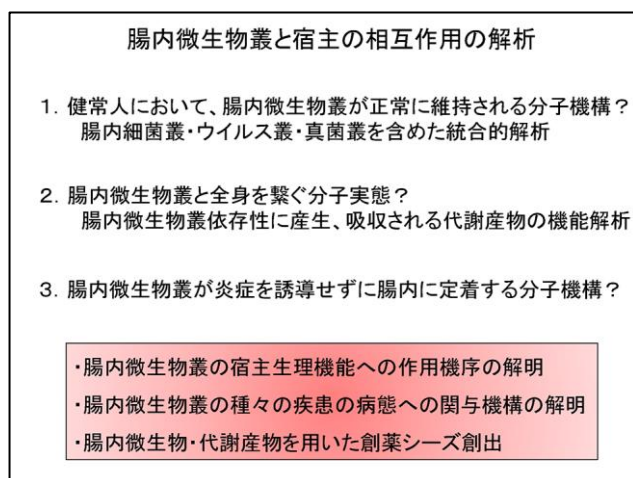


図 2-2-15

2.3 「栄養・健康科学に着目した腸内細菌叢の構築と免疫応答・疾患」

國澤 純(医薬基盤・健康・栄養研究所 ワクチンマテリアルプロジェクト プロジェクトリーダー)

<発表概要>

健康や栄養というキーワードをベースに、医薬基盤・健康・栄養研究所でのプロジェクトとして進めている研究について紹介する(図 2-3-1)。

健康的な生活を送るためには、バランスのよい食事、適度な運動、質のよい睡眠が重要とされるが、腸内細菌叢や腸管免疫など、お腹の健康についても非常に重要と言われている。ただし、「バランスのよい」や「適度な」といったキーワードは非常に曖昧で、具体的な情報がないのが現状である。現在、栄養や運動、睡眠などの生活習慣が腸内細菌、腸管免疫にどのような影響を及ぼすかについての基礎研究、さらにヒトサンプルを用いた研究を行っている(図 2-3-2)。

まず、基礎研究の成果を紹介する。有田誠先生との共同研究では「油」に着目している。従来は油の摂り過ぎがよくないと量で議論されるが、私たちは脂肪酸組成の違いにより免疫応答が変化することを報告している。例えば亜麻仁油は α リノレン酸という ω 3型の脂肪酸を非常に多く含むことを特徴とする。通常、マウスの餌には大豆由来の油が4%含まれるが、代わりに4%の亜麻仁油を含む餌を与えると、マウス腸管組織において α リノレン酸が非常に増え、とくに免疫系細胞が存在する絨毛組織に集積している像が観察される。この α リノレン酸については、体内において EPA や DHA などの健康に有用な代謝物が産生されることが知られているが、リポミクス解析の結果からは EPA よりアレルギー反応を抑える代謝物が産生されることを明らかにしている。これは食餌による生体影響、とくに食餌と免疫の相互作用を直接的に示す結果である。さらに腸内細菌による脂質代謝への影響について、別の脂肪酸であるリノール酸は SPF マウス、Germ-free マウスともにアラキドン酸が代謝物として生成されている。しかし、Germ-free マウスでは水酸基を持つ別の代謝物が減少することから、この代謝物が腸内細菌により代謝されて生成されることもわかった。つまり、脂質代謝についても、腸内細菌とのクロストークが非常に重要であることがわかってきた(図 2-3-3)。

また、他の栄養素として、ビタミンに着目した研究も行っている。ビタミン B9、いわゆる葉酸について、竹田潔先生との共同研究から、制御性 T 細胞がビタミン B9 の受容体を持ち、受容体を介した経路が制御性 T 細胞の生存や増殖に必要であること、ビタミン B9 の欠乏が炎症性疾患の発症につながることを報告している(図 2-3-4)。

また、日本発、世界初のビタミンであるビタミン B1 については、IgA という抗体を産生する腸管細胞の分化に伴い、ビタミン B1 の依存性が変化することを報告している。パイエル板という組織には IgA 産生細胞の基となるナイーブ B 細胞が存在するが、ビタミン B1 を欠乏するとパイエル板が非常に小さくなり、ナイーブ B 細胞も減少する。しかし腸管の絨毛組織に存在する IgA 産生細胞では、ビタミン B1 を欠乏させても変化が見られない。ただしビタミン B1 は ATP を産生する主要経路であるクエン酸回路に必須であるが、IgA 産生細胞の分化に伴ってクエン酸回路から解糖系にシフトすることが知られている。つまり解糖系へのシフトにより、クエン酸を使わずに ATP を産生することはビタミン B1 の依存性と相関していることがわかる(図 2-3-5)。

関連する国内の研究開発動向、
今後のあるべき方向性など

ビタミン B1 はウナギや豚肉など、疲労回復効果が期待される食物に多く含まれるが、その吸収は食餌内容によっても変化する。とくにビタミン B1 は水溶性で吸収も悪く、血中からも速やかに排出されるが、ニンニクやニラに含まれるアリシンと結合したアリチアミンでは吸収促進や血中滞留性が見られ、ニンニクやニラとの摂取が推奨されている。一方、淡水魚や腸内細菌の一部にはビタミン B1 を分解する酵素チアミナーゼが含まれ、こうしたものを同時に摂取すると、ビタミン B1 欠乏症が生じる場合がある。したがってこのようなビタミン B1 の代謝や分解は、とくに腸管組織において食事や腸内細菌が担っていることがわかる (図 2-3-6)。

以上のことから、腸内細菌と生体の相互作用は非常に複雑であり、マウスを用いた基礎研究では、成分組成が十分に分かった餌を利用する、もしくは既知の腸内細菌を利用した実験システムでの解析が必要となる。腸管においては、腸内細菌と生体側は栄養素を競合して取り合う関係である一方、生体のために腸内細菌は栄養素の代謝や分解も行っている。したがって、腸内細菌に由来する代謝物がどのような働きを示すかについてはメタボローム解析や生化学的解析が、腸内細菌の機能については細菌のゲノム配列情報から機能を類推し、生成する代謝物との相関を見る必要がある。ただし特定の腸内細菌による影響を見るためには無菌マウスを用いる必要がある。我々は免疫に注目しており、腸内細菌が影響する免疫学的なフェノタイプと疾患との関連を見ているが、運動も免疫に非常に大きな影響を与えるため、マウスを走らせた場合のエネルギー代謝や免疫への影響を見ることも重要と考えている (図 2-3-7)。

このような基礎研究の成果については、ヒトとの相関を見ることが重要と考えている。ただし生活習慣やゲノムの人種差が重要とされているものの、とくに健康な日本人についての情報が少ない。しかし所属する医薬基盤・健康・栄養研究所は、健康人を対象とする研究を実施できる数少ない組織であり、特に生活習慣についても、日本食がなぜ健康にいいかなど、健康人を対象にしたコホートが可能である (図 2-3-8)。実際、我々の研究所では既に健康な人を対象にしたコホート NEXIS プログラムを走らせており、東京において約 1,000 名を対象にした研究を進めている。これは、単純に健康な人の便を集めただけでなく、GWAS などの遺伝子多型、BDHQ (簡易型自記式食事歴法質問票) を用いた食事から摂取される栄養素などの生活習慣、さらには身体活動や運動機能などの生理指標を揃えた非常にクオリティの高いデータベースとなっている。現在、ここに腸内細菌を初めとする腸管微生物、さらに測定した免疫指標をまとめたデータベースを整備するプログラムを走らせている (図 2-3-9)。

現状では健康な人の情報が整備されていないため、今後の各種疾患患者との比較において、健康な人の情報整備は非常に有益となっていく。また、疾患患者との比較が可能となれば、具体的な指標も得られてくる。健康と思っていても、実際に健康な場合と病気発症に近い場合があり、発症未満の人に食事や運動など生活習慣の介入試験を実施することで、腸内細菌や各種疾患発症との相関も見ることが可能となる。こうした研究から得られる知見は、バイオマーカーや食品、創薬、個別化医療など、健康な社会を目指すことにつながる (図 2-3-10)。

＜質疑応答＞

【大野】コホートは具体的にはどのように実施したのか。

【國澤】現在は東京だけで行っているが、東京だけでは偏ると考え、今後は関西エリアでも同じ規模、クオリティを得るためのコホートを設立すべく、近隣の市町にお願いしながら計画を立てている。また地域性の検討に、人間ドック協会にお願いし、人間ドック参加者のサンプルデータの利用も考えている。

【小安】どうやって複数情報を統合した形のデータベースを作成するのか。

【國澤】我々のインフォマティクスプロジェクトでは、インフォマティクスの水口賢司先生（医薬基盤・健康・栄養研究所）がデータベースを作成している。もともと過去10年の間に化合物による遺伝子変化についてのトキシコゲノミクスデータベースを作成し、現在拡張した形でアジュバントのメカニズムについてのデータベースを作成している。その意味で、最初に作成したデータベースをもとに、メカニズムなど様々なアウトカム、アウトプットを出しているという実績は持っている。

【大野】先生の研究所は厚生労働省傘下だが、異なる組織間でデータを取る際、同じクオリティで取れているかどうかはずっと議論されている。本分野の中でもどのように議論されるかが一番重要である。組織間での足並みが不揃いな場合はすぐにわかる。この点を何とかしてほしい。

【國澤】その点が十分解決できなければ、ただ色々なものが集まっただけで、各々が勝手に言っているだけになる。この事業が立ち上がる場合、事前にコンセンサスを固めることが大事である。

【牛島】我々も厚生労働省傘下だが、なかなか責任が明確な体制にはならない。研究プログラムも同じであり、結果により適切な対応を取っていかないとうまくいかない。さらに個々人のメリットと仕組みを合わせる必要がある。

【坂田】民間での活用についてのルールづくりをきちっとしないと、いつまでも民間を除外していたらイノベーションは起こらない。

【牛島】データベースを作成した段階で評価しても意味がなく、いかに活用されたかを評価しないとイケない。

【國澤】先ほどのトキシコゲノミクスデータベースをオープンにした際、実は日本人よりも中国、韓国からの利用者が非常に多かった。先ほどのルールづくりでもあったが、どこまでオープンにし、どこまでクローズにするか、オープンにする際にどこの人を対象にするかという点もきちんと決めないとイケない。

【本田】健康な人のデータベースは非常に重要だが、対象は年齢を含め、できるだけ幅広くするのか、ただ来た人を受け入れているだけなのか。

【國澤】年齢については18歳から70歳までを集めている。また健康の定義が非常に難しく、現在参加されている多くの方は高脂血症や高血圧のどちらか1つは自覚しなくても患っている。したがって、当然データには含めるが、どちらか一方を持つところまでは健康として進めている。男女比についても、平日来てもらうことが多く、6割から6割5分ぐらいが女性とどうしてもなる。年齢層はなるべく幅広くとろうとはしている。

【本田】どのぐらいのスパンで追いかけるのか。

【國澤】既に 5 年以上動き、現在も関係するデータを全てフォローアップしている。

【本田】毎年 1 回来てもらうのか。

【國澤】その通りで、糞便サンプルは週に 7 人から 10 人ほどのサンプルが送られてくる。

【野本】亜麻仁油のリノレン酸が Germ-free マウスにおいて代謝が悪いということについて、具体的な腸内細菌側の説明は進んでいるか。

【國澤】今まさに進めており、亜麻仁油で飼育した際にアレルギーが抑制できることから、有田先生との共同研究によりアレルギーを抑制するメタボライトを見つけている。一方、腸内細菌の変化による影響についても、特定の腸内細菌をマウスに移植し変化が見られるか、さらに無菌マウスに異なる油が含まれる餌を与えた際にどのような代謝物が出てくるか、腸内細菌が代謝のパスウェイにどう関与するか、今まさに進めているところである。

【野本】今のメタボロジェノミクス研究が仮説想像型であることを非常に興味深く考えている。網羅的研究から突出したものが出れば、そこから問題が出てくる。一方、問題解決型とバイオインフォマティクスを考えた場合、バイオインフォマティクスからこういう課題を抽出できるかどうか気になるが、どうか。

【國澤】例えばメタボロームを見つける際、現在はノンターゲットでいろいろ見つけようと進めているが、実際にはなかなか難しい。ただし、現在でもこれほどインフォマティクス技術が進歩し、解析もできているので、両方のアプローチを走らせておく必要があると考える。



図 2-3-1

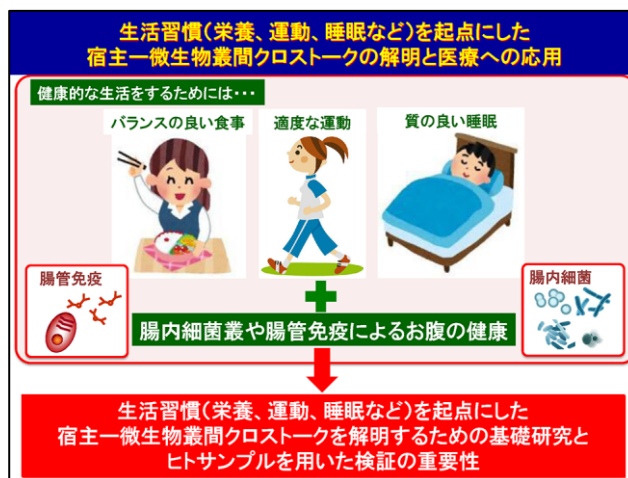


図 2-3-2

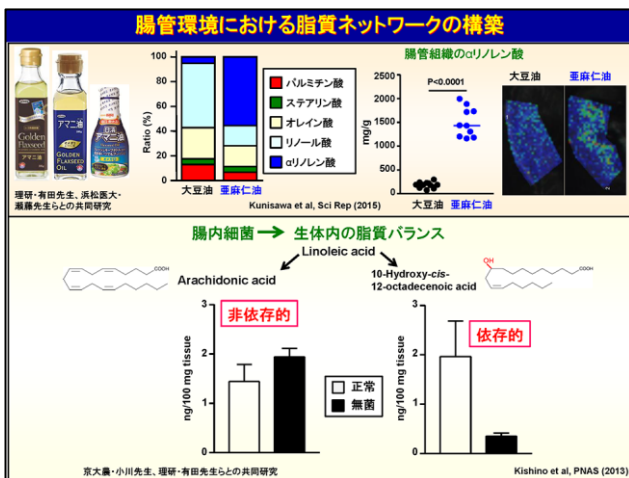


图 2-3-3

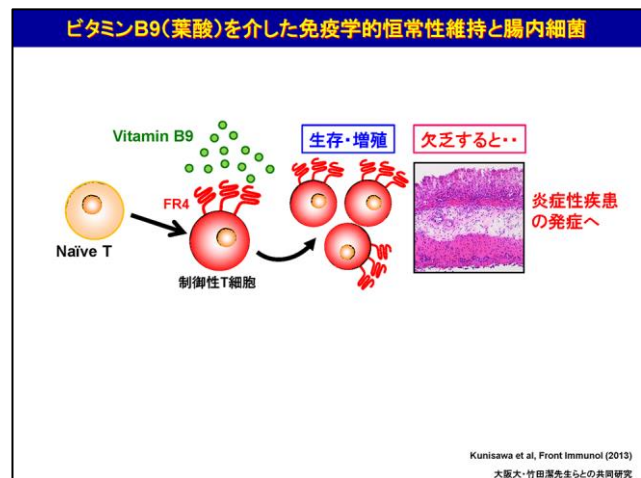


图 2-3-4

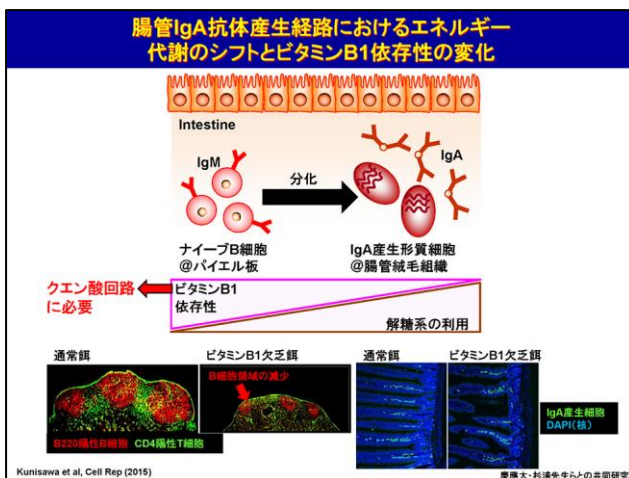


图 2-3-5

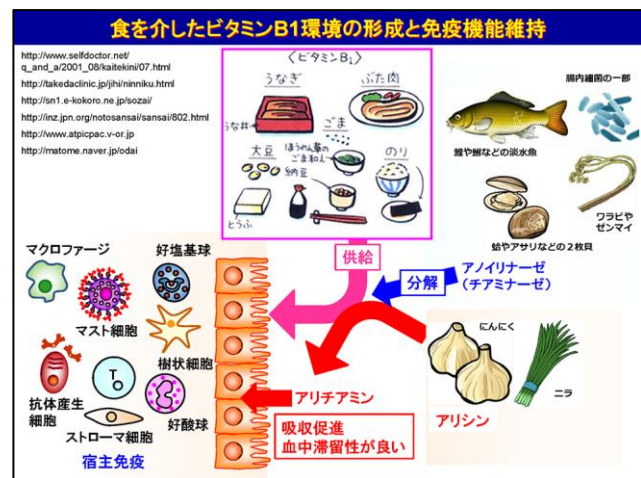


图 2-3-6

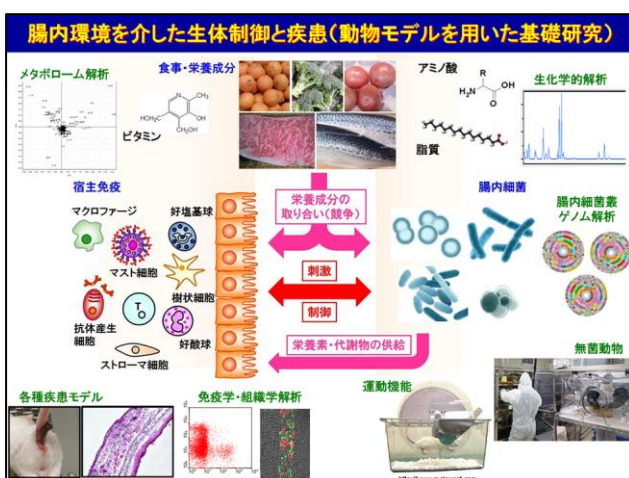


图 2-3-7

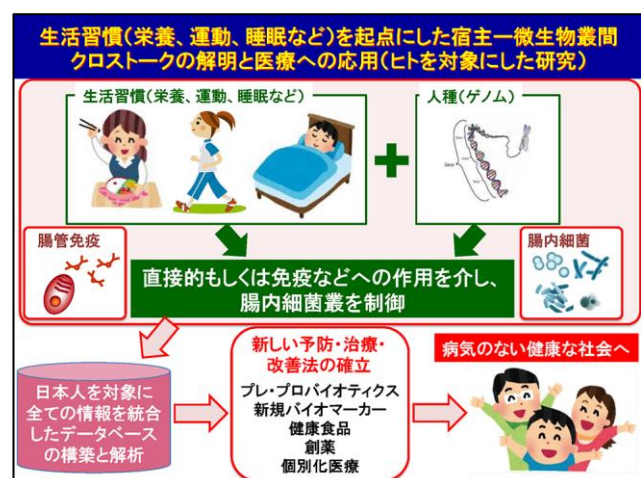


图 2-3-8

関連する国内の研究開発動向、今後のあるべき方向性など

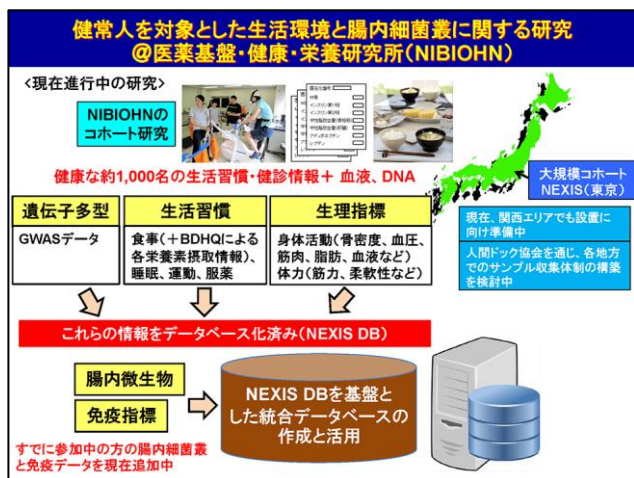


図 2-3-9



図 2-3-10

2.4 「エピゲノムと微生物叢研究」

牛島 俊和(国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野 分野長)

<発表概要>

近年の早期胃がんは、患部を内視鏡で切除する治療が主である。しかし、切除後の約 2.5% の患者は別の胃がんが再発する。人によって再発率は様々であり、我々はこの差が何に起因するかについて研究したところ、胃の粘膜に蓄積している DNA メチル化異常の程度差が要因であることがわかってきた (図 2-4-3)。ここまではよくある横断研究であるが、我々はそのメカニスティックな理解、そして臨床応用を視野に入れたトランスレーショナル研究を実施した。

メカニスティックには、ヘリコバクターピロリが胃がんの原因となる理由として、菌自体の存在が悪いのか、菌と宿主の接触の結果引き起こる炎症が悪いのかを検証した。免疫抑制剤を投与し、ピロリ菌存在下でも炎症を抑えるとメチル化異常が起こらなかった。つまり、ピロリ菌自体ではなく、感染によって生じる炎症が原因であることがわかった (図 2-4-4)。

トランスレーショナル研究として、826 人を 5 年間追跡する多施設共同の前向き研究を行った。その結果、世界で初めてエピゲノム解析からがんへのなり易さを判断可能だと証明した。追跡開始時点で胃粘膜のメチル化の程度を測定し、メチル化の程度が低い人に比べ、高い人は 2.5 倍の確率で胃がんを再発した。つまり、エピゲノムを調べることで将来の病気を予想可能であることを明らかにした (図 2-4-5)。

以上をまとめると、ピロリ菌感染によって慢性炎症が起き、正常に見える胃の粘膜にメチル化の異常が蓄積し、この異常の測定によってがん発生率がわかるということである。これは「Precision cancer risk diagnosis」に使用でき、その理由としては DNA メチル化が過去の生活状態の履歴として刻まれているためである (図 2-4-6)。

次に、大腸について述べる。デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を投与して大腸炎を引き起こさせたマウスの大腸のエピゲノムを調べた。先ほどの胃では DNA のメチル化について述べたが、大腸では DNA のヒストン修飾について述べたい。ヒストン修飾はより簡単に变化するが、ヒストン修飾の一部は変化後安定に残る。そのようなヒストン修飾として H3K27 トリメチルが注目されており、今回は、潰瘍性大腸炎モデルで調べた (図 2-4-8)。その結果、加齢で多少の変化はあるが、炎症に曝露すると顕著に変化する遺伝子を多々確認した。さらに、変化する時期は、DNA メチル化は炎症に曝露してから長時間を経ってから変化するが、H3K27 トリメチルは曝露して 2 週間後には変化していた。このことから、DNA メチル化よりも、H3K27 トリメチルを調べれば、より早くエピゲノム変化の有無を判断可能といえる (図 2-4-9)。

以上より、H3K27 トリメチルは早期に変化が生じ、今回はデータを示さないが、炎症が落ち着いてからも残るため履歴として長期記憶にもなる。そして、将来的には DNA メチル化に返還され、二度と戻らない変化となるゲノム領域もあり、がんの発生や他の病気の発症に関連するとわかってきた (図 2-4-10)。

この際、マイクロバイオーームによる刺激が起因となり、これらの経路が生じる可能性が考えられた。そこで、実際にマイクロバイオーームが関係するのかを、大雑把な実験ではあ

るが、我々だけで可能な研究として実施した。はじめに、抗生剤を投与することで腸内細菌叢を大幅に変え、その状態での腫瘍のつき方、DNA のメチル化、マイクロバイオーームを解析し、エピゲノム変化との関係を調べた（図 2-4-12）。まず、腫瘍を比較すると、通常はボコボコとできるが、抗生物質で処理するとほぼ平坦で何もできない。その面積と腫瘍数を比較すると、明らかな差が示された（図 2-4-13）。次に、この結果とエピゲノム変化の関連性を大腸粘膜のメチル化で調べたところ、抗生物質処理によって大腸粘膜メチル化レベルが低下した。以上より、マイクロバイオーームの変化とエピゲノム変化は関連しており、その結果から腫瘍が出なくなったと推測された（図 2-4-14）。腸内細菌叢を 16SrRNA を用いて解析したところ（明治との共同研究）、一部の菌種が若干変化していた。ただし、これが原因か結果かは判断できない（実験は中断）。

最後になるが、マイクロバイオーームによって様々なことが起こる。例えば、私たちが胃、大腸で証明したような組織損傷を起こし、炎症となる。その炎症によって生じる特定のサイトカイン（IL-1β、TNF、活性酸素など）の発現はメチル化異常と相関している。つまり、マイクロバイオーームが起因となり、特定のタイプの炎症が誘発され、上皮細胞ではヒストン修飾変化、DNA メチル化変化が誘発され、蓄積することで、がんなどの発症に関係していると考えられる。また、炎症とは別に、本田先生達が証明した、特定の細菌種による免疫細胞でのエピゲノム変化（K27、アセチル化、DNA メチル化の変化）も生じると考えられる（図 2-4-15）。

さらに、マイクロバイオーームに関連した代謝産物が全身を巡り、影響することが非常に重要だという議論があったが、その代謝物によって良くも悪くも教育された免疫細胞が全身を巡る影響も非常に重要だと想像する。

マイクロバイオーームによる炎症、その結果として上皮、免疫系、ファibroblastなどでのエピゲノムの変化へと広範に広がり、それが履歴として残っていくことは、ヒトの健康を考えていく上で非常に重要だといえる。

エピゲノム研究は、国際ヒトエピゲノムコンソーシアムにおいて、慶応大 金井先生が消化器、東大 油谷先生が肝臓、東大 白髭先生が血管、九大 佐々木先生が胎盤と子宮の解析を日本では担当し、概ね完了している。消化管は非常にマイクロバイオーームと関連しているが、そのエピゲノム情報が既にある。世界では欧米のグループによる解析が進み、血球系、免疫系の細胞、例えば同じ Th17 の教育有無の差による差、などの情報がすでに実用可能な段階である。また、解析費用も非常に安くなってきている。

これらを踏まえた社会への還元として、未病先制医療への利用が考えられる。腸内や胃の細菌叢の変化による上皮細胞の傷害はエピゲノム変化として刻まれるので、その測定によって危険度を評価可能である。

一方で、発症後でも、エピゲノム調整による疾患の緩和も有効な可能性がある。しかし、マイクロバイオーームやそれによる炎症がエピゲノム変化を誘発する分子レベルでの仕組みが現状ではわかっていない。そこで、我々の研究室では、世界で余り研究されていないが、重要といえることから、一番上の研究課題に位置づけている。

エピゲノム異常の蓄積は、疾患の発症をエンドポイントにするよりもはるか早期に、また、正確に測定可能である。従って、n 数が少なくても要因の影響を評価可能なため、活用してもらいたい。

国際競争力については、日本の高品質な検体（医者の正確な作業、病歴のついた検体）や、内視鏡技術、工学技術が非常によい。また、手先の器用な研究者たちを活用し、小規模なラボでも大きなプロジェクトに参画できるようなシステムをうまく構築していくことで強みになるかもしれない（図 2-4-16）。

<質疑応答>

【大野】国際ヒトエピゲノムプロジェクトのサンプル対象者の基準は何か。

【牛島】標準エピゲノムなので、正常と思われる人の少数が完了した段階である。例えば、金井先生は老若男女が各 1 人ずつで、なるべく病気ではないと思われる肝臓、胃と大腸に関してである。そして、肝臓の幹細胞に加えて、クッパー細胞や類洞内皮細胞、大腸では左右結腸と直腸などの様々な場所に関して 4 検体ずつの解析が完了している。マイクロバイオーム、疾患によってどのようにエピゲノムが変異するかは今後の話である。

【小安】エピゲノム解析ではどの程度の細胞粒度の分解能が求められているか。

【牛島】がんのヘテロジェニティなどでは 1 細胞レベルが必要だが、疾患のリスク予測であれば、「全体としてこのくらい変わっている」というほうが疾患の発症危険度とは関連すると考える。

【小安】解析はバイオブシーでなければならないか。

【牛島】現状はバイオブシーや切除標本などの新鮮材料だが、将来的には変わるかもしれない。例えば、胃の洗浄液に興味を持っている研究者がいる。また、エピゲノムが細胞の種類ごとに異なることから、疾患の前駆細胞のエピゲノムを反映した採取方法になっているかは、かなり深く考えなければいけない。洗浄液だと表面で落ちてくる細胞のエピゲノムを見ることになり、バイオブシーだと粘膜深部にいる幹細胞も入ることになる。どのような状態が最適かは未解決である。

【小安】これからの研究開発の方向として、きちんと議論し、意見が一致した方法でデータを取らないと、議論が収束しない。

【牛島】同意見である。特に、標準エピゲノムのような、ヒストン 6 種類、DNA メチル化を 1 塩基レベルで解析するような、大規模かつ高コストなプロジェクトでは、よく相談し、標準化した方法でやらないといけない。国際ヒトエピゲノムコンソーシアムでは標準化を行った。一方で、疾患研究であれば、特定ゲノム領域周辺へある程度の低解像度でアプローチするアバウトな方法を用いている。その代わり、病気との関係が明確に示せるだけの n 数を解析できる。

【本田】マイクロバイオーム曝露の履歴を確認できることは非常に重要であるが、ターンオーバーの激しい大腸や腸管の上皮細胞では、履歴が残っている細胞が次々に死細胞となり、はがれていくが、曝露の履歴はステムセルレベルで蓄積していくと考えられるか。具体的な事例やデータはあるか。

【牛島】実際に起こっていると思う。胃の除菌後、ヒトでは何年経っても履歴が残っており、マウスでも 1 年ぐらいは残っている。

【本田】それは、「がん」につながると悪い意味になるが、ある意味でのアダプテーションであり、環境に合う形へステムセルを少し変えていくような感覚で捉えていいのか。

【牛島】その考え方はもちろん重要である。従って、良いことと悪いことの両方が起こっているという視点が必要である。

【本田】実際に腸内での曝露履歴を解析可能な状況にあるのか。

【牛島】技術はできてきたが、病歴情報を含めた検体を持っている研究者もいれば、持っていない場合もある状況だ。

【大野】例えば、ヘリコバクターの場合、炎症が重度であれば胃の上皮幹細胞に履歴が残るなどだったと記憶するが、どうか。

【牛島】重度の炎症では幹細胞に履歴が残る可能性もある。

【大野】炎症時にはエピゲノムが変化するが、軽度の炎症では、治癒後にエピゲノム変化は消えるか。

【牛島】幹細胞は変化が入りにくいが、入れば永久に残る。

【大野】幹細胞に残ったエピゲノム変化が蓄積しているほうが発症しやすいということか。

【牛島】そうである。

【大野】胃の除菌をしても履歴は残るため、併せて確認したほうがよいとあったが、解析してたくさんエピゲノム変化を確認した場合、どのように疾患を予防すべきか。

【牛島】エピゲノム変化を戻すには、現状では、MDSに使っているDNA脱メチル化アザシチジンが利用可能である。しかし、本剤により胃粘膜は脱メチル化されるが、他の臓器に副作用（毒性）がある。つまり、現状の技術では、副作用がなく、既に幹細胞に溜まってしまったDNAメチル化異常を取り除くことは難しいので、技術開発が必要である。

現状の技術でも簡単にアプローチできるのは、エピゲノム異常が起きる段階を抑えることだ。マイクロバイオームの菌種を変える方法や、同じマイクロバイオームでも食品で介入し、環境を整えることでエピゲノム異常の誘発を抑えるという可能性もある。

【大野】同じピロリ菌でも、状況によってエピゲノム変化の蓄積度が変わる。その違いは何か。宿主側、ピロリ側、あるいはピロリ＋何か別のマイクロバイオームがいるからなど、どの程度わかっているのか。

【牛島】両方あると思う。例えば、宿主のIL-18多型で胃がん感受性が異なることが知られている。IL-18多型により胃がんのメチル化状態が異なり、胃粘膜のメチル化レベルも異なる可能性がある。つまり、宿主の多型がエピゲノム変化の蓄積に影響している。また、ピロリ側のCagA多型で炎症の程度が異なるので、メチル化の程度も恐らく違っていると考えられる。



図 2-4-1

1. Aberrant DNA methylation induced by *H. pylori* infection, and its clinical impact
2. Induction of H3K27me3 alterations by colonic inflammation
3. Impact of colonic microbiome on the epigenome of colonic epithelial cells

図 2-4-2

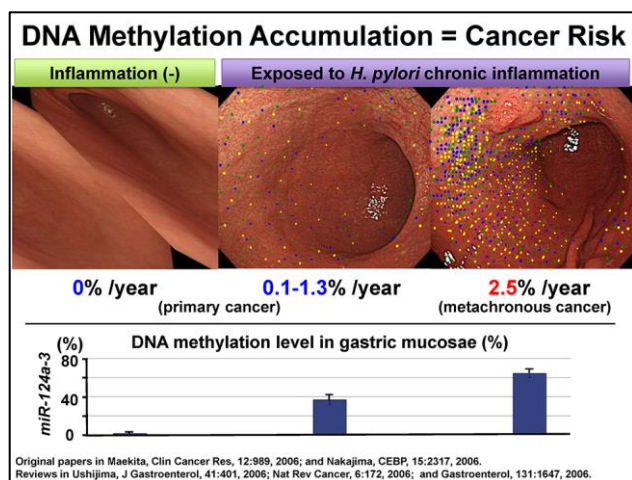


図 2-4-3

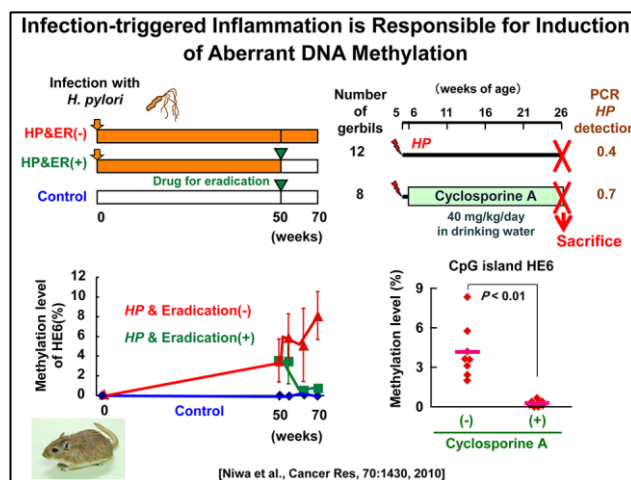


図 2-4-4

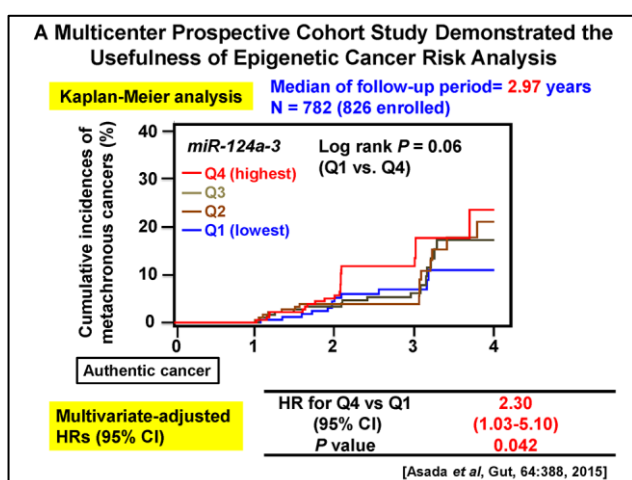


図 2-4-5

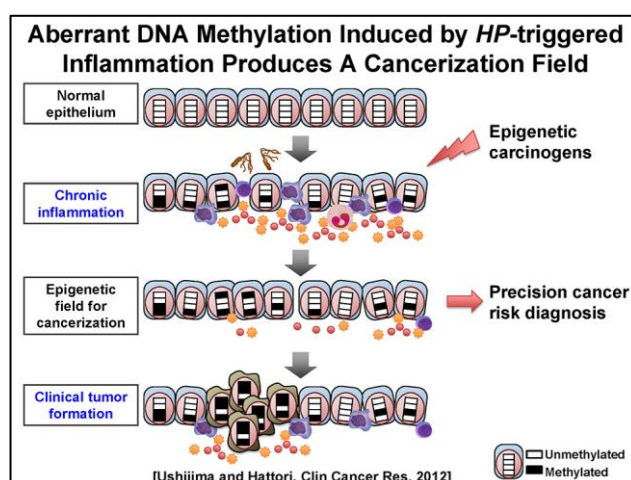


図 2-4-6

1. Aberrant DNA methylation induced by *H. pylori* infection, and its clinical impact
2. Induction of H3K27me3 alterations by colonic inflammation
3. Impact of colonic microbiome on the epigenome of colonic epithelial cells

図 2-4-7

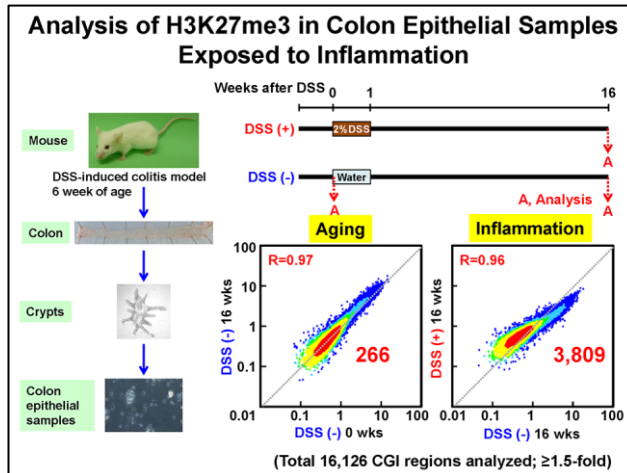


図 2-4-8

Early Induction of Aberrant H3K27me3 by DSS-induced Colitis, and Its Persistence

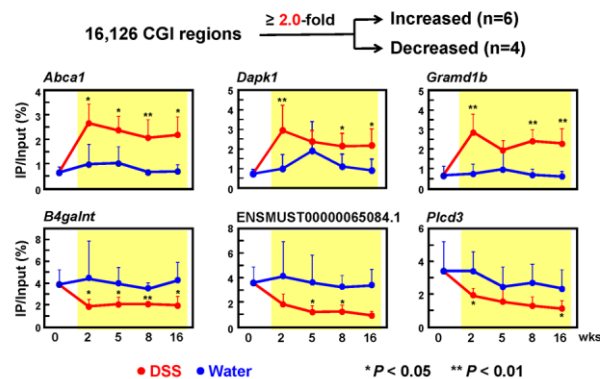


図 2-4-9

The Formation of Epigenetic Field for Cancerization by Gain and Loss of H3K27me3

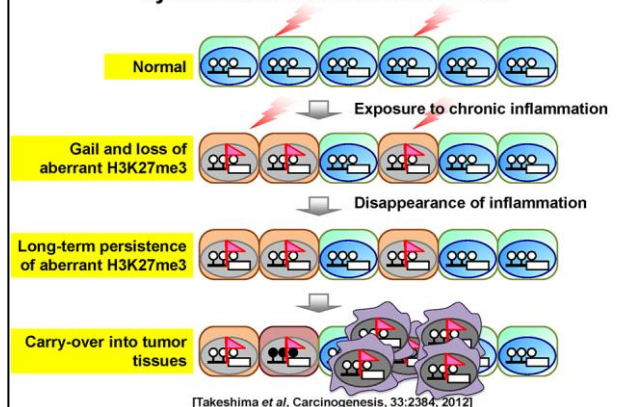


図 2-4-10

1. Aberrant DNA methylation induced by *H. pylori* infection, and its clinical impact
2. Induction of H3K27me3 alterations by colonic inflammation
3. Impact of colonic microbiome on the epigenome of colonic epithelial cells

図 2-4-11

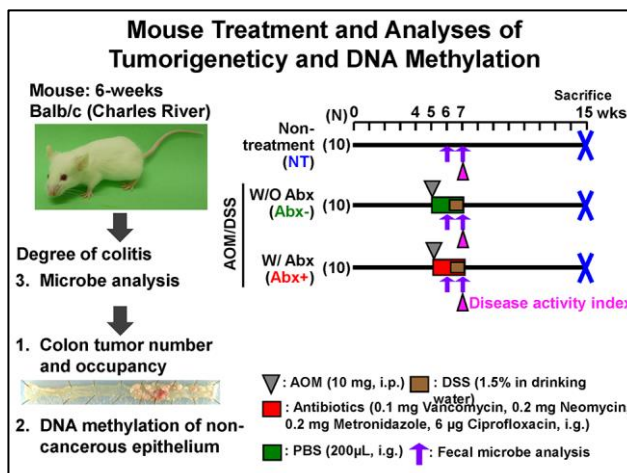


図 2-4-12

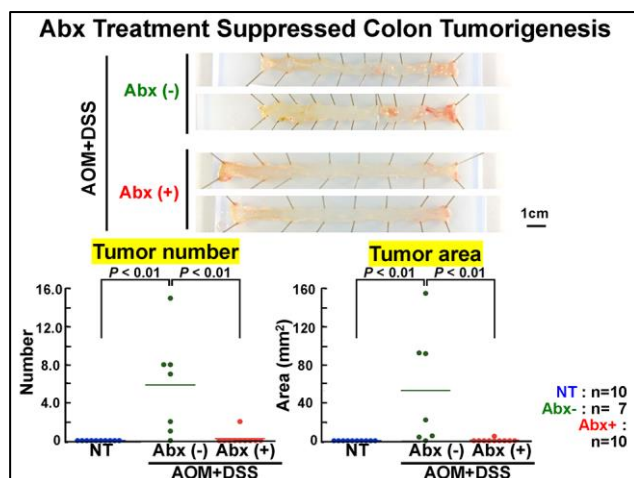


図 2-4-13

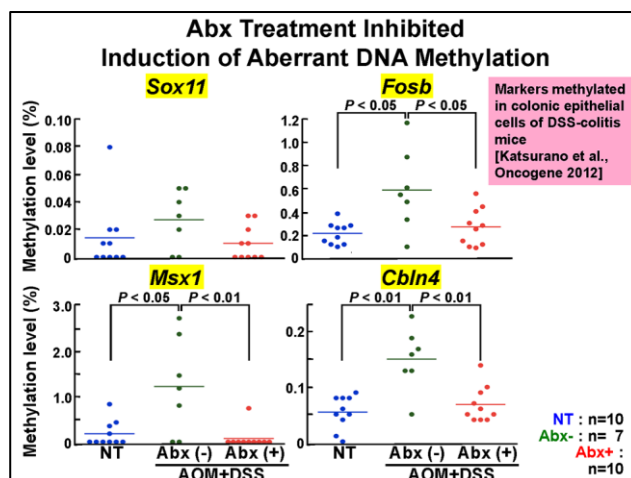


図 2-4-14

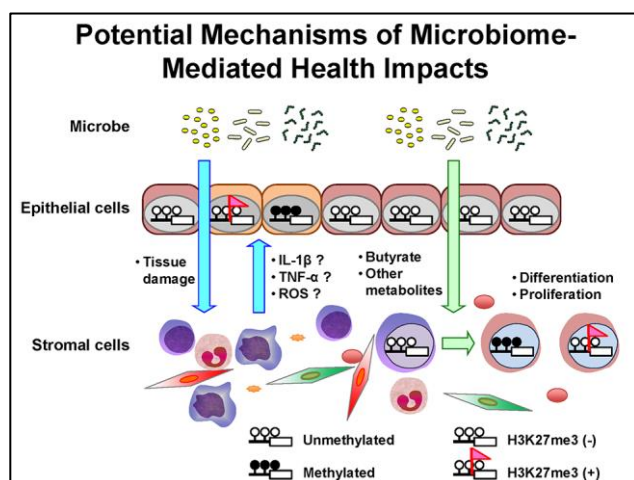


図 2-4-15

1. 「研究動向」に関し、特に注目すべき国内外の動向とは何か。

- 国際ヒトエビゲノムの多数解析完了 (日本は、消化管・肝臓・血管・胎盤・子宮)
- 血球系のエビゲノム解析は特に重点的になされている
- エビゲノム解析の低価格化

2. 当該研究動向に関する研究や技術開発の進展が (たとえば今後10年間~50年間の間に) 社会的・経済的に与えるインパクトや、その結果実現し得る将来の社会像とは何か。(生命科学分野以外への波及効果も含む)

3. 研究領域存続期間 (8年間) 中に達成すべき研究・技術開発目標とは何か。

4. 具体的な研究課題例は何か。

- Microbiomeが細胞の長期記憶の変化させる分子機構の解明と介入原理の確立
- 疾患発症よりも早期・高信頼度のマーカーとしてのエビゲノム変化の確立

5. 「研究動向」に関し、学術的に未開拓な研究領域は何か。

- Microbiomeが細胞の長期記憶の変化させる分子機構

6. 国際的に競争力を発揮するためには・

- 高品質の検体 (例えば、疾患発症前の材料、高度内視鏡技術、高品質メタデータ)
- 強い分野 (工学・光学など) との融合
- 小規模研究者ネットワークの活用

Microbiome曝露の履歴

図 2-4-16

2.5 「微生物のゲノム解析」

服部 正平(早稲田大学 理工学術院 教授)

<発表概要>

微生物のゲノム解析として、麹菌、世界初の昆虫共生細菌、世界最小の細菌ゲノム、大村先生のエバメクチンを産生する放線菌のゲノム解析、など 600 株以上の様々な微生物のシーケンスを実施してきた (図 2-5-1)。

2003 年に大野先生、和田先生、榊先生、光岡先生と議論したときから、ゲノム科学的に腸内細菌を実施しなければならないと感じた。2005 年からゲノム特定領域の「基盤ゲノム」が 5 年間始まり、その中で黒川先生と一緒に研究し、ヒトゲノムプロジェクトの様に国際的に実施すべきとしてフランスのゲノム研究者に話したところ、2005 年 10 月にパリで初めてワークショップが開催され、70 名ほどが集まった。その時に、我々以外にも実はアメリカなどで微生物ゲノムが始まっていること知った。2006 年にアメリカのチームは 2 人だけの腸内細菌叢のメタゲノムデータで「Science」に先んじて報告し、その後、2007 年にアメリカが NIH 主催で HMP 国際会議を行った。我々は先を越されたが、そのすぐ後に世界で 2 番目の論文として、13 人の腸内細菌叢のメタゲノムデータを報告し、約 70 万の遺伝子を見つけ、世界最大の遺伝子数だと騒がれた。その後、2007 年 12 月に国際コンソーシアム (IHMC) が、2008 年には欧州 MetaHIT が立ち上がった。日本では研究費がつかない状況が続き、今に至っている (図 2-5-2)。

我々のグループは、NGS を用いてマイクロバイオームのデータ解析を実施している。大きく分けて 3 つ、①糞便中の細菌 DNA から 16SrRNA 遺伝子ファイルを作成し菌種を特定、②メタゲノム解析による遺伝子同定、③糞便や様々な物からのヒト分離菌株の個別ゲノム解析によるリファレンスゲノムデータベース構築、を行っている。リファレンスデータベースの拡充は非常に重要である。このデータベースに対してメタゲノムリードを直接マッピングすることで、リードの帰属による菌種解析をする (図 2-5-3)。

メタゲノムの被験者数の多いプロジェクトを年ごとに並べたが、NGS になってからは BGI が解析したデータが多い。肥満、IBD、2 型糖尿病、大腸がん、肝硬変、関節リウマチのデータもあるが、現状では合わせても 2,000 人ぐらいしか解析データは表に出ていない。この数は多いとは必ずしも言えない (図 2-5-4)。

我々は、解析した日本人約 106 人のヒト腸内細菌叢から 490 万遺伝子を同定した。他国の解析データとオーバーラップする遺伝子はわずか半分、6 カ国では 5.2% であり、全部の遺伝子を合わせると 1,000 万遺伝子以上になる。今後のデータ解析からデータはさらに増え、ヒトとは桁違いに大量の遺伝子数となっていることは明らかである (資料 2-5-5)。また、IHMC、HMP らの解析から、色々な病気との関係がわかってきた。dysbiosis は、菌叢構造が健康状態と比べて異なること (菌叢組成の変化) と、構成菌種数の減少によって判断できる (図 2-5-6)。

現在、私のラボでは色々な病気の試料を受け取り、メタゲノム解析パイプライン、16SrRNA 解析パイプラインで解析している。例えば、羊水、中耳、尿、口腔、様々な疾患の遺伝子欠損マウス、食べ物の種類、移植の追跡などを行っている。また、色々な年齢の日本人、がん治療した後で菜食主義者になったグループ、宇宙飛行士、カザフスタン人、

パプアニューギニア人の腸内細菌や唾液、健常者の皮膚マイクロバイオーム、個別ゲノム解析も行っている。さらに、環境菌もやっている。このように、日本国内の研究者に我々の技術を使ってもらうことで、我々は色々なサンプルを得ることができ、技術を逆に蓄積させて、色々な場合に備えられるようになっている。例えば、Curated 16S データベース、Curated ゲノムデータベースがある。公的データベースには多くのゴミが入っており、綺麗にしないとミスリーディングが多いので、我々はこれら手法をつくり、データクオリティを上げた。また、ウイルス、ファージなどのリファレンスを PacBio で解析するような基礎的な研究もやっている（図 2-5-7）。

解析した 563 検体（様々な疾患データを含む）を比較してみた。健常者データと各病気に対してユニフラックリストを見ると、実際にどの病気が有意に構造異常を起こしているか比較でき、その程度も条規感で調べられ、客観的に病気を横一直線に並べて見ることもできる。この解析により、疾患が起きると糞便中で唾液由来の細菌叢の割合が増加することから、唾液中細菌叢も重要と考えはじめている（図 2-5-8）。

また、健常者のマイクロバイオームを調べると、他国の人と日本人で異なり、同じ国の人同士は有意に菌叢が似ていることがわかった（図 2-5-9）。さらに、疾患を加えたところ、2 型糖尿病の中国人とスウェーデン人でも、UC の日本人とスペイン人でも、同国の健常者と最も類似しており、国間の違いは健常－疾患間の違いより大きかった。このことから、我が国独自のマイクロバイオーム基盤データの取得が必須であるといえる（図 2-5-10）。

一方で、国間にはプロトコールの違いもある。例えば、シーケンサー、便の保存法、DNA 抽出法などが異なっていたので、これらのプロトコールの影響を調べた。その結果、サンプル間の菌叢差の方が明らかに大きく、プロトコールによる影響は小さいことがわかった（図 2-5-11）。

次に、メタトランスクリプトームについての結果を示す。実際に、同一糞便サンプルでメタゲノムとメタトランスクリプトームを解析したところ、菌種組成解析では、相関係数 0.74 と使用可能範囲であった。一方、遺伝子組成を発現で見ると相関係数 0.34 と低いことから、各遺伝子の発現量が均一ではないことが示された。つまり、メタトランスクリプトームは各遺伝子発現解析に使えるといえる（図 2-5-12）。

今後想定される研究開発テーマとしては、日本人の健常者および各種疾患の常在菌ゲノムを集める必要がある。現状、ヒト常在菌として 7,000 株ほどのリファレンスゲノムがあるが、大部分が外国人由来のため、日本人由来の菌叢を解析すべきだと思う。これは、同じ菌種でも日本人由来菌には日本人特有の、トランスポゾン由来ではない、独自ゲノム配列が含まれる場合があり、それをしっかり確認できる。それは日本人特有の機能の解明などにつながる。

それから、技術開発として、プロトコールの統一（メタゲノムだとかトランスクリプトームの収集・解析法、ヒト試料の収集、搬送、保存、サンプル数増加も想定した DNA・RNA 抽出の自動化）、さらに、メタデータとの相関解析などが多量になるため、高度化した情報学、統計学の開発も必要になっていくと考える。

また、マウス腸内細菌叢のリファレンスゲノムベースの作成が必要である。マウス由来のサンプルを沢山受け取るが、リファレンスゲノムベースがない。そのため、16SrRNA 解析では半分ぐらいが未知となっている。そのため、少なくともマウス由来の個別ゲノム

1,000 菌種ぐらいを集めれば、実験データ結果を正確に解釈できるのではないかと思う（図 2-5-13）。

これらを実現させるには、リソース整備、シーケンスを実施し、情報解析を行うような、ヒトゲノムと同じチーム様式で行うことが良い。こういうチームを基盤情報研究として、色々な機能研究とドッキング、コンタクト、最後には出口の応用機能へと、色々な形で基盤データを使う、多分野の研究者が入ってくることが大事だろうといえる。私としては IHMC と密にコンタクトを取り、データや技術の共有および国際貢献において、できるだけ日本の技術が浸透するような立場にいたいと思っている（図 2-5-14,15）。

そして、2015 年 1 月にオバマ大統領が発表した PMI では、100 万人コホートで集めるデータにマイクロバイオームやメタボロームも入っており、多角的に多数データを解析することで疾患や健康状態をより正確に把握し、より精度の高い治療法や投薬につなげるという意識がここにあると思う（図 2-5-16）。

社会還元としては、マイクロバイオームが人の役に立つと言える。様々な病気を治す用途として、例えば低副作用の治療や便移植がある。また、便や唾液を用いた非侵襲的な診断もある。メタゲノム技術は当然のことながら人を取り巻くさまざまな環境、衣食住、そういう環境バイオームの評価などに十分活用可能であり、そういった使途も増加している。

以上より、最終的には、ヒトを取り巻くマイクロバイオームの活用によって、健康長寿と安心・安全な社会創成を目指すことになる（図 2-5-17,18）。

<質疑応答>

【有田】メタボロームと何を多層で比較するのだが、今の話だとメタゲノムとメタトランスクリプトームは必ずしも一致しないと考えたほうがいいか。

【服部】一致しない。発現の強弱が遺伝子によって違うためで、代謝物はメタトランスクリプトームのほうが相関が出ると思う。

【有田】そうすると、トランスクリプトームの情報をさらに強化すべきか。

【服部】必要性がある。判断できないのは、遺伝子コピー数と発現量がどれぐらい異なっているか。ヒトの細胞はほとんどコピー数が変わらないが、微生物は菌種によって増え方も異なり、遺伝子発現量も異なる、そこを考慮しなければいけない。ただし、今の話だと、転写のほうが代謝物と相関が高いのではないかと思う。

【辻】プロトコールの影響は思ったより小さいのか。

【服部】相対的に小さい。要するに、我々個人間の違いよりも小さかった。

【辻】今後のプロジェクトを考える場合、プロトコールの統一はそれでもきちんと考えて実施する必要があるか。

【服部】必要はある。ただし、国際的に統一するのは難しい。最低限どういう結果が欲しいか、その結果がプロトコールのばらつきに対してどのぐらい影響があるかを見ながら、プロトコールの幅をどこまで許せるかというところである。

【辻】国際的な合意観みたいなのはるか。

【服部】合意はない。我々が開発して「これを使え」と伝えても、圧倒的に差があれば従うが、早いほうが間違っている場合もある。そのため、どこまで許せるかの範囲が大事である。

【大野】国間と言っていたが、似ている日本人の中でも、プロトコールによる差より、個人間の差の方が大きいのか。

【服部】それはまだ百数十人ではわからない。例えば、北海道とか地域に分けたり、年齢で分けたりすることで見えるかもしれないため、人数の問題である。

【大野】プロトコールの違いとして、例えば酵素法よりも時間の短いビーズ法の方がファームキ्यूティス属細菌は圧倒的に少なくなる。これよりも国間のほうが差は大きいということか。

【服部】その通り。ビーズ法など色々やった中でばらつきを比較した。その幅より国間の幅のほうが圧倒的に大きかった。

【本田】多種の病気を解析しているが、経験上どういう病気が一番影響を与えるといった感覚みたいなものはあるか。

【服部】まだサンプル数が少なく、明確ではないが、傾向が確認できるような数値は見られている。

【本田】ある種の疾患に対するデータを蓄積したら、他の病気も多分こう分かれるというような予測は可能か。

【服部】それよりも、このような解析から、病気特有のバクテリアを見つけたい。それは複数あると思うが、解析でパターン化されると思う。さらに、データ数が増えた時に機械学習などを使えば良い。

【本田】ランダムフォレストみたいな。

【服部】そういうものを使えば見えてくると考える。

【本田】国間の違いは何が生み出していると思うか。

【服部】データは開示できないが、食事と抗生物質が要因となることがわかっている。国が使う抗生物質の使用量によって、集団レベルで我々は曝露して、それを受け継いでいる。これはすごい相関で、抗生物質の方にほとんど影響を受けているようであり、その背景を知ることはすごく大事だと思う。病気の間の差よりも国間の差のほうが大きいということは、大変驚くべきことだった。

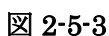
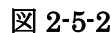
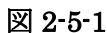
【天谷】今の国別と疾患別の違いについて、国を越えて存在する場合、その2つを比較することで、共通点がより見つけやすくなると考えるのか、それとも、国別に起因菌が違うのか。

【服部】IBDのスペイン人と日本人のデータを比較した。日本人の健常人とIBDを比べると82菌種が有意に違い、スペイン人での比較結果でも異なった菌種を探すと3菌種だけ残った。もしそれだけで良いなら、すごく簡単に決まりすぎているような気がする。そんなに簡単ではないと思っている。

【本田】菌種ではなくてメタゲノムの遺伝子の比較解析では、病気による変化の共通点はないのか。国ごとに疾患の原因菌種は異なるかもしれないが、遺伝子的には、国の違いでも共通するのではないか。

【服部】あるかもしれない。とにかく我々は違いを見つけることだけである。そこから、同じ病気だが異なる菌種が携わる可能性、菌種が違っても同じメカニズムである、などの仮説を立てながらやるしかない。

【福田】 2型糖尿病のレポートで、中国人 345 名の治験とヨーロッパ人の 145 名人の治験で、中国人で見つかったメタジェノミックファクター、いわゆるメタゲノム遺伝子セットをベースにした糖尿病型を推測類推する予測モデルを組んだ。しかし、中国人ではうまく活用できたが、見つかった遺伝子がヨーロッパ人の糖尿病患者予測には活用できず、上手くヒットしなかったという報告だった。やはり人種別、もっと言うと日本人患者のためには日本人特有の腸内環境データからの予測モデルの確立が必要かと思う。

图 2-5-4

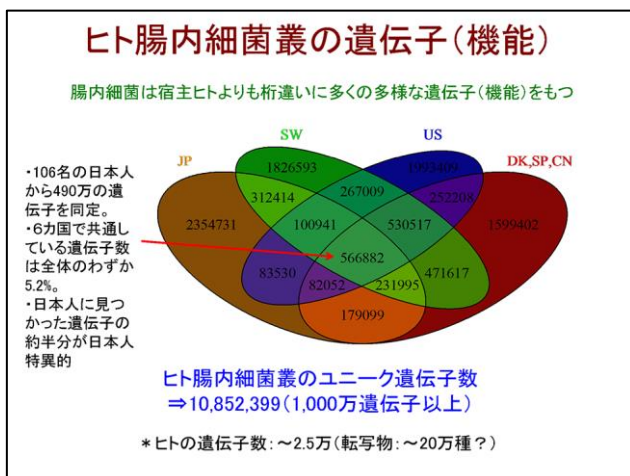


図 2-5-5

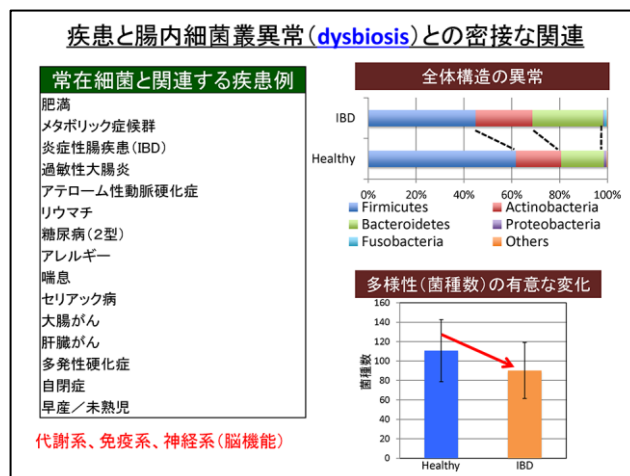


図 2-5-6

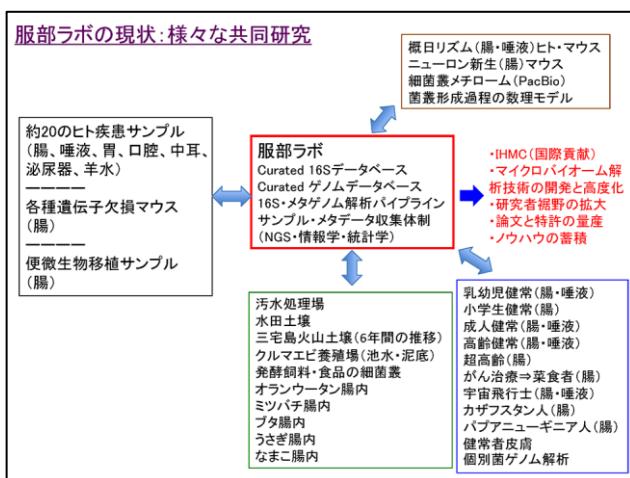


図 2-5-7

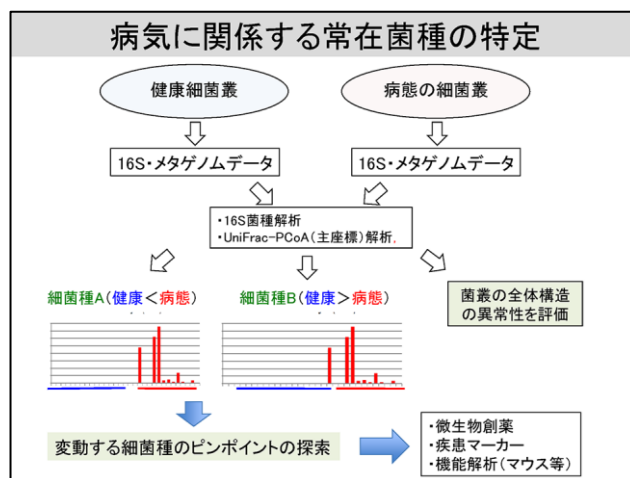


図 2-5-8

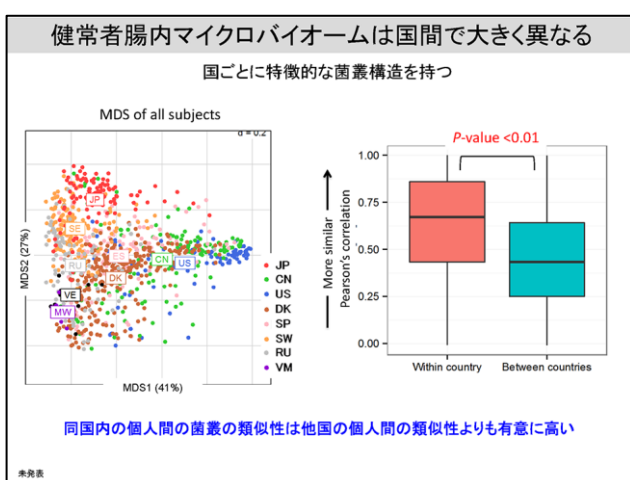


図 2-5-9

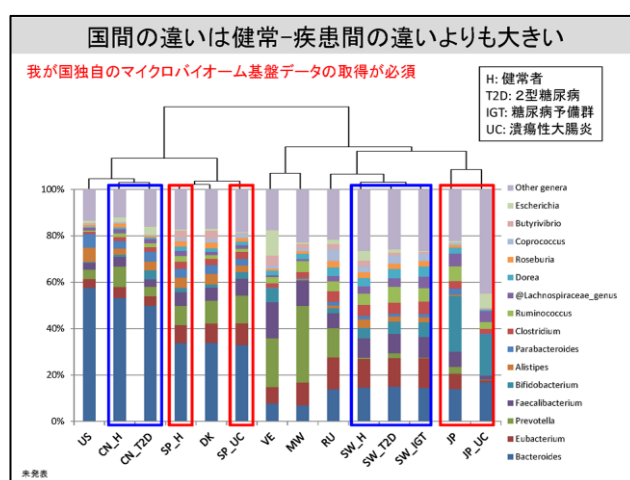


図 2-5-10

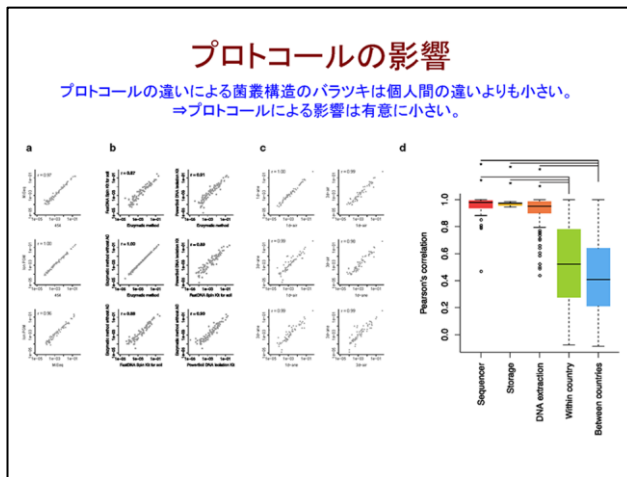


図 2-5-11

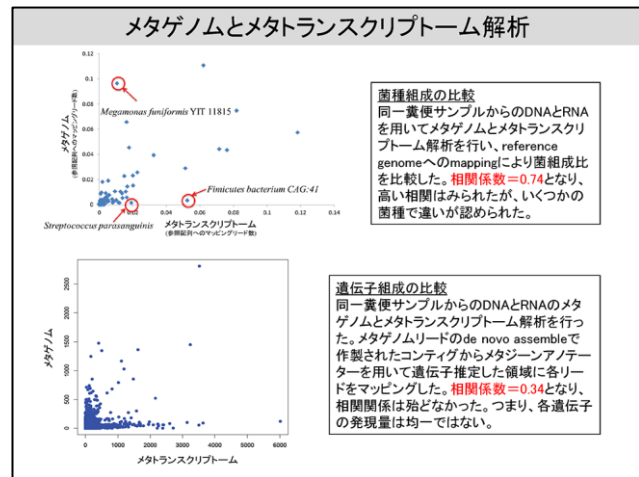


図 2-5-12

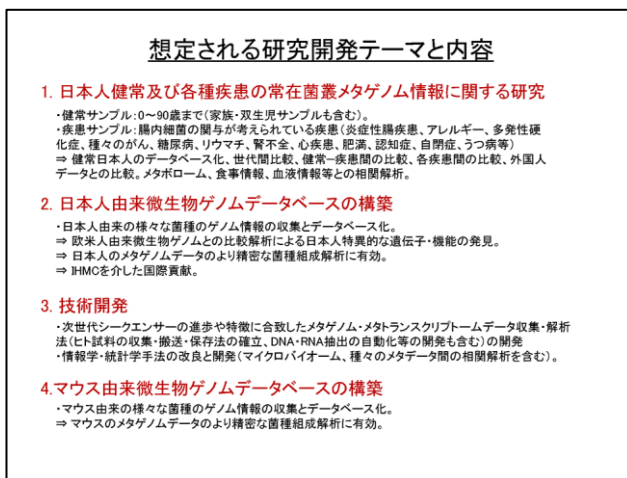


図 2-5-13

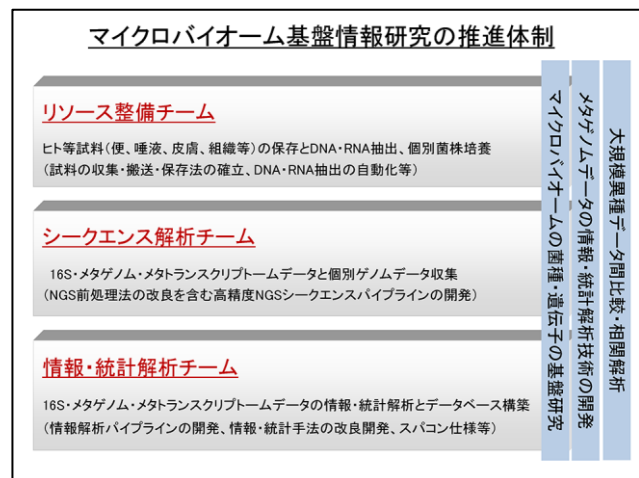


図 2-5-14

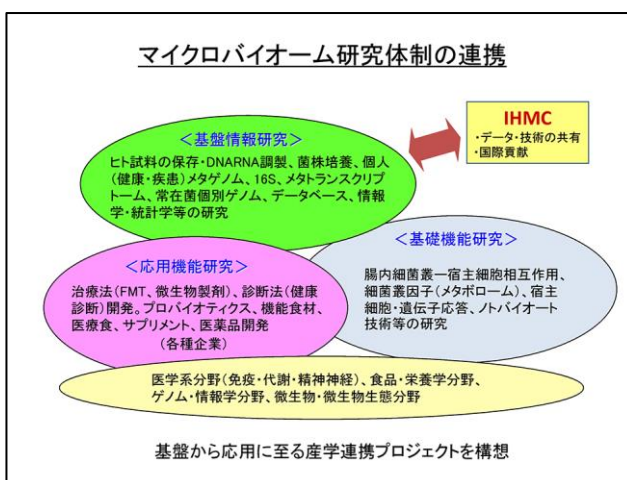


図 2-5-15



図 2-5-16



図 2-5-17

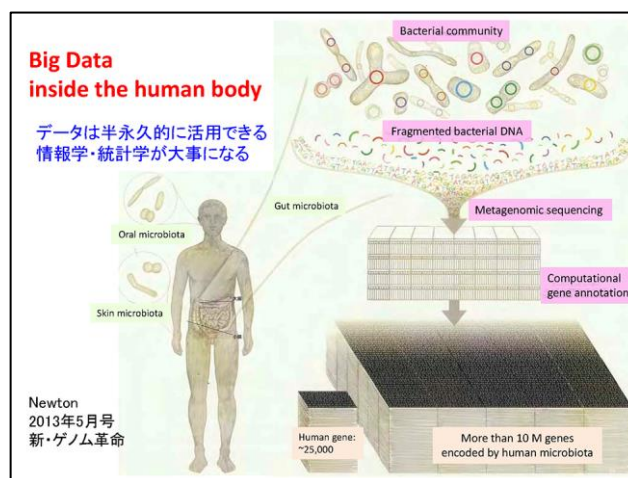


図 2-5-18

関連する国内の研究開発動向、
今後のあるべき方向性など

2. 6 「宿主と腸内細菌叢との共生関係から生まれる機能性(脂質)代謝物のメタボローム解析」 有田 誠(理研 統合生命医科学研究センター メタボローム研究チーム チームリーダー)

<発表概要>

様々な疾患と腸内環境との関係性を理解する上では、代謝物の関連性は大きい。宿主と腸内細菌との共生関係から生まれる代謝物をより包括的に解析できれば、恒常性維持に関わる代謝系を同定できたり、または機能性代謝物を発見できたりといった可能性がある。ただし、これには非常に高網羅的で精度の高い、いわゆる質の高い測定が必要である (図 2-6-2)。

現状のメタボローム解析にどのような方法論があるかだが、脂溶性化合物と水溶性化合物で異なる。水溶性物質を分離するには GC-MS がよく使われ、今は約 150 分子を特定できる状況にある。一方、脂溶性物質は、物性が離れているものも含め、主には LC-MS で、ターゲット解析あるいはノンターゲット解析を介して約 2,500 分子を同定可能である (図 2-6-3)。

腸内細菌叢と宿主側が相互作用する環境中では、Trans-organism な生合成経路が存在すると考えられる。そこで、はじめにこれらの方法を用いたメタボロームにより、代謝物質を解析し、目的とするフェノタイプと相関する化合物を同定する。次に、化合物ライブラリの作成、生物活性評価、最終的には標的細胞や作用機構を同定して、疾患メカニズムの解明や創薬シーズへの展開を目指す。ここでの非常に重要なことは、どうやって化合物ライブラリを調整するかであり、我々は微生物生産を試みている。目的化合物を実際に腸内で生成している細菌の培養や、あるいはその細菌が保持する酵素を特定し、組み換え菌株を用いて生合成することでライブラリをきちんと作り、そこから測定や活性評価へとつなぐアプローチをとっている (図 2-6-4)。

我々はこれまでに、例えば、宿主側のアラキドン酸、EPA、DHA などの脂肪酸代謝経路を網羅的に解析する手法をターゲット解析で作成し、約 500 種類をピコグラムの感度で検出可能である (図 2-6-5)。このように言うと簡単そうだが、我々のこのシステムは世界最先端であり、それには 2 つの理由がある。1 つは、標準化合物を多種保持していることで、かなり泥臭く、自分たちで合成や収集をした。もう 1 つは、測定対象をクルードなところから濃縮する方法で、多くの時間を費やして検討を行った。図 2-6-6 に簡単なフローを示す。組織からの抽出物をカラムで分離し、マスで測る。このプロセスで一番重要なのは、実は「抽出」であり、脂溶性物質でも色々な物性の混合物のため、分ける必要がある。例えば、脂肪酸代謝物ではリン脂質、コレステロール、中性脂肪など、多量かつイオン化を邪魔する物質を全て排除した上で濃縮していく。今後の腸内細菌叢の代謝物解析においても、単に脂溶性フラクションだけでなく、目的物質をいかに分取するかが大事な鍵となる。それに加えて、LC カラムによる分離、MS 分析の性能も重要となってくる (図 2-6-6)。

以上のような方法の確立を介し、食事として摂取した、例えば EPA のような $\omega 3$ 脂肪酸が体内で特徴的な代謝を受け、活性代謝物になり、様々な機能を発揮することを明らかにしてきた (図 2-6-7)。

私がなぜ腸内細菌とめぐり合い、上記の実験アプローチをしているかについて紹介する。

農水のプロジェクで、京都大学大学院農学研究科の小川順教授と乳酸菌が持つ脂質代謝経路の共同研究を行った (図 2-6-8)。乳酸菌は哺乳動物が持たない代謝経路で、リノール酸などの脂肪酸を非常にユニークなトランス脂肪酸や共役脂肪酸などにする能力を有し、複数の菌が遺伝子を有して代謝反応されることが小川グループで同定された (図 2-6-9,10)。我々は、これら代謝物質を測定するため、はじめに菌によって作らせ、精製し、それを標準品として測定条件を設定した。この分析方法で解析すると、図 2-6-11 で示すように、腸内細菌叢によって作られる物質は、赤で示す SPF マウスではたくさん確認されるが、青のジャームフリー (GF) では検出されなかった。つまり、腸内細菌依存的に出現する代謝物が存在することを証明した。さらに、最近では、これら代謝物が腸内環境だけでなく全身の臓器に分布していることや、リン脂質・中性脂肪などに形を変えて存在していることがわかってきている (図 2-6-12,13,14)。

このように、繰り返しになるが、それぞれを菌で一つ一つ泥臭く合成し、それを標準品として測定したところがポイントであり、これを *in silico* の予測値だけでやろうと思ってもなかなか上手くいかない。なぜなら、腸内細菌がつくる代謝物には、同じ分子量のために LC 分離し難い構造異性体が非常に多い。例えば、乳酸菌が持っているイソメライゼーションやデハイドレーション、二重結合位置、シストランスの違いなどがある (図 2-6-15)。もう一つには、リファレンス情報の不足が問題だった。これらに対し、いくつかの改善を試みている。例えば、異性体の分離技術を向上するため、イオンモビリティという新しい分析手法を取り入れた。これは分子の形状、ダイポールモーメントの差で分けるという技術で、LC で分かれな HYA と HYC のような異性体を綺麗に分別できる (図 2-6-16)。他にも、ノンターゲット解析に取り組んでいる。一般的には、ターゲット解析という、標的を絞り、非常に速いスピードで正確に測る方法で、正確性はあるが、逆に測定対象以外の情報は全部捨てている。ノンターゲット解析は、機械に入れたサンプル中の情報を一旦全部集めて後づけで解析する方法で、取りこぼしなく網羅性が高い。しかしながら、問題としては、それだけ複雑な情報を処理するため、解析ソフトウェアや標準ライブラリ、データベースが必要となる。つまり、腸内細菌叢に対応したこれらを作り上げていくことが直近の課題である (図 2-6-17,18)。

ここに我々がマウスの肝臓でこのノンターゲット解析を試行した結果を示す。図 2-6-19 のドット一つ一つが脂質の種類に相当し、トリグリセライド、リン脂質、セラミドなど、現状では一般的な脂質化合物の約 1,000 種類を自動同定できるシステムとなっている。実際には数万という代謝物のドットがプロットされるが、何であるかは不明なドットである。それに対し、標準品でスポット位置を確認すれば、次からは自動同定が可能となる。このため、いずれは数千種類が自動同定可能となるシステムになる (図 2-6-19)。

同様に、ヒト乳児の糞便中の測定を行ったところ、現状では約 400 種類が同定可能である。スフィンゴ脂質、リゾリン脂質やアシルカルニチンなどの一般的な代謝物と、全く未知の分子も検出された。これらは一つ一つマス波形を見て、スペクトルを同定し、分子を特定することで、次からは自動学習できるようになっている (図 2-6-20)。実際には、リン脂質、中性脂肪や胆汁酸などの実測データを全てデータベースとして格納することで、最終的にはノンターゲット解析結果をこのデータベースと構造解析ソフトウェア

LipidDiscovery を使って次々に自動で分子を予測同定していき、それに対して今度はター

ゲット解析で確認と定量プロファイルしていくという流れで行っている。このシステムは使うほどに性能が上がるシステムで、構造同定を行うほど（これは泥臭くやるのだが）、次からはより多くのものがプロファイルできる。このシステムはぜひ腸内細菌叢にも適用していくべきだと考えている。（図 2-6-21,22）

我々は理研 IMS の中でメタボローム解析拠点を目指している。そのためには、単に質量分析計があるだけではなく、対応するデータベース、標準化合物の収集・合成、これらからの代謝物のプロファイリングを構築し、さらに生理活性評価へつなげていく（図 2-6-23）。

最後となるが、2015 年から新学術領域研究でスタートした「脂質クオリティが解き明かす生命現象」では、まさにオールジャパンで脂質の分析をクオリティの高い分析によってバイオロジーにつなげていくというプロジェクトを開始した。これとも上手く連携しながら腸内細菌のプロファイリングを行っていければと思っている。

<質疑応答>

【福田】メタボロミクスでのスループット性の向上は非常に重要だと思うが、どのようなアイデアがあるか。

【有田】非常に大事なポイントはスループットを上げつつも精度を下げないことだが、Q-TOF を使ったシステム（1 ラン 15 分）でも機械の数が律速になるため、やはり課題として考えないといけない。また、サンプルの保存、前処理はある程度統一したプロトコルを設定しないと差が出やすい。

【大野】保存状態の影響など、前処理の基礎データはあるのか。

【有田】血漿を -20 度、-80 度で 1 カ月、2 カ月、3 カ月置くとどうなるか、血漿をとるとき氷上での時間など、一部情報はあがるが、統一的に集めていく必要性を感じる。

【本田】菌を使ったリファレンス作りは、具体的にどのように行っているのか。菌による代謝物から更に選別する必要はないのか。

【有田】選別の必要はある。例えば、話した乳酸菌の実験では、①京大発酵研で目的物質の前駆体となる脂肪酸を添加した乳酸菌の培養作業による目的物質を含んだプロダクトの取得、②我々のマス解析によって代謝物をプロファイル、③京大発酵研に返し、目的物質を分取し、標準品を作成、といった手順で行った。標準品については有機合成が常法であると考えがちだが、全然非効率的で、スピードが追いつかない。菌体を使うか、反応酵素としての遺伝子をリコンビナントで使う、またはその組み合わせを我々は用いている。

【本田】つまり、メタゲノムのデータから酵素の有無がわかり、リコンビナントによる反応でゲノム情報とメタボローム解析とが次々にリンクしていくといえる。

【黒川】現状では、メタゲノム、メタボロームの情報はすぐに公共データベースに反映されないのではないか。

【有田】その通りで、ノンターゲット解析で得られた化合物に対応するようなメタゲノム情報をサーチしても、実際にはほとんど使えない。モチーフやファミリーは出てくるが、確定できない。そのため、機能的な情報を集める必要があると思っている。

【福田】現在、東工大の山田先生らと共に腸内細菌叢の代謝パスウェイ、つまり KEGG pathway の腸内細菌版の様なものを作っているのですが、検出された代謝物質メタボライド情報をそこへマッピングしていくことが一番現実的な方法だと思う。

【黒川】代謝パスウェイは文献から情報を集めて作っているため、実際のデータを連携できるようなグループを作り、一気に解析していくことができれば、相当貢献できる。

【有田】ぜひやりたい。メタボロームとメタトランスクリプトームを重ねて色々な情報を抽出することが大切だと思う。

【竹田】リファレンスとして一種類の細菌を培養して代謝物を得ているが、実際の腸内では様々な細菌の重なりで代謝物がつくられている印象がある。これに対してはどのようなアプローチが考えられるか。

【有田】集合体から酵素としての重なりを考えており、情報を集めているところである。その情報が重なっていけば複雑な問題も解けるのではないかと考えている。

【黒川】反応経路が強いところは、菌群種、その割合、酵素の保持率などがマッピングできる。また、予想した経路に相当する遺伝子が無いと、代替パスウェイの存在が予測できる。そのようにデータが集まってくると確信している。

【鍋島】脂質の代謝物は異性体が非常に多いが、それらを一つずつ作っていくのは大変かつ難しいと思うが、どう考えるか。

【有田】分析では、サンプル処理の分画や LC 分離で工夫する余地はあるが、やってみないとわからない。分離するところが重要である。

JST-CRDS「ヒト微生物叢（microbiome）に関する
研究開発戦略のあるべき姿」ワークショップ

H27.12.6 JST

**宿主と腸内細菌叢との共生関係から生まれる
機能性（脂質）代謝物のメタボローム解析**

理化学研究所・統合生命医科学研究センター
メタボローム研究チーム

有田 誠



図 2-6-1

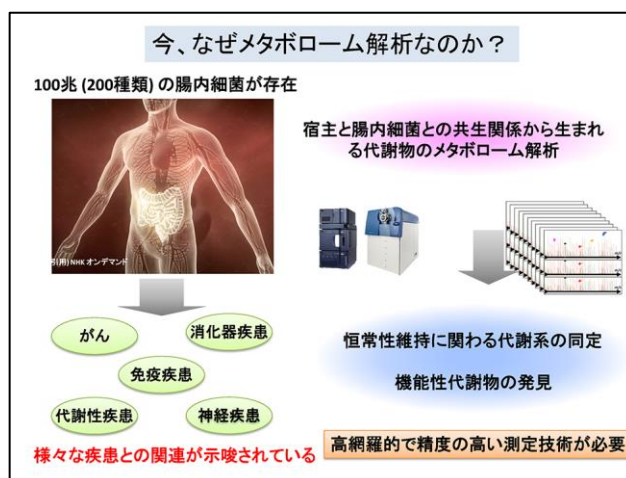


図 2-6-2

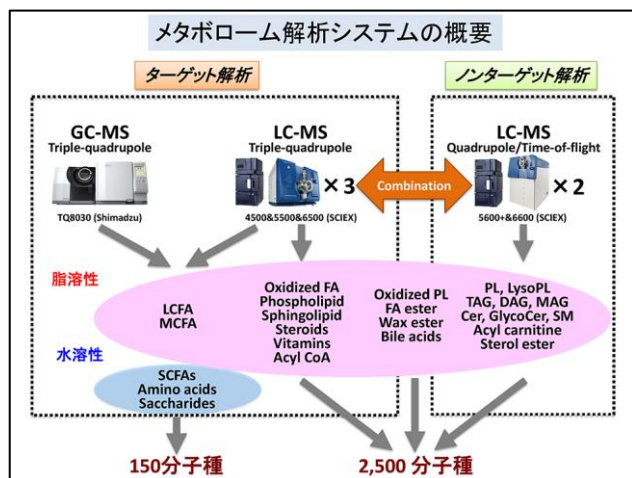


図 2-6-3

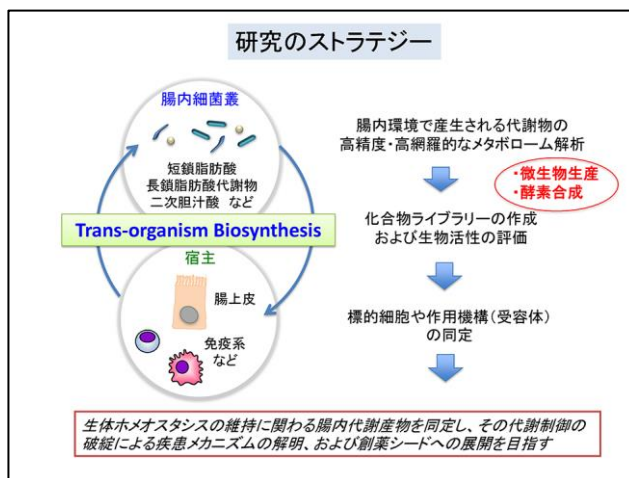


図 2-6-4

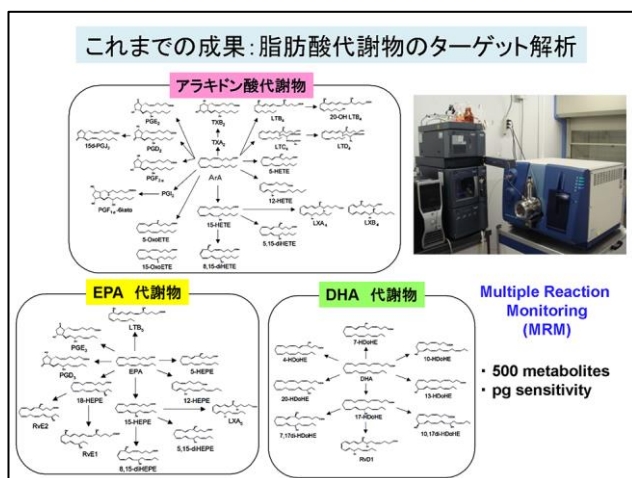


図 2-6-5

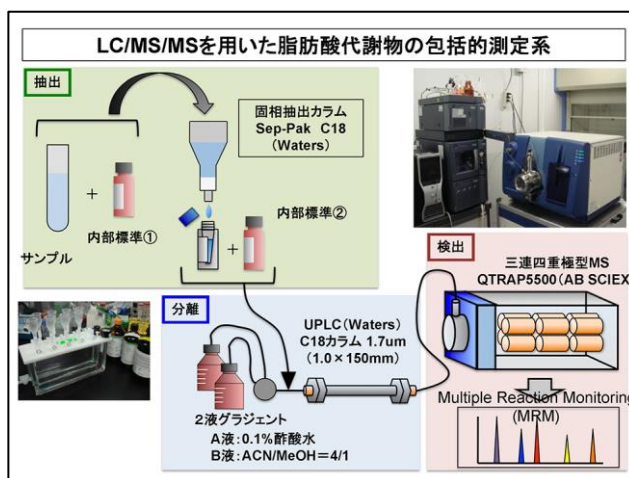


図 2-6-6

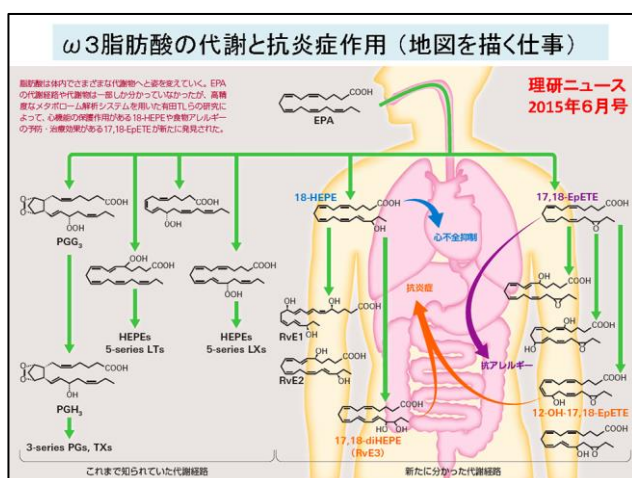


図 2-6-7

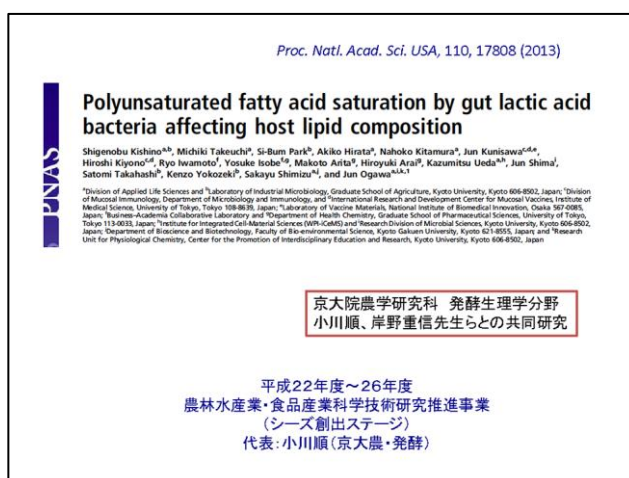


図 2-6-8

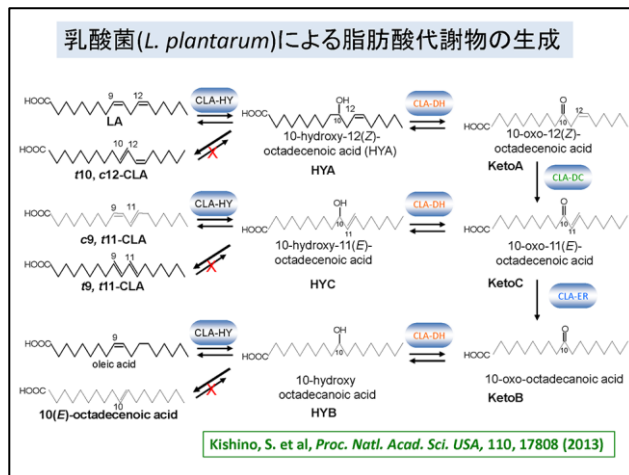


図 2-6-9

Distribution of genes for biohydrogenation in gut bacteria

	CLA-HY	CLA-DH	CLA-DC	CLA-ER
<i>Lactobacillus plantarum</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus casei</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus rhamosus</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus salivarius</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus helveticus</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus crispatus</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus brevis</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus sakei</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus buchneri</i>	○	○	○	○
<i>Enterococcus faecium</i>	○	○	○	○
<i>Enterococcus hirae</i>	○	○	○	○
<i>Clostridium cellulovorans</i>	○	○	○	○
<i>Brevibacillus brevis</i>	○	○	○	○
<i>Clostridium phytofermentans</i>	○	○	○	○
<i>Slackia heliotrinireducens</i>	○	○	○	○
<i>Clostridium saccharolyticum</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus gasseri</i>	○	○	○	○
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	○	○	○	○

図 2-6-10

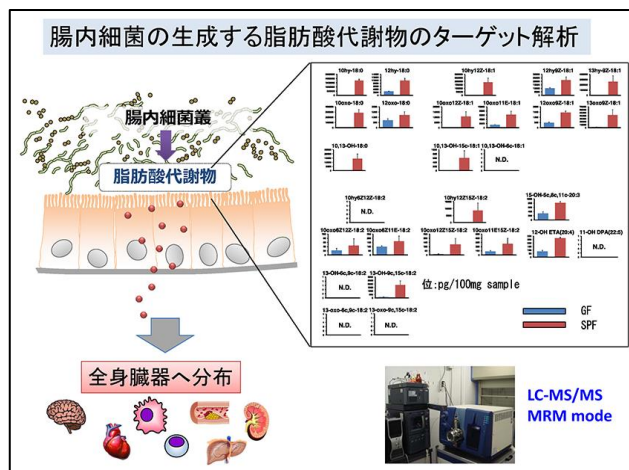


図 2-6-11

Linoleic acid 代謝物-1

No.	Group	Formal name	Abbreviation	Structure	MW	Q1	Q3
	Linoleic acid	c9,c12-18:2	LA		280	279	261
		c9,t11-18:2	CLA1		280	279	279
	Conjugated linoleic acid	t9,t11-18:2	CLA2		280	279	279
		t10,c12-18:2	CLA3		280	279	279
	Hydroxyl	10(OH)-c12-18:1	HYA		298	297	185
		10(OH)-18:0	HYB		300	299	141
		10(OH)-t11-18:1	HYC		300	297	185
	Ketone	10(oxo)-c12-18:1	KetoA		296	295	139
		10(oxo)-t11-18:1	KetoC		296	295	139
		10(oxo)-18:0	KetoB		298	297	139

図 2-6-12

alpha-Linolenic acid 代謝物-1

No.	Group	Formal name	Abbreviation	Structure	MW	Q1	Q3
	Alpha-Linolenic acid	c9,c12,c15-18:3	ALA		278	277	233
	Conjugated alpha-linolenic acid	c9,t11,c15-18:3	CALA1		278	277	277
		t9,t11,c15-18:3	CALA2		278	277	277
		t10,c12,c15-18:3	CALA3		278	277	277
	Hydroxyl	10(OH)-c12,c15-18:2	gHYA		296	295	185
		10(OH)-c15-18:1	gHYB		298	297	141
		10(OH)-t11,c15-18:2	gHYC		296	295	185
		13(OH)-c9,c15-18:2	-		296	295	225
	Dihydroxy	10(OH),13(OH)-c15-18:1	-		314	313	243

図 2-6-13

その他

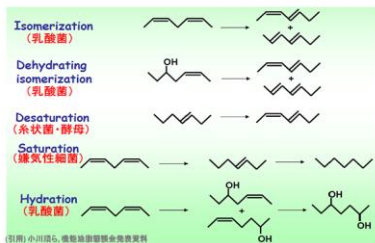
No.	Group	Formal name	Abbreviation	Structure	MW	Q1	Q3
	12-hydroxy	12(OH)-18:0	-		300	299	169
		12(OH)-c9-18:1	RA		298	297	183
		c5,c8,c14,c17-20:4	12-OH ETA		320	319	181
	12-keto	12(oxo)-18:0	-		298	297	167
		12(oxo)-c9-18:1	KetoRA		296	295	165
	13-hydroxy	13(OH)-c9-18:1	-		298	297	197
	13-keto	13(oxo)-c9-18:1	-		296	295	179
	15-hydroxy	15(OH)-c5,c8,c11-20:3	-		322	321	221
	11-hydroxy	11(OH)-c4,c7,c13,c16,c19-22:5	11-OH DPA		346	345	167

図 2-6-14

腸内細菌が生成する脂肪酸代謝物の解析は困難である

【理由】

- ・同じ分子量でかつLC分離が不十分な異性体が多く存在している
- ・代謝物の構造情報（リファレンス情報）が不足している



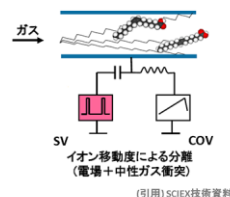
哺乳動物の代謝系では生成しないユニークかつ複雑な異性体構造

図 2-6-15

構造異性体の分離の向上

イオンモビリティ分離法

1. 同じ分子量でかつLC分離が不十分な異性体の分離
 - ・ Isobaric isomer
 - ・ Geometric isomer
 - ・ Diastereomer
 - ・ Enantiomer
2. 血漿や臓器などからの高感度検出 (S/N比の向上、マトリックス効果の軽減)



(引用) SCIEX技術資料

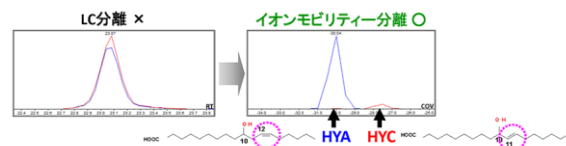


図 2-6-16

新しいノンターゲット解析システムの開発

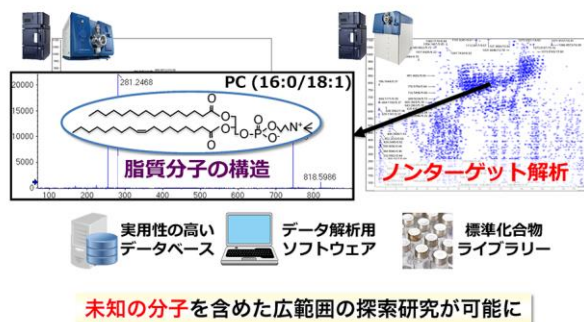


図 2-6-17

ターゲット解析とノンターゲット解析

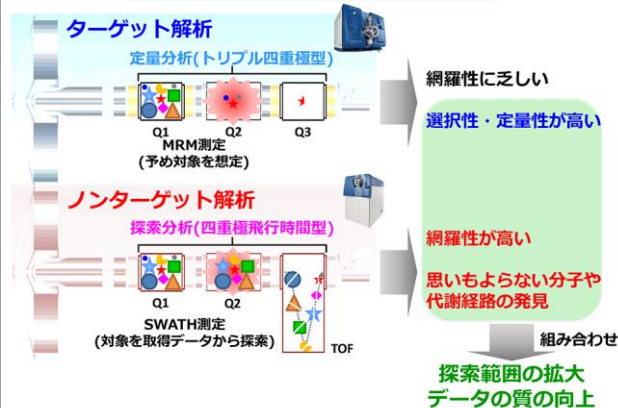


図 2-6-18

ノンターゲット解析の具体例(マウス肝臓)

977種類の脂質分子種を同定

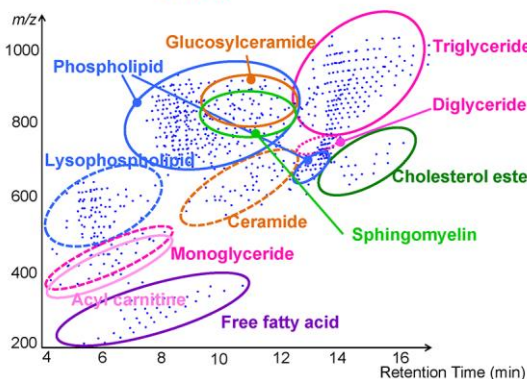


図 2-6-19

ノンターゲット解析の具体例(ヒト乳児糞便)

ノンターゲット解析 (400分子種を同定)

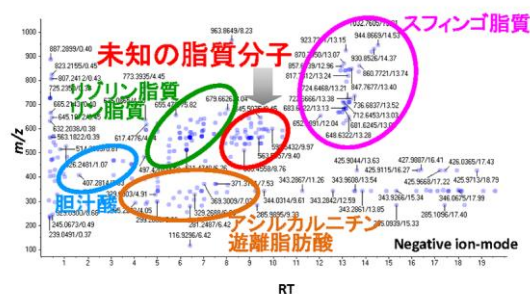


図 2-6-20

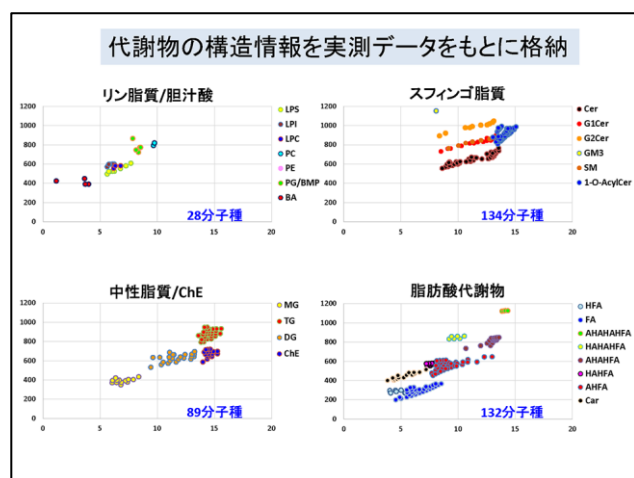


図 2-6-21

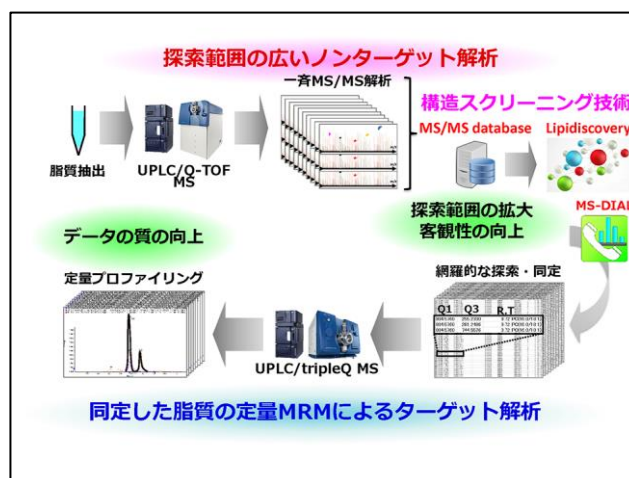


図 2-6-22

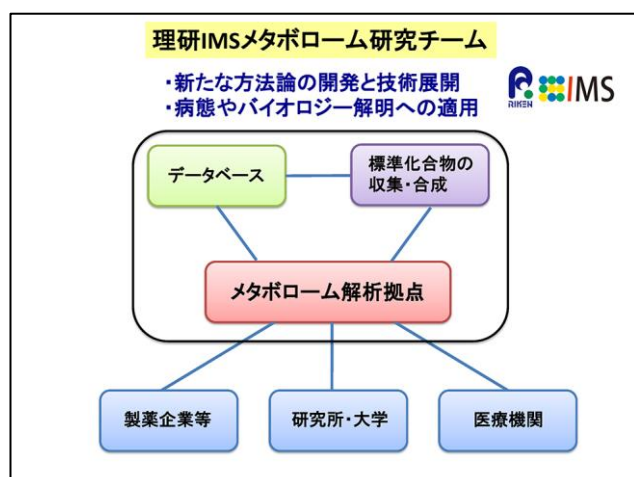


図 2-6-23

関連する国内の研究開発動向、
今後のあるべき方向性など

2.7 「腸内細菌叢由来代謝物質による生体恒常性維持機構」

福田 真嗣(慶應義塾大学 先端生命科学研究所 特任准教授)

<発表概要>

「メタボローム解析 (水溶性)」というテーマで、副題を「腸内細菌叢代謝物質による生体恒常性維持機構」として発表する。

山形県鶴岡市にある慶應義塾大学先端生命科学研究所のキャンパスに我々の研究室があり、分析装置として、キャピラリー電気泳動、液体クロマトグラフ、ガスクロマトグラフなどに質量分析計を接続した装置が、合計として 50 セットある。これらを用いてメタボロミクスをやっている (図 2-7-2)。

メタボロミクスとは、サンプル中に存在する分子量 1,000 以下の低分子化合物 (糖、アミノ酸、有機酸、ペプチド、脂肪酸など) を網羅的に解析する技術で、教科書レベルでは代謝物質数が微生物当たり 800~1,600 個、ヒトの細胞 1 個当たり 2,500~8,000 個と言われている (図 2-7-3)。

私は特に腸内環境をターゲットとして、腸内細菌叢の機能理解を目指した統合オミクスによるアプローチを、理研 大野先生の研究室に所属しているときに開発し、現研究所でも行っている。統合オミクス解析技術としては、宿主のエピゲノム、腸内細菌叢のメタゲノム、トランスクリプトーム、さらには血中や腸管内代謝物質のメタボロームなどを網羅的に解析し、得られた情報を全て数値化することで多変量解析や相関解析の技術を用いて統合している。そして、最終的には、プロバイオティクス、プレバイオティクスに基づく腸内環境改善機能をきちんと理解し、それに基づく健康維持基盤技術の創出を目指している (図 2-7-4)。

これまでに得られた成果を簡単にまとめる。我々が食べた物は胃で消化され、グルコースやアミノ酸などの低分子は小腸で吸収される。未消化のものは大腸まで流れ、待ち構えている沢山の腸内細菌によってさらに分解され、最終的に作られた発酵代謝物質が大腸内から血中に移行し、我々の身体に様々な影響を与えていることが近年わかってきた。例えば、理研 大野先生の研究室に所属していたときに、腸内細菌が作るお酢の成分の酢酸が腸管上皮細胞に作用することで腸管出血性大腸菌 O157 感染症を予防することや、乳酸菌が作る乳酸が大腸がんを制御したり、あるいは腸管下にある免疫細胞に酪酸が作用することで制御性 T 細胞への分化を誘導し、大腸炎などを抑制できることを明らかにしてきた。

腸内細菌が産生する代謝物質は、我々の身体に良いものばかりではなく、逆に悪いものがつくられる場合もある。例えば、腸内細菌がつくる尿毒素などは腸から吸収され、血中に移行して全身に回り、その結果として体に悪い作用、特に腎臓病を悪化させることがわかってきた。

このように、お腹の中の複雑な状況を知る手がかりである腸内細菌叢や代謝物の構成情報が、実は便に含まれている。このため、便を分析し、我々が健康に寄与する物質として同定した酢酸や酪酸、悪い物質として報告されている DCA (肝臓がん)、TMA (動脈硬化)、尿毒素 (腎臓病) のような物質濃度を知ることで、我々自身の健康状態を評価でき、関与する病気のリスクが判断できるようになるといえる (図 2-7-5)。

腸内細菌叢はバランスが乱れると様々な疾患につながる事が報告されている。腸の病気では、大腸炎、大腸がんなどが上げられる (図 2-7-6)。我々も実際に、日本人の大腸がん患者の便をメタゲノム解析、メタボローム解析する大規模研究を、国立がん研究センターの谷内田先生、中島先生、東京工業大学の山田先生らと共同で進めている。試験内容は 475 項目と非常に多いアンケート、大腸内視鏡データ、便のメタゲノム・メタボローム解析であり、今のところ約 500 人の分析が済み、検体としては約 1,000 人分を集めたところである。内視鏡データから 6 つのカテゴリー (正常、アデノーマ 2 個以内、10 個以内、超早期大腸がん、早期大腸がん、進行性大腸がん) に分け、現在、分析と結果の比較を行っている。

一部データを紹介する。各カテゴリーの人数は 30~100 人ぐらいだが、代謝物の平均値をクラスタリングすると非常に面白いことがわかった。

がんになる前の人=健康な人は便中のプロファイルが非常に似ており、超早期大腸がんの患者だけが大きく外れ、がんが進んでくるとプロファイルは落ち着き、再び健康な人に近づくことがわかってきた。具体的に変化する物質を確認すると、今回は公表できないが、超早期大腸がんでは変化するいくつかの物質が検出できた。また、他にも、大腸がんが進行するにつれて濃度が増す代謝物質や、逆に健康な人で検出されるが大腸がんが進むにつれて減少する代謝物質も検出できている。

一方で、メタゲノム解析から大腸がんの人で増える菌種あるいは遺伝子があるか調べた。

Fusobacterium nucleatum は大腸がん患者の腸内で増加する菌として既に知られているが、我々の解析結果でも進行性がん患者での増加が見られた。ただし、大腸がんのステージが進んだ後に増加してくることから、恐らく大腸がんになった結果として増加してくる菌だと考えられる。これに対し、その前の段階で少し増えてくる細菌群も検出できており、これらの細菌はもしかすると大腸がんの発症に関わる可能性も考えられ、無菌マウスへの移植実験を計画している。

また、以上のような複数の腸内細菌の遺伝子マーカーや代謝物質マーカーを組み合わせ、ROC カーブを作製することで、大腸がん患者を予測する数理モデルをつくることができる。

大腸がん以外にも肥満や糖尿病、肝臓がん、動脈硬化といった代謝疾患の発症にも、腸内細菌叢のバランスの乱れが関与すると報告されている。腸内細菌由来の代謝物質として、肝臓がんではデオキシコール酸 (DCA) が、動脈硬化ではトリメチルアミン (TMA) が増加し、発症に関わっていることも知られている (図 2-7-7)。糖尿病に関しては、2012 年に中国人 345 名、2013 年にはヨーロッパ人女性 145 名のコホート研究の腸内細菌叢メタゲノム解析結果が報告されている。しかしながら、中国人で見つかったメタゲノミックバイオマーカー (腸内細菌由来の遺伝子) を使った予測モデルが、ヨーロッパ人のコホートでは全く使えず、地域や人種によってマーカーが異なることがわかっている。このことから、日本人でも特有の情報が必要で、さらに先ほど示した大腸がんの例と同様に、メタゲノム解析とメタボローム解析の両方を併せて実施して予測モデルを構築することが、正確な予測モデルをつくるためには非常に重要である (図 2-7-8,9)。

一方で、それ以前に、例えば日本人の健康な腸内環境データベースをつくるなど、コホート研究を実施する上で非常に重要なのは、「便の採取方法」にある。なぜなら、研究レベル

では簡単に検体の冷凍保存が可能だが、一般の人に自宅の冷凍庫で便を保存してもらうのはハードルが非常に高い。このため、メタゲノム解析とメタボローム解析の両方に使え、室温保管可能な薬剤、サンプリングキットの開発にも着目した研究についても現在は進めている。室温保管可能となれば、例えばアマゾンの奥地のような冷凍庫がない場所での便サンプリングもできるようになる。さらに加えるならば、今後、恐らくシーケンサーの能力が上がり、少量の便からの DNA 抽出、分析が可能になれば、現在の大腸がん検診（便潜血検査）ぐらい少しの便の量だけでも解析できるため、より幅広く、容易に検体が収集可能となっていく。

我々はこれらの背景のもと、『メタボロゲノミクス』という新しい概念を考えている。

メタボロゲノミクスは、メタゲノム解析による腸内細菌叢の遺伝子地図にメタボローム解析により得られた代謝物質情報をマッピングすることで、腸内環境中で実際に機能している遺伝子と代謝物質の変化を情報化し、理解することである。これにより、初めて腸内環境、細菌叢の制御が可能になると考えている。例えば、細菌叢の代謝経路で宿主に悪影響な代謝物質が作られる場合、その経路を担うような腸内細菌を殺す、または減少するような特異的効果を示す創薬、あるいは菌が減少する腸内環境へと整える食べ物を摂取することが可能となる。逆に、体に良い代謝物質をつくる場合、代謝経路が弱い、少ないと心許ないため、律速点をバイパスできる機能を持つ善玉菌の摂取や、経路を持つ腸内細菌が増える食べ物を食べることでお腹の中の状況を制御できるのではないかと考えている。ところが、現状では、どういう物質を摂取すると、どのような腸内細菌が代謝し、何が生成されるか、という3者間のデータベースが存在しない。このため、我々は、このデータベース作りが非常に重要だと考えている。また、データベース作りで各菌に代謝を行わせる場合を考えると、やはり腸内細菌の培養技術は非常に重要になってくる（図 2-7-10）。

培養技術として、マイクロ流体デバイスを用いた、ドロップレットによる検討を、JST さきがけの研究プロジェクトで実施している。ドロップレットは、液滴の中に包埋した微生物を嫌気培養後に FACS でソーティングし、その後メタボローム解析とメタゲノム解析を実施することで3者間のデータベースを構築する。しかしながら、この方法は嫌気培養を必要とするため、難培養性菌の問題解決が必要である。このドロップレット法の一番良い点は、包埋する細菌数を1でも100でも任意にコントロールできることである。例えば、100個細菌を入れて、この中を単純な酵素反応の場として用いれば、どういう菌がどれだけいればどういう代謝がどのレベル起きるかについて、時間軸と産生量との関係性として知ることが可能になると期待でき、現在研究を進めている。

まとめとなるが、将来展望としては、はじめに日本人腸内環境データベースをつくり、各個人の腸内環境を検査・診断可能にする。そして、検査で仮に腸内環境が悪かった人に対して、適切に腸内環境を修飾するような薬や食品を提案・提供し、お腹の中の代謝物質の変化を促すことで疾患関連物質を減少させ、健康物質を増加させる。最終的には、腸内環境制御による疾患予防あるいは治療技術を確立したいと考えている（図 2-7-11）。

<質疑応答>

【國澤】腸管で細菌由来代謝物質が宿主に取り込まれる量としては、トランスポーターなどの宿主側に起因すると思うが、これら因子については、色々な研究が成されている中で、体内濃度と相関している、または関係がなく、ある程度までいくとフラットになるなどの情報はあるか。

【福田】我々では無いが、マウスにおける腸管腔内、門脈（腸から吸収されたもの）、さらに全血のメタボローム解析を実施し、腸から吸収され、肝臓に行って別の物質に変わって、出てくるといった物質の体内濃度と代謝変化物質について研究されているところではある。ただし、ヒトでどうなるかは全く行われていない。現状簡単にできる試験としては、やはり無菌マウスとSPFマウスとで全血中物質を比較することになってしまう。

【有田】代謝物質の説明にあった生合成経路（遺伝子マップ）に本気で乗せることを考えるならば、フラックス解析が必要だと思うが、スナップショットのデータでもいいので、実際に重ねてみたことはあるか。

【福田】現在行なっているところである。ヒトの細菌叢のデータでは、個人ごとの差は非常に大きい、個人内での変化は思ったほど小さくなく、また、メタボローム解析でも同様なことがわかってきている。つまり、スナップショットでも、各個人の情報はある程度判断可能である。ただし、連続的にデータをとることも重要で、定期的に分析することが究極的には一番効率的であるとも考える。

【黒川】結局、最初に分けて、大腸がん患者と健常者を比べると必ず何かしらの差は出る。しかし、実際は別々の人からとった離散的データを連続サンプルのように見せているだけで、ベイズ的に、例えばトピックモデルや最新の機械学習などで解くと何も見えてこなかったりする。その点はどう考えるか。

【福田】正常なら正常で個体差があるが、ある一定のばらつき具合になり、がんが進行して悪くなったときも悪い状態に安定した一定のばらつき状態があると考えている。このため、今回見えてきたプロファイルの変化は、平均値でとっているもので、恐らく個体差のばらつきが非常に大きくなるタイミングを検出できていると想像はしている。今回はある種の代謝物質が増加していると考えられるが、ばらつきをどう評価するかを上手く判断するモデルをつくれれば、各個人がその後、例えば大腸がんによどのような時間軸、症状でなるかなどが判断可能になると期待している。このため、数理生物学的な研究者と組み、このような予測モデルを厳密に作ること重要だと考えている。

【牛島】大腸がんの解析では、糞便からメタボライトは何個検出されているのか。

【福田】便からのメタボライトは、今回は全部で454物質を検出した。ただし、全検体から454物質検出できるわけではなく、ばらつきがある。今回の500人中で共通して検出された物質は大体4分の1、100個ぐらいで、残りの300ぐらいは人によって差があった。

【牛島】多数を調べれば誤検出が必ず出てくる。そのときにどうやって本物を残すかが重要となる。ヒトゲノム解析では、今は必ず検証コホートを最初から用意しておく。同じ考え方が当てはまる場合、サンプリングのときに検証すべきコホートをとっておくという戦略で研究スキームをつくる必要がある。

また、同じ人では時間が経過しても大きくは変化しないということだが、同じ人でも明らかに状況が異なるとき、例えばお腹を壊すような、通常とは全く異なる食品を摂取

したときを調べ、一体どの程度ばらつきがあるのかを基盤の情報として得る必要が考えられる。

【福田】我々も、ホストの健康状態までは難しいが、食べ物との関係を非常に細かく見た検証を行っている。ボランティア 30 人に対し、最初の 1 週間は好きなものを食べてからサンプリング、次の 1 週間は給食方式に 30 人が朝昼晩と同じメニューを食べてからサンプリング、最後の 5 日間は 15 食全く同じご飯を食べてからサンプリングを行った。これから論文投稿予定だが、結果としてメタボライトの分散値は 1 週目も 2 週目も 3 週目も大きくは変わらなかった。つまり、少なくとも健康な状態であれば、短期間での食べ物の影響は大きくは出てこない。

【小安】個体間の差はあるけれども、個体内では差がないという意味か。

【福田】その通りである。

【服部】恐らく個体内でもばらつくが、個体間よりも幅がものすごく小さいという意味だろう。食事による変化はあるが、変化を相対的に見ると変わらない。

【福田】その通りで、個体間よりは個体内の変化は圧倒的に小さいという意味である。



図 2-7-1



図 2-7-2

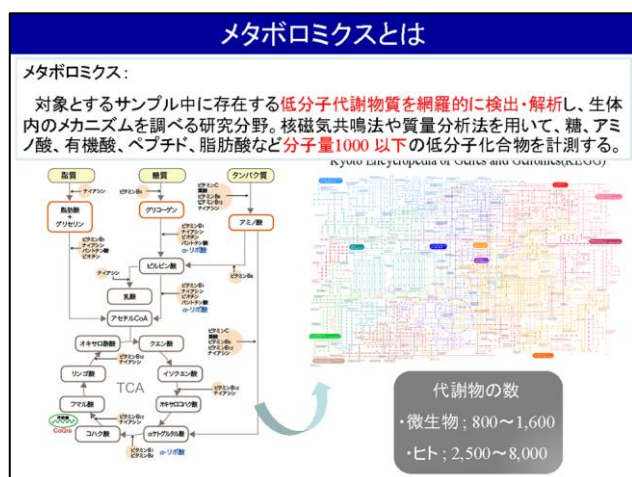


図 2-7-3

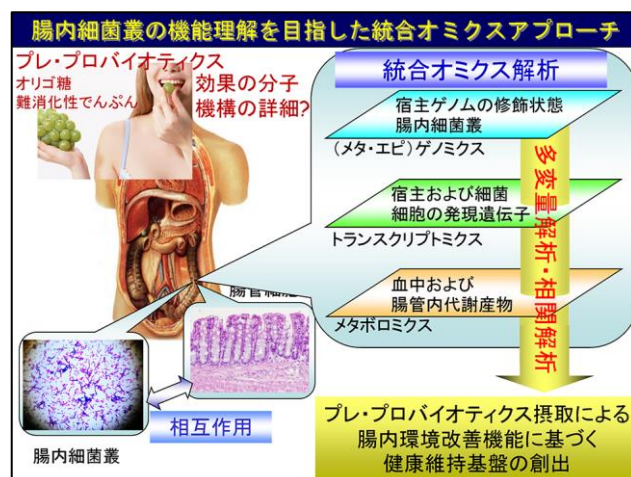


図 2-7-4

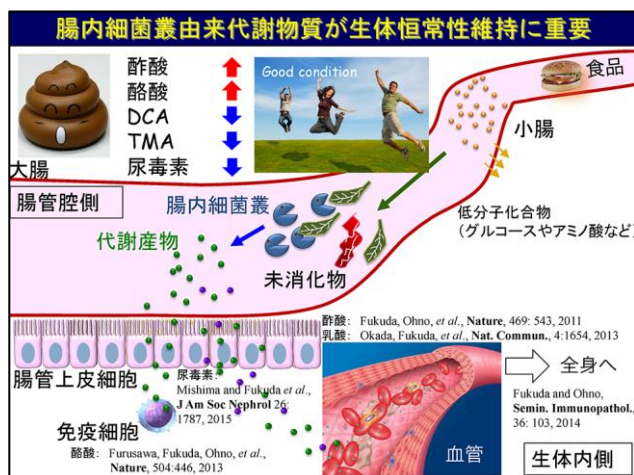


図 2-7-5

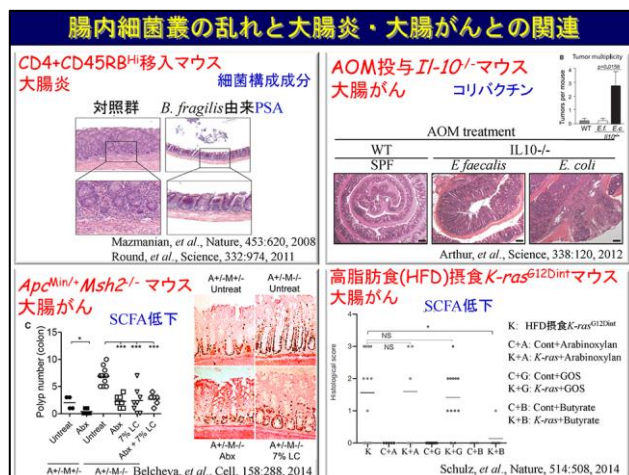


図 2-7-6

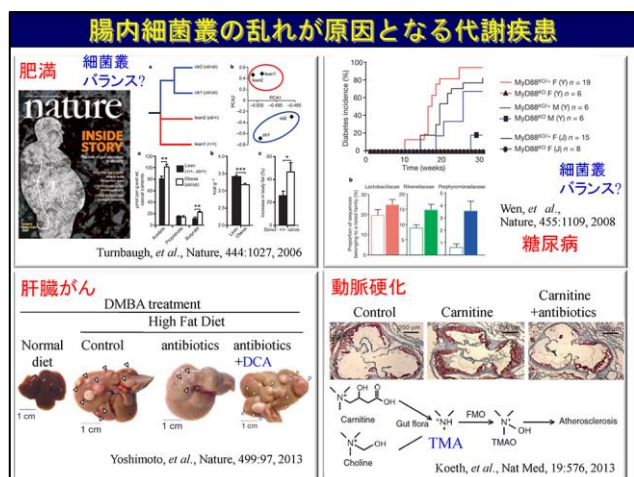


図 2-7-7

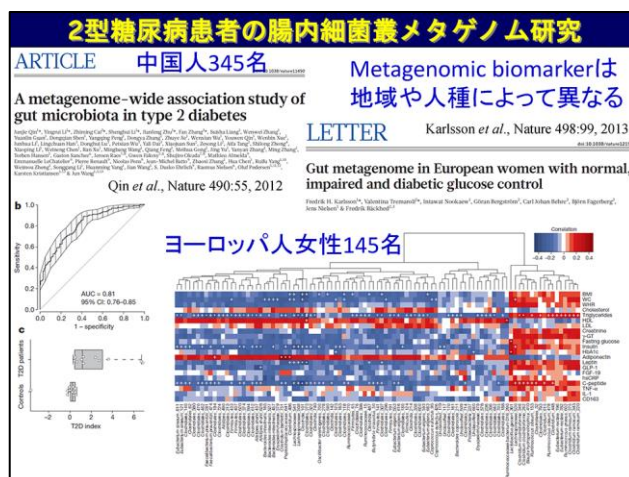


図 2-7-8

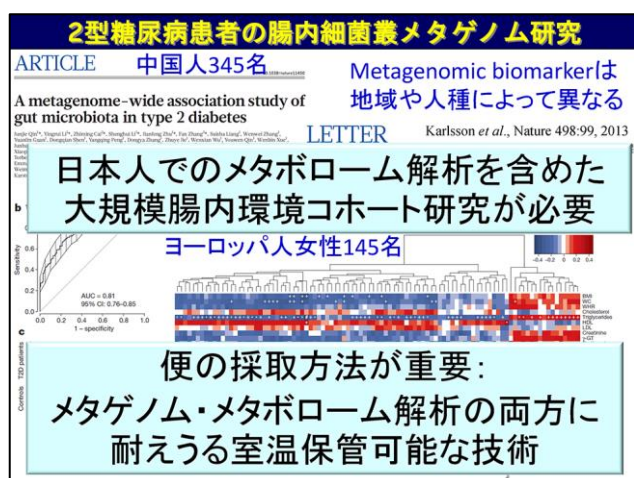


図 2-7-9

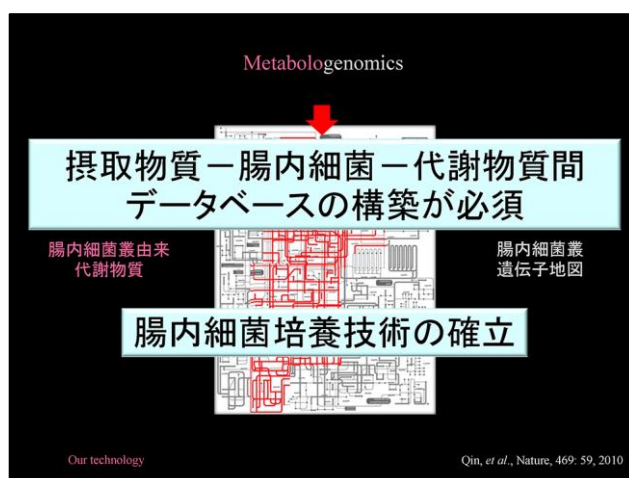


図 2-7-10

関連する国内の研究開発動向、今後のあるべき方向性など

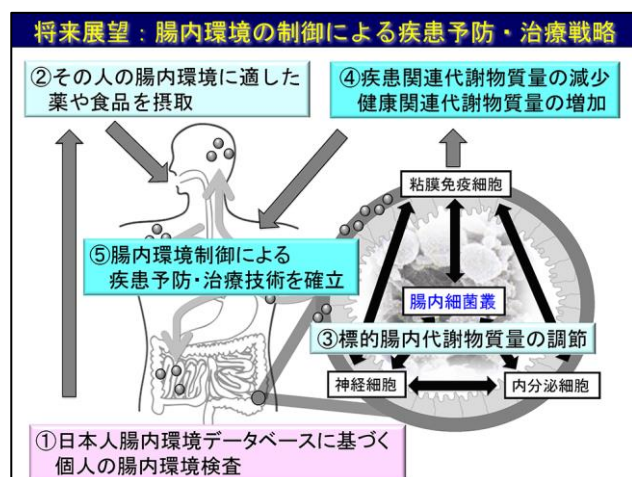


図 2-7-11

2.8 「難培養微生物培養技術／食品企業研究社の視点」

野本 康二(株式会社ヤクルト本社 中央研究所 特別研究員)

<発表概要>

プロバイオティクスという言葉は現代では非常にポピュラーになっている。一番最近の定義としては、国際学術機関 ISAPP (International Scientific Association For Probiotics And Prebiotics) が 2014 年に雑誌 Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology で合意声明を発表した。具体的には、「生きた細菌で、適量な量を摂取するとホストに有用な効果を生むもの」で、いくつかの条件がある。一つ目は、『証拠がなければいけない』ということで、ただ単に生菌を含有するだけではなく、健康効果を立証しなければいけない。二つ目は、伝統的な発酵食品であっても健康効果の証拠がないものは認められない。三つ目は、糞便移植は基本的にプロバイオティクスとしない、なぜならば含有されている微生物が明確にされておらず、しかも安全性が担保されていないからである。四つ目に、ヒトの内在性の微生物については、研究対象の中心であると思うが、同定がきちっとされ、安全性と健康効果が検証されていれば「プロバイオティクス」と認められる。以上を、この学術機関 ISAPP のコンセンサスパネルでは提言している (図 2-8-2,3)。

具体的には、既に図 2-8-4 で示す腸内細菌、もっぱら嫌気性菌だが、これらは健康効果が動物実験やフローラ (細菌叢) のレベルでもデータが積み重ねられているが、例えば、*Akkermansia muciniphila* にしても、この種自身が有益なのか、あるいは株レベルで違いがあるのが大事で、これが出口 (製品) になる場合には、種として出ていくのではなく株で出ていくため、菌株のレベルで安全性なり効果を臨床試験でちゃんと検証しなければいけない、などこの規制の問題が立ちはだかる。

本邦においては、特定保健用食品、機能性表示食品がある程度で、踏み込んだ菌に対する規制はない。一方で、欧州ならびに米国では非常に厳しい規制がある。

欧州の場合は、欧州食品安全機関においてヘルスクレームを標榜していいという認証を受けたプロバイオティクスは現状ではない。このため、我が社の製品も欧州ではプロバイオティクスとは言えない状況である。理由としては、やはり非常に審査が厳しく、科学的情報が不十分、特に言われるのが *cause-effect relationship*、つまり、メカニズムが不明だということである。

米国においては、つまり、食品の健康機能を検証するための臨床試験として医薬と同じ Investigational New Drugs (IND) の申請が必要である。しかし、これを申請して受かると、今度は薬になってしまう。つまり、食品で提供しているものが申請によって薬になるという矛盾が生じる。しかも、食品に一次機能 (味、におい)、二次機能 (栄養) に加えて、三次機能を標榜するのならば必ず申請が必要であるというガイドラインが出ている。これは、例えば研究者、スポンサー、それから IRB (知見審査委員会、Institutional Review Board) に対してもガイドラインとして出ているため、申請するだけで、アメリカからの許可は必要がない。しかし、実際には IRB の許可無しに試験はできないため、アメリカでも食品が健康機能を標榜することはできないという状況になっている (図 2-8-5)。

科学的証拠の一つとしてバイオマーカーを指標とした効果、*disease risk factor reduction* がある。例えば、腸内細菌のマーカーである、*Clostridium difficile* 増殖の抗生

物質誘導下痢症、トリメチルアミンの動脈硬化、アフラトキシンの肝臓がん、のようにリスクファクターであることが確実ならば、これらを減らすという試験をする。ただし、効果が出ても、なぜ減るのかというメカニズムの解明が次に立ちはだかるのが現状である (図 2-8-6)。

内在性細菌の機能についてだが、我々も腸内フローラの構造研究が非常に進み、実際にはやはり機能、特に代謝に焦点が移ってきている。研究方法としては全くシステムティックではなく、ある代謝産物を産生するような菌を泥臭くとってくることを各論として持っているだけである。そのため、先ほどの福田先生の新しいシステムで嫌気性菌をシステムティックに上手く取得できる方法は非常に興味深かった。

具体的な我々の成果として、エコール産生細菌を紹介する。エコールという物質はイソフラボンが腸内フローラの酵素的に代謝された産物で、前立腺がん患者ではエコールを尿中に排泄する割合が健常人よりも低いことが疫学的な証拠からわかっていた。そこで、イソフラボンからエコールをつくることのできる健常人の便から希釈培養、継続培養して *Slackia spp.* NATTS を取得できた (図 2-8-7)。

一方で、内在性最優位性嫌気性細菌について、例えば酪酸産生性の *Clostridium* cluster XIVa などには非常に多様な微生物種が含まれており、十分な配列情報はあがるが、必ずしも生きた菌株として分離されておらず、かなり未培養な株が多い。これに対する解決策を次にいくつか紹介する。

1 つは共生関係を考慮した方法で、Culturomics、Cultivation-based multiplex phenotyping、Personalized culture collections などがある。ただし、実際に行うことはジェノミクスと大きく変わらない。

培養条件を変える策もある。例えば、抗生物質を飲み、わざと dysbiosis を誘導した状態での菌を調べる方法が開始されている。そのまま培養しただけでは培養条件で生育し易い菌株が増え、生育し難い菌株は分離できないため、炭素源を変えるなどの選択培養、抗生物質を使うなどが試されている。

観察技術も大事である。トータルの中での種類、構造を観察すると共に、局在を併せて観察する。

それから、分離方法も重要であり、やはり嫌気環境での培養、嫌気性菌というのは非常に分離が難しい。恐らく幾ら頑張っても培養できない菌というのはいつまでも残るだろう。これに対し、先ほどの福田先生のアイデア (ドロップレット法) は非常に知的である。我々の対処としては、微生物用の FACS (fluorescence activated cell sorting) を嫌気用のグローブボックスに入れるという乱暴なことを考え、実際にそういう技術を何とか工夫している。ただし、FACS の条件を嫌氣的にサンプリングし、通すといった手法の論文が最近少し出始め、米国などで大手メーカーと研究者が組んで開発している状況になっている。

また、消化管カプセルの話も現在本邦で進んでいる。NIZO-Waageningen Univ. との共同研究で、もとは Philips が作った IntelliCap という、腸の中で薬剤をリモコンで放出する機器である。それを逆用して腸の内容物を吸い込み、そしてカプセルの中でクエンチングもさせて固定する。現状では代謝産物や菌そのものをそのままの状態安定化させて回収してくるには程遠いと思うが、NIZO の研究グループでは小腸のサンプリングを既に

行っている。先日、NIZO 研究者の講演の際に、研究者に現状を聞いたところ、論文投稿中と言うことであった（図 2-8-8）。

私は企業研究者として腸内細菌についてずっと研究してきたが、Colonization resistance 機構の解明は夢である。人為的に腸内細菌叢を制御するために、様々な事に起因する Dysbiosis の解明が現状の研究対象の中心になっている。しかしながら、基本的に我々のフローラはコントロールしなくても、生まれてきて、ある程度同じようなところに落ち着く。このメカニズム自身がどうなっているのかが一番解くべき問題であると考えている。これには、共生環境も必要であり、食と腸内細菌と宿主の関係性を研究する必要がある。例えば、東京大学 梅崎先生との共同研究では、梅崎らはパプアニューギニアの住民から窒素固定細菌を分離しており、独自の栄養状況をもたらす様なフローラを持つことを示唆している。このような研究が進めば、昆虫や牛に模した難消化という完全に不溶性の線維を分解し、エネルギーに変換可能とするシステムとしてフローラを獲得できるなど、夢のような腸内細菌制御ができるだろう。これにより、恐らく飢餓なども根本的に解決できると、50 年先の夢を語ることができる（図 2-8-9）。

最後に、企業としては、若手研究者をアカデミアで一定期間勉強させて戻すと、大学研究者と行動することで、会社に埋もれて企業のエゴでよく見えなくなっていたところを取り払うことができるため、非常に勉強になって戻ってくる。そのため、多様なアカデミアとの相互関係を通じて、アカデミア側ももっと企業研究者を活用してもらえればと思う。また、先ほど述べた学術団体 ISAPP と連携することで、グローバルな展開を進める上での規制問題なども突破していけるのではないかと考えている（図 2-8-10）。

<質疑応答>

【小安】産官学連携の話で、企業から見てアカデミアにしてほしい要望はないか。

【野本】やはり、研究者個人としては企業としての枠、約束事を超えられない。通常の共同研究などでもやはり権利関係が発生し、現場の担当の足かせになってしまっている。何か足かせがなく、もっと力が発揮できる仕組みがあればと思う。

【金井】便移植にも関わるが、プロバイオティクスは定着してはいけないのか。一度で定着すると、製品を毎日飲んだり食べたりしてもらえなくなるが、定着してしまう菌を本気で探す企業は出てくるか。

【野本】しかし、狙いはその方向に行かざるを得ないと思う。最良のフローラ構成があるならば、部分的であっても定着するコンビネーション、構成が求められる。さらには、大腸がんの起因菌がつかなくなる、排除されるのであれば、フローラの構成を入れかえるというのも選択肢だと思う。

【福田】人によって定着する株や定着する程度が異なると考えると、例えば、日本人 1 億人が 100 タイプぐらいに分かれたとすると、100 個の菌フローラ構成を考えないといけないが、それを製品にすると物すごくコストがかかる気がするが、どのようにクリアしていくか。

【野本】食品としては、第一に味が大切であるが、これらの菌は恐らく代謝産物などで飲むに耐えないものしかできないと思う。製品としてはサプリメントのような形になっていくと思う。

【小安】 その場合、予防薬ではないのか。

【野本】 厚労省や消費者庁の規制的にどうなるか、我々ではまだ予想もついていない。

【國澤】 日本独自の制度であるが、特保や機能性を謳う食品の開発において、レギュレーションや機能面で開発にすみ分けや方針はあるのか。

【野本】 特保、機能性表示食品については企業各社による。我が社は特保のみで、機能性表示食品は現段階で一つもない。機能性表示食品についても、証拠については自己責任のため、かなり厳しい証拠を自分達で担保しないと製品化が難しい、と認識している。

【有田】 日本国内の微生物ライブラリは、世界にも負けないぐらいのものがあるという認識で良いのか。

【野本】 単位としては、各組織と機関でそれぞれ持っていると思うが、統一化されたものは、寄託機関にある。嫌気性菌の培養が困難な菌においては、まだまだ不十分な状態だと思う。

【有田】 基礎研究から推進していくには、例えばライブラリを上手く整備し、メタボロームやインフォマなどをつなげば、本当に資源として、遺伝子情報や色々なものがエンリッチされ、バイオロジーにつなげていける気がする。

【野本】 同感である。かなりの投資が必要なため、単一の会社ではなかなか難しい。今回有機會に、先生方にそのような仕組みを作ってもらえれば、難培養性の微生物ライブラリも十分拡充される気がする。

難培養微生物培養技術/食品企業研究者 の視点

株式会社ヤクルト本社 中央研究所
野本 康二

1

図 2-8-1

プロバイオティクスとは

「プロバイオティクスという言葉の範囲および適正な使用に関するISAPPの合意声明」

著者: Colin Hill, Francisco Guarner, Gregoir Reid, Glenn R. Gibson, Daniel J. Merenstein, Bruno Pot, Lorenzo Morelli, Roberto Berni Canani, Harry J. Flint, Seppo Salminen, Philip C. Calder, Mary Ellen Sanders
掲載誌: Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, advance online publication 10 June 2014

2013年10月に開催されたISAPP*に所属する12名の専門家の会合において、FAO/WHOにより示されたプロバイオティクスの定義(2001年、ガイドライン:2002年)について議論された。

* International Association of Probiotics and Prebiotics

2

図 2-8-2

プロバイオティクスの範囲について

ISAPP Consensus panelの提言

- ・FAO/WHOの定義(2001)を保持する
” Live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host”
- ・適切な臨床研究により健康効果が示されたプロバイオティクスの種レベルの枠組みを盛り込む。
- ・「生菌を含有する」レベルを超えた健康効果が立証されねばならない。
- ・生菌培養(伝統的な発酵食品)ではあっても健康効果の証拠がないものはプロバイオティクスとしない。
- ・糞便移植(含有されている微生物が明確にされていない)はプロバイオティクスとしない。
- ・ヒト内在性の微生物(群)については、使用菌株が同定されており、安全性及び健康効果が検証されておれば、プロバイオティクスとする。

図 2-8-3

ヒト内在性の微生物と健康への関わり(例)

- ・ *Akkermansia muciniphila* (IBD, obesity)
- ・ *Faecalibacterium prausnitzii* (Low in CD adults)
- ・ *Ruminococcus bromii* – resistant starch degrader
- ・ Roseburia/*Eubacterium rectale* group – butyrate producers
- ・ *Oxalobacter formigenes* - oxalate degrader

図 2-8-4

食品の健康効果に関する規制

本邦: 特定保健用食品、機能性表示食品

欧州: これまでにEFSA(欧州食品安全機関)の認証を受けたプロバイオティクスはない

⇒科学的証拠が不十分(臨床試験方法の不備、cause-effect relationshipが不明)

米国: 食品の健康機能を検証するための臨床試験にはInvestigational New Drugsの申請が必要

図 2-8-5

問題点の解決

科学的証拠の確立

EFSAの改訂ガイドラインでは、食品のヘルスクレームとしてdisease risk factor reductionを謳うことが可能

◎ 適正なバイオマーカーの選択:

- ・ *C. difficile*: 抗生物質誘導下痢症
- ・ TMA: 動脈硬化
- ・ アフラトキシン: 肝臓がん

◎ Cause-Effect Relationship:

臨床効果を説明する明解な作用メカニズム!

図 2-8-6

内在性細菌の機能解明 ⇒次代のプロバイオティクス開発

- ・ エコール産生細菌: *Slackia* spp. NATTS(Ref1)
- ・ 内在性最優勢嫌気性細菌(*Fusicatenibacter saccharovorans*: Ref2)
- ・ 有害菌: 腸内腐敗産物産生菌、など

図 2-8-7

難培養性内在性細菌の培養法

- ・ 腸内共生関係を考慮した選択培養法:
炭素源(有機酸、ガス)、抗生剤など
Culturomics, Cultivation-based multiplex phenotyping, Personalized culture collections
- ・ 観察技術: 多重染色FISHなど(粘液層局在細菌)
- ・ 分離法: 嫌気環境におけるcell sorting、消化管カプセル(IntelliCap™: NIZO-Waageningen Univ.)

図 2-8-8

Colonization resistance機構の解明 に基づく、人為的な腸内菌叢制御

⇒生体恒常性の維持

- さまざまな疾病の予防、QOLの改善

⇒共生関係の強化

- 窒素固定細菌や食物繊維消化細菌の
腸内定住化⇒栄養不良や飢餓の解決

9

図 2-8-9

推進体制・アカデミアへの期待

- 産官学連携:企業体研究者の有効活用
- 国際的な学術団体における連携強化:
機能を有する微生物の食品適用に関する規制への対応

10

図 2-8-10

2.9 「疾患:IBD」

金井 隆典(慶應義塾大学 医学部 内科学(消化器) 教授)

<発表概要>

炎症性腸疾患は腸管免疫難病として消化器病の専門医が独占的に治療する腸管局所の病気だとずっと考えられてきたが、最近の腸内細菌研究のブームの中で、たくさんの消化器病医以外の研究者がゴールドラッシュの様に参入してきている。そこで、消化器内科医である私は逆に腸の外へ出てみようと考えた。脳腸相関(脳と腸が関係している)という概念は随分前から言われている。例えばストレスで IBD が悪化する。腸内細菌代謝産物のほとんどが門脈を経由して肝臓に移行することから、実は、脳腸相関では肝臓をバイパスするシステムが存在するのではないかと考えた。そこで炎症性腸疾患の臓器相関ネットワークを考える上で、腸内細菌と肝臓を主役にとってこれられないかということに注目している(図 2-9-1)。

今回は最近始めている研究として、腸と皮膚の相関モデルを紹介する。ビオチンというビタミンを欠乏させた食事とバンコマイシン(抗生物質)を投与すると、マウスの背に脱毛が起きることを見出した。他のポリミキシン B(抗生物質)投与では起きないことから、腸内細菌環境でなんらかの *dysbiosis* が起きると脱毛が生じると考えられた(図 2-9-2)。さらに、脱毛マウスの腸内で、ある特定の腸内細菌の増加も明らかにしている。

ここまではマウスを用いた腸内細菌の話だが、ヒトへの治療を考えた場合、マウス腸内細菌学はヒトとは全く異なる可能性もあり、マウス腸内細菌ではおそらく臨床応用をするのに困難だろう。また、ヒトでの臨床応用では特許が非常に重要なため、この点においてもマウスの腸内細菌のデータでは使えないことから、やはりヒトの便を用いた研究が大事だと考えている。先駆的な仕事としては、本田先生が先日「Cell」にて報告した、潰瘍性大腸炎のヒトの便を無菌マウスに投与すると Th17 が誘導され、その原因菌を 20 種類同定した研究成果が挙げられる。このようなヒト疾患患者由来の糞便を無菌マウスに移植し解析する方法は重要だと考えている(図 2-9-3)。さらに、大事なこととしては、ノトパイオート実験は十分な施設と費用が必要となるため、大量解析可能なシステムの構築も重要である。

次に、糞便微生物移植法(FMT)を紹介する。アメリカでは、*Clostridium difficile* の変異株による腸炎が大変な問題となっており、50 万人が発症、3 万人が亡くなり、5,000 億円の過剰医療費が必要となる中で、2013 年に FMT が大変有効であることが報告された(図 2-9-4)。日本でも再発性の *C. difficile* 変異株がそろそろ上陸してくるだろうということは、2013 年の「Nature Genetics」に掲載された変異株の世界での伝搬経路を見れば明らかであり、事前にしっかりした対策を練る必要がある(図 2-9-5)。実際に、慶應義塾大学病院で再発性 *C. difficile* 感染症に対する FMT の 1 例目を行ったところ、やはり大変有効であった。一方、潰瘍性大腸炎(UC)で検証すると、我々が行った 10 例(ほとんど重症で罹病期間が非常に長く、治療歴が複雑な患者で試行)では、非常に結果として悪かった。ただし、プライマリーエンドポイントである安全性に関しては重大な有害事象は起きなかった。UC に対する FMT については、今年「Gastroenterology」に 2 報出ているが、海外の検証では『有効』と『有意差なし』という報告に分かれた。我々との違いは、ど

らも複数回の FMT (6 回、2 回) を実施、両報告とも軽症から中等症の患者がエントリー、さらにはスーパードナーといわれる、効果があったドナーを使っていたことである。この有効なドナーをよく解析することによって、疾患特異的な治療マイクロバイオームが見つけれられるのではないかと考えている。

以上から、FMT の解決すべき課題を次に挙げる。一つは、移植後に本当に細菌叢が定着すれば治療としては成功するだろうが、心臓移植と違って本当に定着されたかどうかを確認することが非常に難しい点である。そこをしっかりと確認する必要があることと、定着が成立しなければ失敗する。2 つ目に、FMT は恐らく腸管の炎症そのものが苦手だということである。次のステップとしては、炎症をちゃんと制御してから寛解期に FMT を行うという臨床試験をすべきではないかと考えている。3 つ目は、安全性のこと、定着のメカニズム、スーパードナーの可能性を今後考えていき、最終的にはもっと衛生的なヒト糞便由来カクテルなどの開発をやっていきたいと考えている (図 2-9-6)。

最後に臨床家として進めたい方向性は 2 つある。1 つは、疾患特異的なヒト腸内細菌の同定や創薬の加速化で、疾患特異的な、疾患糞便由来ヒト化腸内細菌マウスをより発展させたいと考える。もう 1 つは、初代 FMT から腸内細菌カクテル治療を開発していききたい (図 2-9-7)。

<質疑応答>

【竹田】FMT で良好な結果を示した過敏性腸症候群などでも腸内 dysbiosis は言われているのか。

【金井】dysbiosis は報告されている。海外では、まだケースシリーズで少しだけやられているだけだが、この過敏性腸症候群はプラセボ効果の強い患者が多いため、これらの報告ではプラセボ効果である可能性も高い。

【福田】FMT 用細菌カクテルの話だが、海外のバイオベンチャー Seres Therapeutics という会社が既に CDI 用の腸内細菌カクテルを開発途中である。しかし、日本人をターゲットにした場合はやはり日本人由来の細菌カクテルが一番効果を示すと推測するが、どう思うか。

【金井】服部先生から日本と海外のヒトの便は全然違うと散々言われているので、日本人は日本人で開発すべきだと私は思っている。逆に、海外の人の健康便を入れることで何らかの有害事象が起きる可能性も考えられる。

【福田】その考えからすると、自分自身の健康状態の時の便が一番いいと思う。例えば、便バンクの様な形で便をストックして将来的にそれを使う考え方も出てくるが、どう思うか。

【金井】確かに、壮大なプロジェクトだが、小学校入学時の便サンプリングを義務化するなどで可能かもしれない。腸内細菌にも自己と非自己という識別機構があるとしたら、健康時の便をストックしておく必要があるのかもしれない。

【小安】FMT のドナーはどういう基準で選んだのか。

【金井】2 親等以内または配偶者からであり、ドナーの選別基準は同一である。患者が潰瘍性大腸炎の場合には局所に非常に強い炎症があり、恐らく嫌気性環境から逸脱するために良い菌が定着しないと考えている。潰瘍性大腸炎の患者でも、まず腸内細菌を抗 TNFα

抗体などで処理してから移植すると、もしかすると成功率が上がることや、FMT を複数回やれば効果があるかもしれない、といった工夫が今後は必要になるかと思う。

【黒川】私が土壌同士の移植を行ったところ、2年間という長期間をかけてやっと健康なものの細菌叢に戻った。定着というのはローカルミニマムにおそらく落ち込んでおり、我々は土壌、あとシミュレーションなどもやっているが、その経験からすると、ローカルミニマムから別のステディステートに移すことがコンピュータ中では全然できず、どんなに無茶苦茶な摂動を加えてもほとんど移らない。そこで、「定着」という意味がどのようなレベルなのかがわかり辛い、どうか。

【金井】ゴールは根治で、完全に置きかわることで二度と再発しない状態だと思う。再発性 *C. difficile* 感染症の報告では、1度完治した人は *C. difficile* にかかりにくいと言われていたため、臨床的には完治といえる。これを潰瘍性大腸炎で目指すが、炎症がしやすい環境の場合、もしかすると10回程行わないと効果が出ないなどがあるかもしれない。オーストラリアのボロディ先生は潰瘍性大腸炎の患者に48回も糞便移植を行い、良好な経過だと言っているが、それは現実的ではないと思う。

【有田】dysbiosis のマウスモデルなどでスーパードナーを選ぶようなことは可能か。

【金井】スーパードナーの選別など、FMT の良い最適化モデルにはなると考えている。

【有田】ヒトとマウスでの効果に相関性を取るには必ずパラメーター、評価系が大事なポイントになると思う。

【金井】FMT をするかを選択は、患者が肝臓移植に数年でなると予想される場合には、先に便移植をやるという倫理委員会を行っている。

【本田】便移植の効果を示すリードアウト、バイオマーカーはあるのか。臨床では疾患が治る、治らないだと思うが、効果のレベル、〇〇はよかった、といったマーカーをつけることも大事であり、現状で何か、血中の〇〇は抑制された、上昇したといったことは調べているか。

【金井】現状は寛解または活動度減少といった臨床指標しかないもので、何らかのバイオマーカーを測定することは重要かもしれない。

【福田】順天堂大学は潰瘍性大腸炎患者への便移植で、移植前に抗生物質投与するとすごく効果が良かったと言っていたが、投与方法はやはり重要なのか。

【金井】我々が日本で初めて便移植をした時、FMT への効果有無の判断に加えて、抗生剤の有無の効果を確認することは、安全性を評価する上でやりたくなかった。もしかすると抗生剤を投与するほうがすごく良い効果が示せるかも知れない。

【服部】外国の2本の論文では、抗生剤を使っているのか。

【金井】使っていない。腸管洗浄は行なうが、抗生剤投与を前処置で行なっていない。

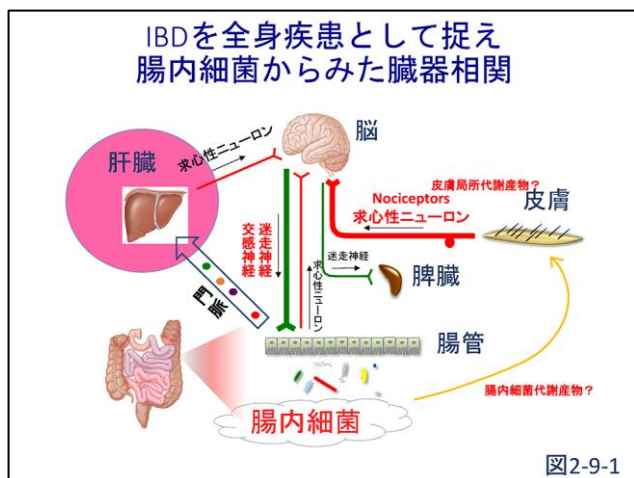


図 2-9-1



図 2-9-2

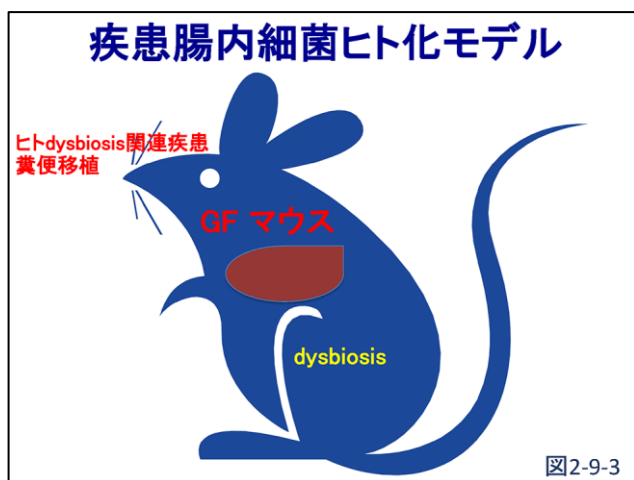


図 2-9-3

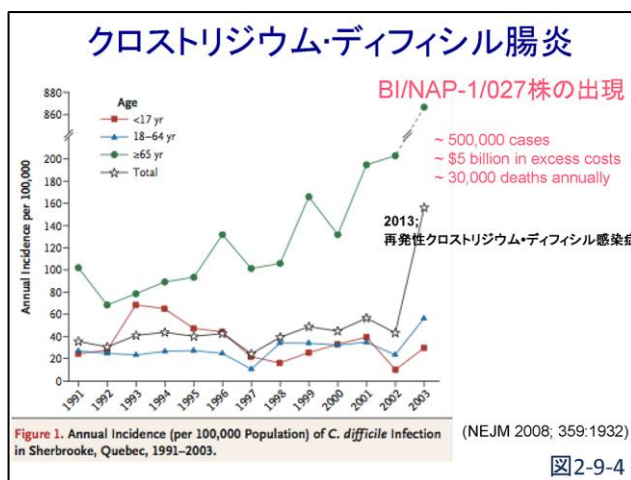


図 2-9-4

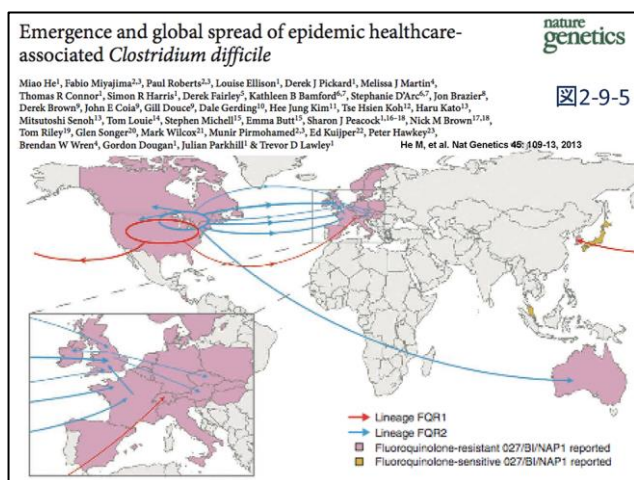


図 2-9-5

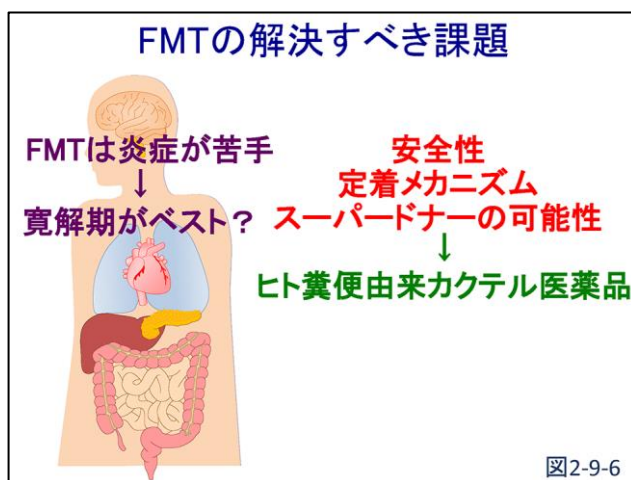


図 2-9-6

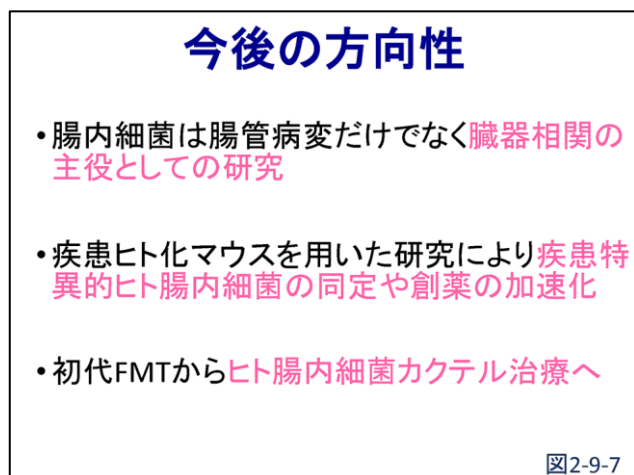


図 2-9-7

2. 10 「疾患:アトピー」

天谷 雅行(慶應義塾大学 医学部 皮膚科 教授)

<発表概要>

皮膚という臓器は一番見やすいが、実は何も見えていない、そして何も見ていない。これからこれを見ていくことが我々のミッションだと思っている。

図 2-10-2 に提案概要を羅列したが、この中で『皮膚微生物叢バンクの構築』が特に重要だと考えている。バンクについては何度も議論に出てきたが、やはり共通基盤があることで様々なことができると思っている (図 2-10-2)。

腸内と皮膚の細菌叢での一番大きな違いは、皮膚細菌叢が部位により異なる多様性を形成している、部位特異性である。つまり、それぞれの細菌叢が位置情報を持っていることになる。この理由としては、皮膚にはウェット (脇の下、股)、ドライ (脛)、皮脂腺がたくさんある脂漏性と、皮膚の質が違う場所がある。さらに、同じ質でも場所によって違っており、例えば顔の中でも部位によってかなり細菌叢が異なる (図 2-10-3)。

本演題にあるアトピー性皮膚炎では、既に 1970 年代に黄色ブドウ球菌が病変部から分離・培養されていると言われ、2012 年には、アトピー性皮膚炎の病変部でやはり黄色ブドウ球菌を中心とした *dysbiosis* が起きていることが報告された (図 2-10-4)。しかしながら、黄色ブドウ球菌は発症の原因なのか、結果なのかは、80、90 年代からかなり多くの臨床研究において、抗生剤を投与してアトピー性皮膚炎が改善するか検証されたが、システムティックレビューにおいて抗菌剤の効果を裏付けるエビデンスはないとされている。(図 2-10-5) つまり、現時点では抗菌剤は、アトピー性皮膚炎に対する治療として有益な効果をもたないと言われている。

我が国の強みに関してはこれまでの議論で話があったが、弱みに関しては、プロジェクトの継続性と、DNA 情報も含む臨床データその他の互換性、共有化が挙げられる (図 2-10-6)。

個々の戦略に関して、幾つか説明する。

一つ目は、潰瘍性大腸炎と同じ方向性だが、皮膚の微生物バンクを構築し、皮膚疾患特異的な *dysbiosis* の要因を同定することである。アトピー性皮膚炎患者、または SPF 環境下のアトピー性皮膚炎モデルマウスの炎症部の菌叢を 16SrRNA 解析し、菌を分離・培養し、無菌化マウスに移して影響を確認することで、誘導菌を同定する、最終的には関連する代謝物まで同定したいというのが一連の流れだと思っている。これは、本田先生らの研究と同じ様な手法でもある。

Adam17 を皮膚特異的にノックアウトしたマウスでは、皮膚炎が自然発症し、常に皮膚を掻爬している状態で、TEWL(経皮水分蒸散量/経表皮水分喪失量)が上昇、皮膚のバリアが障害され、IgE 値も上がっていく、いわゆるアトピー性モデルマウスの様子を呈する (図 2-10-7) このマウスの皮膚細菌叢を調べると、*dysbiosis* が起きており、通常 SPF マウスではない黄色ブドウ球菌がかなり優位に増加している。さらに加えて、これまで知られていなかった *Corynebacterium bovis* が増えていた。そして、この *dysbiosis* は抗生剤によって正常な細菌叢へ戻すことが可能である。抗生剤投与をやめると皮膚炎が再発し、先に発症させてから投与すると皮膚炎が軽快する。つまり、*dysbiosis* が皮膚炎発症に重要な

病的役割をしており、dysbiosis を是正すると臨床的効果があることをモデルマウスで示せた（図 2-10-8）。

また、SG1 という、顆粒層の一番外側の表皮細胞で発現する、層板顆粒の分泌に関係すると言われる特異的タンパクをノックアウトすると同じように掻爬を続ける皮膚炎モデルマウスとなることもわかっている（図 2-10-9）。

炎症を止める方法としてステロイド治療があるが、これはステロイドを使い続けることに臨床的な問題があるため、炎症を止めた後に維持できるような療法を確立できれば非常に社会的・医療的意義が大きい。そして、これらの研究を通して皮膚の dysbiosis の詳細を理解し、Symbiotic な状態を維持する方法の検討、実証をすべきだと考えている。

2 つ目の戦略は、皮膚のマイクロバイオームのエコロジーを確立することである。皮膚の場所によってそれぞれ特定の菌がいるが、いつ、どこで、どのような細菌が増殖、そして休眠しているのかを明確にしていく必要がある。また、皮膚の毛嚢では、テープテトリップで皮膚角層を 2,3 層剥離した 4 時間以内に、白血球の集積が観察される。これには理由があるはずであり、皮膚の毛穴は比較的嫌気的な環境であるため、皮膚表面と毛穴内の細菌叢の状態が違っている可能性がある（図 2-10-10,11）。

3 つ目は黄色ブドウ球菌の菌株レベルの解析である。黄色ブドウ球菌はトビヒや化膿性の毛嚢炎など様々な疾患に関連している（図 2-10-12）。そのため、疾患と菌株レベルの相関関係を詳細に解析することは意義があると考えられる。

最後となるが、これからの治療戦略としては、ステロイドを超える、そして抗菌剤を超える、寛解を維持するような治療法が開発できると非常に社会的インパクトが大きく、望まれる（図 2-10-13）。

<質疑応答>

【有田】皮膚にはバリア機能に関わる、高度に分化した脂質の構造がある。皮膚炎のモデルマウスでは、見た目に発症する前から実は脂質の代謝異常が起こる。では、菌の固着し易い環境が原因になるのか、逆に脂質の環境がおかしくなった結果なのか、その前後関係はどのように検証すべきか。

【天谷】抗生物質などの菌を除去する実験系から、最終的な炎症という表現型に至るまで菌がいなければいけないと思うし、菌が出す代謝物は絶対に重要だと思う。しかし、菌がなぜそこで増えるかは、畑である角層側で決まっているのではないか。つまり、皮膚炎になる前に既に脂質の代謝などが変化し、畑が違っている状況があり、そこに病気を起こす菌が増えて発火すると考えている。その角層の状態による菌の変化は不明であり、臨床で保湿が重要だといわれている要因もあるかもしれない。今度は dysbiosis を起こさない最適な保湿剤の構成成分といった考え方になるかもしれない。畑と菌の関係をもっと深く理解することで、新しい解決策が出てこないかと期待する。

【黒川】にきびのアクネス菌でも株レベルでの違いが発症原因である報告があり、黄色ブドウ球菌の話も株レベルの違いだが、やはり株レベルでストックやゲノム情報を蓄積する必要があるか。

【天谷】私は強くそう感じる。皮膚の場合、見て診断ができるため、臨床的に細かく分類ができ、関連する菌やマイクロバイームを株レベルで明らかにできる。さらに進めると病因がわかり、メタボライトまでわかれば、それを阻害する治療薬ができると考えている。

【福田】腸から肌をコントロールするという考え方はどうか。

【天谷】あり得ると思う。腸の代謝によって皮膚の状態が変わることは考えられる。ただし、皮膚のマイクロバイームを理解することなしに皮膚疾患の治療までは結びつかないと思う。まずは皮膚のマイクロバイームを解明してからでないと、そこをブラックボックスにしたまま腸内細菌に進むと大きな落とし穴があるのではないかな。まずは皮膚細菌のエコロジーも含めて理解し、コントロールされた皮膚に腸内細菌による戦略を上乗せすることで見え始めるという印象を持っている。



図 2-10-1

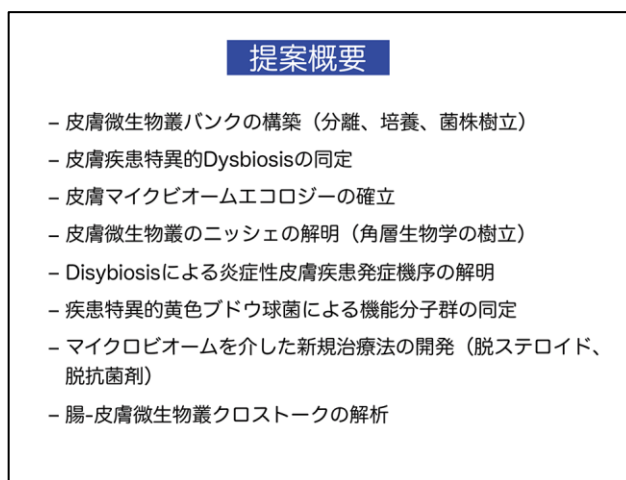


図 2-10-2

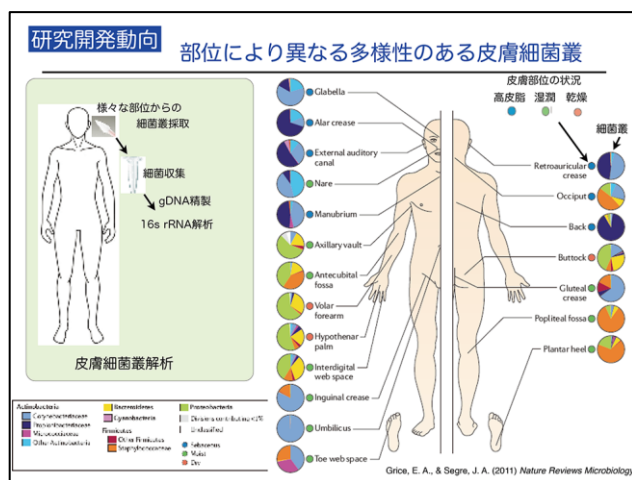


図 2-10-3

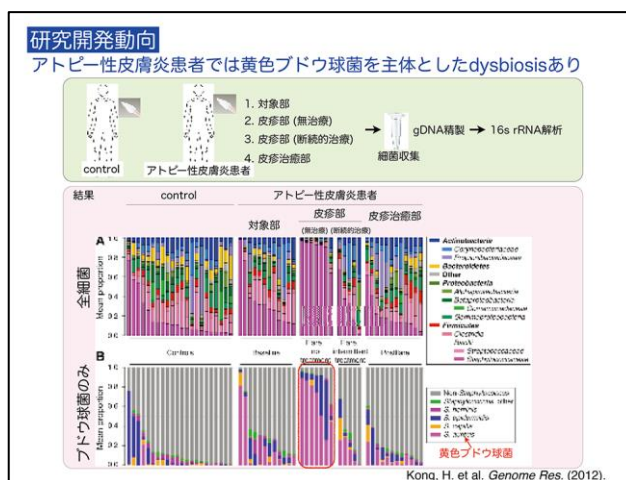


図 2-10-4

研究開発動向

アトピー性皮膚炎における抗菌剤の意義

システマティックレビューにおいて、アトピー性皮膚炎に対する抗菌剤の効果を裏付けるエビデンスはない

Birnie et al, Cochrane Database Syst Rev, 2008
Bath-Hextall et al, Br J Dermatol, 2010

図 2-10-5

わが国の強みと弱み、問題点

強み

- ノトバイオオート技術
- 細菌培養技術
- 基礎医学と臨床医学の融合

弱み

- プロジェクトの継続性
- 臨床データの互換性、共有化

図 2-10-6

Adam17^{flox/flox} Sox9-Cre (Adam17^{ΔSox9}) マウスはSPF環境下で皮膚炎を自然発症する

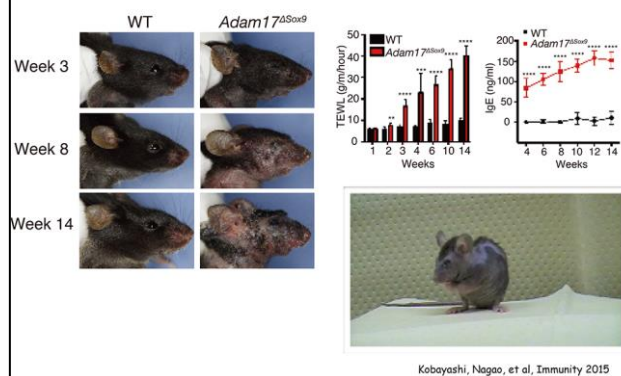


図 2-10-7

Adam17^{ΔSox9}マウスは、黄色ブドウ球菌を主体としたDysbiosisを呈し、抗生剤を投与したマウスは、正常な細菌叢に戻っている

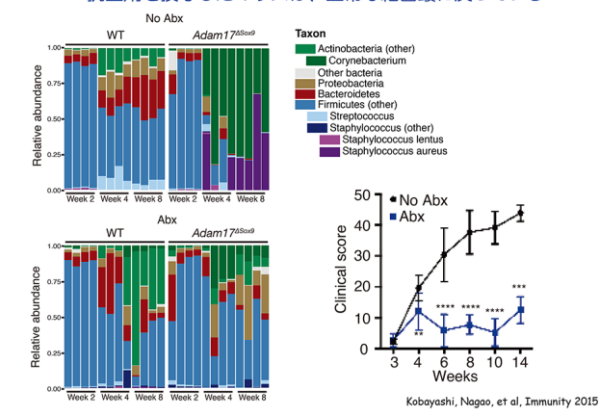


図 2-10-8

Tmem79欠損マウスは、SPF環境下で皮膚炎を自然発症する

Tmem79は表皮顆粒層SG1細胞において層板顆粒分泌に重要な役割を担う

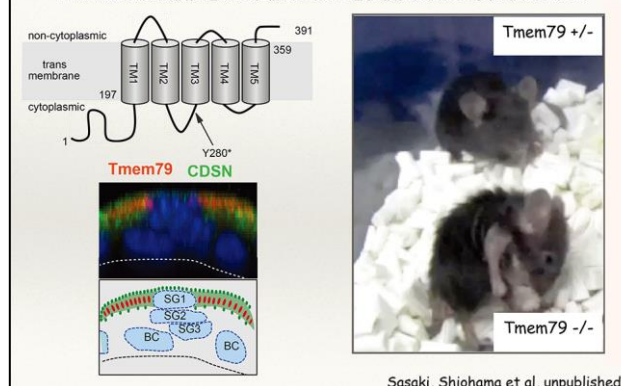


図 2-10-9

角層をテープストリップにより2, 3層剥離した後に4時間以内に毛嚢周囲に白血球の集積が見られる

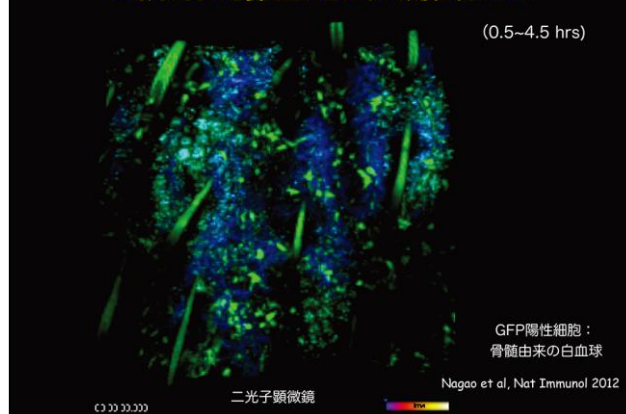


図 2-10-10

関連する国内の研究開発動向、今後のあるべき方向性など

研究開発戦略

－皮膚微生物叢のニッチの解明（角層生物学の確立）

- ・角層恒常性維持機構の解明
 - »角層in vivo pH imaging法の確立等
- ・SG1細胞（Live-to-Dead transition)の単離、培養の確立

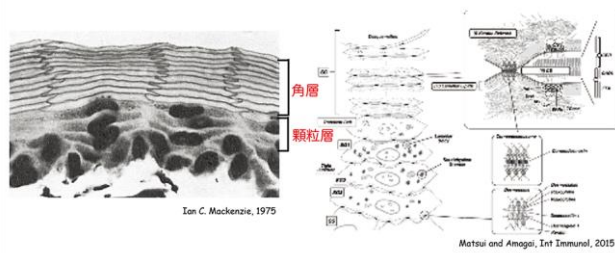


図 2-10-11

研究開発戦略

－疾患特異的黄色ブドウ球菌による機能分子群の同定

- ・疾患特異的黄色ブドウ球菌の菌株バンク構築
- ・疾患特異的機能分子の同定
- ・黄色ブドウ球菌による病態解明

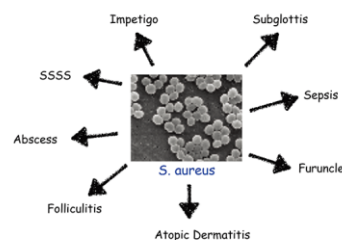


図 2-10-12

社会的インパクト

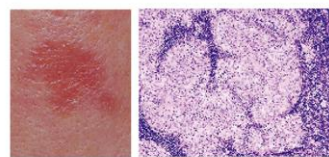
- －皮膚マイクロビームを利用した革新的治療法の開発
- －予防、寛解期維持を目指す予防・先制医療による健康長寿社会の実現
- －皮膚マイクロビームをコントロールする新産業の創出
- －日本初の革新的健康・医療技術の創出

図 2-10-13

参考資料

－肉芽腫性疾患（サルコイドーシス、環状肉芽腫症など）の原因菌の同定

- ・原因不明の非乾酪性肉芽腫性疾患
- ・両側肺門リンパ節、肺、眼、皮膚、唾液腺、心臓、神経、筋肉など多臓器に病変出現
- ・同定されていない微生物に対する反応性疾患の可能性あり



サルコイドーシス

図 2-10-14

2.11 「健常者情報の重要性」 小安 重夫(理化学研究所 理事)

<発表概要>

今回は、「なぜ健常者をやらなければいけないのか」、そして遅れていると言われている中で「なぜ日本でやる必要があるのか」について私なりの考えを述べる。

ヒト常在菌メタゲノム解析は色々な疾患との関連から重要性が謳われているが、比較対象とするヒトの研究はあまりない。一方で、外国では MetaHIT や HMP があったが、MetaHIT は終了しており、ネスレやダノンなどが退いたことがかなり大きな要因と聞いている。日本では、服部先生の HMGJ の動きはあったが、それに対するきちんとした予算の裏づけはこれまでなされてこなかった (図 2-11-2)。

疾患から見ると、細菌叢と様々な疾患との関連性が疑われており、各疾患に対してどれぐらいの経済効果があるかという視点もある (図 2-11-3)。

なぜ日本でやらなければいけないかだが、既に服部先生から話があったが、日本人の細菌叢は他国と非常に違いがある。従って、他国の情報をもとに日本人のデータを解析することは全く意味がない。これは実はヒトゲノムでも同じような側面があり、理化学研究所で GWAS を 47 疾患 20 万人のサンプルで他国のデータと比較すると、人種の差が非常にはっきりと出ている。例えばクローン病でも、欧米人で非常に強く出る遺伝子が日本人では出てこない。マイクロバイオームでも欧米のデータを持ってきて使えるかと考えると、おそらくは使えない。具体的にスペイン人と日本人で比較した例を挙げると、もとの健常時が大きく異なると dysbiosis の仕方も違う。このため、やはり日本人の健常者のリファレンスをきちんと見る必要があり、そこからしか dysbiosis の姿というのはおそらく見えてこない (図 2-11-4)。

つぎに、なぜ今やるかということの理由の 1 つとして、疾患の欧米化という問題がある。例えば、炎症性腸疾患が日本でも非常に増え、そろそろ欧米人に追いつくかもしれない。この原因は一般的には食生活の変化だと言われている。では、誰が証拠を持っているかというと、多分証拠を持っている人はいない。これはまさにコホートの研究が必要なわけだが、欧米ではこの疾患は既に飽和しているため、おそらくは時間経過で追うことはできない。そこで、昔の食生活から欧米型の食生活に変化している、この流れの中で各世代を見ていくことは、恐らく今の日本でしかできない研究ではないかと考えられる。こういう背景を見たとき、なぜ今やらなければいけないかという一つの強い根拠になり得ると思っている (図 2-11-6)。

研究対象については、腸内細菌だけではなく、やはり全体を見る必要がある。服部先生の話にあった唾液、天谷先生の皮膚など、どこまでの範囲をやるか。いろいろな観点から何を重点的にやって、どういう方向にいくかということをしきりと議論していく必要がある (図 2-11-7)。

さらに進めるべき研究開発としては色々あると思うが、本日出てきたものを挙げる。難培養性細菌の培養法の開発。個別の細菌ゲノムレファレンスの構築はシステムティックにやる必要があり、PacBio に代表されるような、非常にロングリードを読めるシーケンサーを使う必要性などを考えなければいけない。真菌、ウイルスについてはどれだけきちんと

取り組む必要性がどこまであるのかもきちんとした議論が必要である。メタトランスクリプトミクス、その下にメタボロームがあり、全体としての代謝マップの精緻化はやはり行われなければならない。また、ヒトゲノムの疾患研究でもいつも推計統計学かベイズ統計学かといった議論が出る。これについては、黒川先生のような長くこの分野にいる研究者に最適な解析方法を開発してもらう必要がある (図 2-11-8)。

次に、システムとして整備すべきこととして、バンクの構築とその情報の格納をきちんとやらなければいけない。また、どこの誰に使ってもらえるデータベースを構築するのか、これはもっと考えるべき問題であり、世界中で使ってもらえるデータベースとしてのサンプルの取り方、サンプリングプロトコルをしっかりと領域で議論し、ぜひスタートすべきだと思う。それから、マイクロバイオームは全て個体との関わりであり、ヒトのゲノムの違いと常に相関するため、ヒトゲノム解析との連携は必須である。また、エピゲノムは非常に重要だが、どのようにアプローチを精緻化していくのが良いか、私にもまだ判断できない。

産業界とつないでいく場合、データベースとも関連するが、各研究者が情報をどこまで外へ見せ、何を隠すか、基盤の **Precompetitive** 領域はオールジャパンで共有し、個別研究として各々が情報を持ち帰るといふ、この形をきちんと作り上げることが非常に大事である。そこに知財戦略も含まれる。

最後に、本研究分野は非常に基礎的なところから出口に近いところまであり、疾患とヒトのマイクロバイオームはこれからさらに重要になっていく。その基盤技術は実は波及効果が非常に大きく、いろいろな領域に使えるものであり、マイクロバイオーム、メタゲノム、メタトランスクリプトーム、メタボロミクスなど、必ずしも医療だけではないと考えられる。そこで、**JST** と **AMED** での枠について分野内をうまく分けて進めるやり方もあるのではないかと考える (図 2-11-9)。色々なサンプルは、色々な研究機関にあると思う。しかしながら、健常者情報の構築は大学の研究室で全て行うことは無理ではないかと思っている。このように大学ではなかなか荷が重いような内容を理化学研究所や産総研のような機関がきちんと責任を持って押し進める体制が必要であり、その情報はもちろんシェアをする。さらに、その体勢の中に色々な解析技術が入り、ヒトゲノム情報と細菌ゲノム情報の相関、疾患と正常の細菌ゲノム機能情報の突き合わせ、そこから予防や治療法への応用へと広がっていくことを期待する。そして、こういう研究開発では、実際の波及効果が非常に大きい。畜産、養殖、植物、環境などでも基本的には全て同じ技術が使える (図 2-11-10)。

最後に、私はこういう解析拠点をどこかに置いたほうが良いと思っている。そこで、例えば正常人のリファレンスをつくる。例えばこれは少し欲張って **10K** プロジェクトとしたが、1万人の健常者の解析をやる。それにより、各大学で強みのある研究分野を対象として、例えばある疾患に強みがある大学で患者コホートサンプルを集めて解析し、常に共通のリファレンスと対応して解析を進めることができる、こういった体制をつくるのが理想的だと思っている。

今日議論した内容はぜひ戦略目標にしてもらいたい、そこだけではなく、さらにその先を見据えた基盤をオールジャパンでどのようにつくっていくかを議論したい (図 2-11-11)。

＜質疑応答＞

【永井】基盤はどこに作るのがよいか。

【小安】このような基盤をヒトゲノムのときには理化学研究所が担っていた。それと同様に、産業技術総合研究所などのいわゆる国研と呼ばれる機関が担わなければいけないと思っている。ただし、その場合でも、この領域全体の中で「ここまでやりましょう」という目標を決め、どのように予算化していくかを考えなければいけない。単純計算すると、例えば5年で80億円とか100億円とかそういう投資ができるかどうかだと、私は個人的に思っている。もしかすると、もっと色々な情報を入れなければならないとすると、それでもお金が足りないかもしれないため、ぜひ役所に働きかけて、色々な考えをもらいたいと考えている。大学でこれをやるというのは、おそらく無理だと思う。

【坂田】知財戦略はどう考えていくのか。例えば疾病と特定菌という形で知財はとれるのか。疾病と菌の関係を標的とした化合物を取得し、特許を取るというスタンスであればすごく強い特許が取れる。つまり、標的についての特許はあまり気にしなくても良いという気もしている。

【小安】標的としては共有化し、そのスクリーニングで出てきた化合物を当然スクリーニングしたところが知財として押さえるというやり方がリーズナブルだと思う。

【辻】本田先生の微生物カクテルはどのような形式の特許なのか。

【本田】我々の微生物カクテルは用途特許である。こういう範囲の疾患に効きそうなコンソーシアムという形で取られているので、菌株そのものではなくて用途に対しての特許である。

【黒川】知財的法律はいま検討されているところだと思う。内閣府で今進めているオープンデータ・オブ・サイエンスの中でもやはり知財をどう切り分けて、どのようにオープン担保するかなどを検討している最中である。国際的にも議論が進んでおり、オープンデータ自体は経済協力開発機構（OECD）と一緒に検討している点もある。

【小安】私も外国の研究所から日本人の腸内細菌を解析したいから協力してくれと共同研究を申し込まれており、非常に狙われていると危機感を持っている。

【坂田】創薬ターゲットがデータ情報だとすると、データを開示することで海外大手企業、例えばファイザーやメルクなども当然利用する。それに対して、何か戦略的な知財戦略は考えるべきである。

【小安】開示データの範囲をどこまでにするか、その戦略が非常に重要になってくると思う。

【黒川】例えば、配列だけで、どのようなヒトから取られたデータであるかなどの情報を入れなければ、おそらく使えない。つまり、そこは開示にして、例えば欧米人のお腹の中から見つかったある特殊な配列が日本人の中にもあるかぐらいを検索できるようにする、といった様な仕切りはつけられると思う。

【鍋島】マイクロバイオーム自体が知財になるとは思わないが、代謝物が生理活性を持てば十分強い特許になり得る。さらに、代謝物が作用する宿主の受容体がわかれば、当然創薬標的になり得る。このため、この段階はコンソーシアムレベルではなく、個別共同研究レベルで進める話になり、ある程度は切り分けができると思う。

- 【野本】 現在、菌自体は大体寄託するときに情報がオープンになってしまうため、特許性を持つことはない。特殊な用途を発見した場合は、それを発見した人の特許と考えてほしい。
- 【小安】 企業で細菌ゲノム配列の開示には抵抗がないのか。
- 【野本】 全くない。
- 【金井】 海外プロジェクトのデータは完全にオープンになっているのか。
- 【本田】 付随されるメタデータが隠されているものと思っている。配列はほとんど出ている。
- 【服部】 メタデータはすごくアクセスしにくい。
- 【金井】 それらと同様の差別化をして、日本の守るべきデータは守る戦略も必要である。
- 【福田】 メタボライトや細菌叢の構成情報などは、将来的にこの疾患ではこれが多いとわかってくるため、そのキーポイントは全部隠すなど、そのような形にすべきなのか。
- 【小安】 その辺りのアプローチはこの分野全体で考えたほうがいい。
- 【黒川】 一方で、アカデミアは論文を書かなければいけないが、全部隠すと論文にならない。ある程度、例えばエンバーゴを設けてその先をオープンにするといった制約をつけるという手もあり、ある程度合意はとれると個人的には思っている。
- 【本田】 10Kプロジェクトは小規模ではだめなのか。
- 【小安】 小規模でできない理由はないと思う。
- 【永井】 大きく構えないとヒトゲノムや再生医療と同じような枠に入れない。横断的なプロジェクトとして今から1つ柱を立てようというわけなのだから。
- 【小安】 様々な分野への波及効果が大きい点が他と大きく違う部分だと感じている。そこをどれだけ前面に出せるか。出し過ぎて何でもとなってしまうのは避けたい。個別化医療は今の科学技術基本計画に述べられており、高齢化社会における健康長寿も非常に大きなキーワードとなっているため、そこにうまく成果を当てはめられるかを考えなければいけない。



図 2-11-1

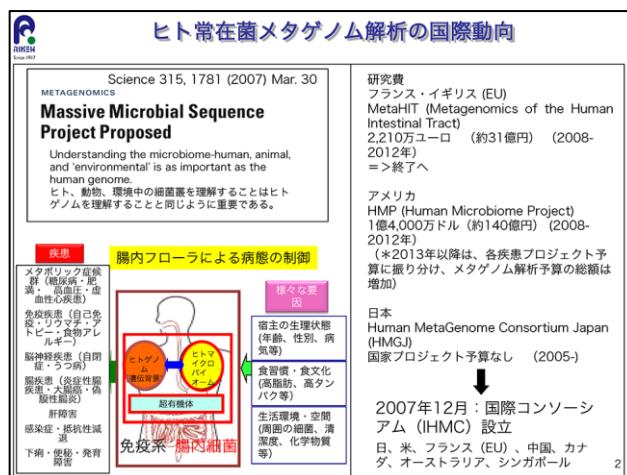


図 2-11-2

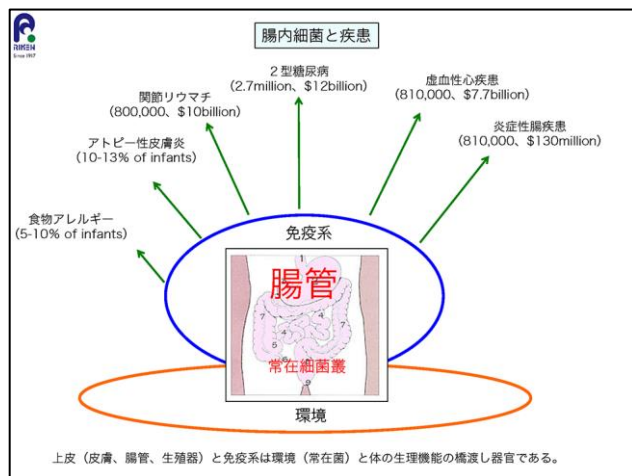


図 2-11-3

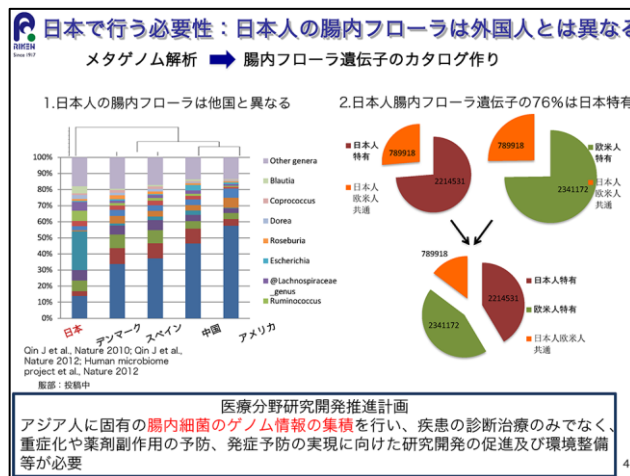


図 2-11-4

関連する国内の研究開発動向、今後のあるべき方向性など

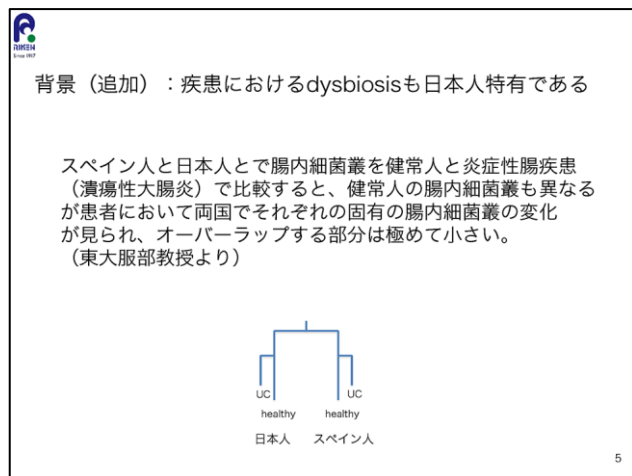


図 2-11-5

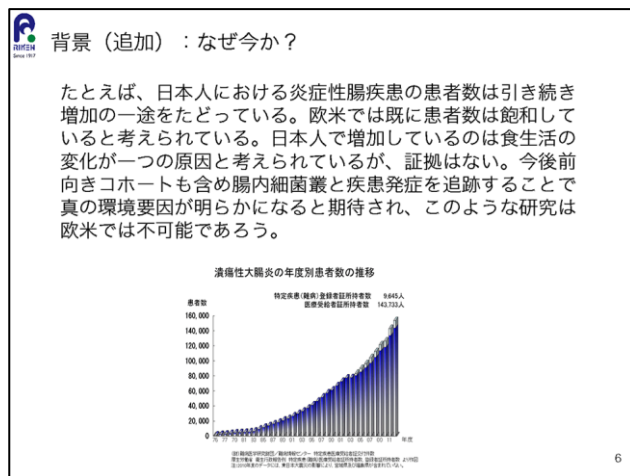


図 2-11-6

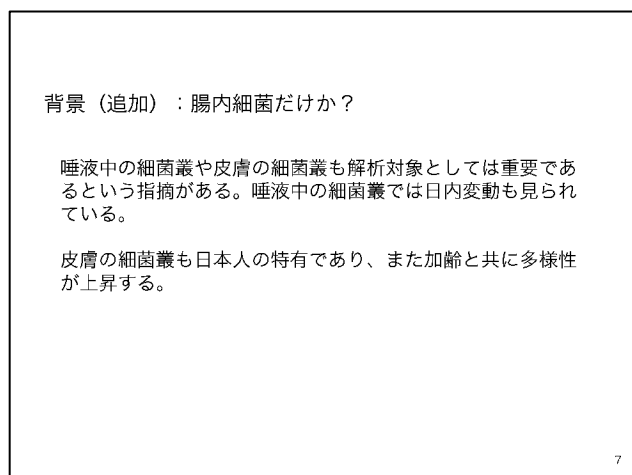


図 2-11-7

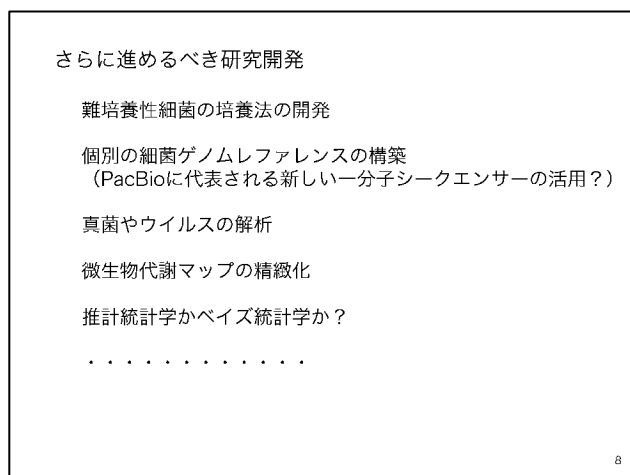


図 2-11-8

システムとして整備すべきこと

バンクの構築

データの取り方・プロトコール全体の統一
(使ってもらえるデータベースの構築)

ヒトゲノム解析との連携

エピゲノム解析基盤の構築（一細胞レベルの解析？）と連携

Precompetitive領域のコンソーシアムの整備

知財戦略は？

JST?とAMED?

.....

図 2-11-9

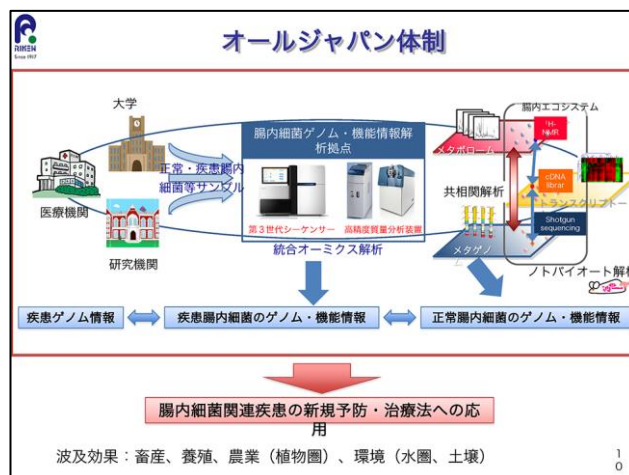


図 2-11-10



図 2-11-11

2. 12 「製薬企業の視点①」

坂田 恒昭(塩野義製薬株式会社 シニアフェロー)

<発表概要>

製薬企業からマイクロバイオームをどう見るかについて、研究現場とディスカッションした。その結果、現段階では学と産が連携しながら進めていくのがいいだろう。特に、エビデンスをとるのはアカデミアに任せる段階であり、その中から創薬ターゲットが見つかってくれば、それに対して産のほうでスクリーニングしていくというスキームが立つのではないかと思う。

特に当社における期待としては、新規創薬ターゲットとしてマイクロバイオームが利用できないかである。製薬業界は新規ターゲットが枯渇している。小野薬品のオプジーボや中外製薬のアクテムラなどのように、新しい疾患ターゲットが見つかり、その薬ができただけで日本の製薬企業は潤うわけである。特にアンメットメディカルニーズに対する、例えば自己免疫疾患とマイクロバイオームの関連性についてきちんとしたエビデンスがあれば、化合物スクリーニングや抗体作製が得意な製薬企業の方でスクリーニングをする。アカデミア創薬ということも最近言われているが、ここは企業に任せてもらいたいと思う。

もう一つ、企業としてメタゲノムをどう取り扱うかである。業界では最近議論の対象になっているのが、医療ビッグデータをどのように標準化していき、産業界が使えるような状況に持っていくか、これについては産業界から声を上げていかないと、なかなか進まないという点である。それに含めて、メタゲノムデータベースを医療ビッグデータに取り込み、どうマイニングしていくかという議論も必要だと考える。

産学連携では、ヒトサンプルの利用が挙げられる。企業ではヒトサンプルは利用できないため、ヒトサンプルが使えるアカデミアと協業していく。また、先ほどの金井先生の便秘移植のような問題になると、いわゆる日本古来の製薬企業はなかなか手を出せないため、バイオベンチャーに投資しながら進めていくという方法をとる。つまり、バイオベンチャーの活性化というのも一つの方策として挙げられる(図 2-12-2)。

病気との関わりを明らかにするエビデンスを学でとってもらい、我々は得意分野の低分子化合物やペプチド医薬品で病気を改善できるエビデンスをとっていききたい(図 2-12-3)。

アメリカでは、SERES 社が菌カクテルを利用した再発性 *Clostridium* 関連腸疾患の治療を開発し、Phase2 まで行っており、FDA の Breakthrough therapy にも認定されている(図 2-12-5)。日本の製薬企業が取り組みやすい形の一例としては、SECOND GENOME 社が創薬ターゲットを見つけることに注力しており、その中から低分子である SGM-1019 を炎症性腸疾患の創薬シーズとして Phase1 を行っている(図 2-12-6)。この SECOND GENOME 社は Janssen やファイザー、エボテックのような大手製薬企業と提携し、疾患ターゲットの探索を行っている。ファイザーとは肥満、Janssen とは潰瘍性大腸炎を対象にしている(図 2-12-7)。

国内では、有田先生の話にも出てきたが、日東薬品工業が乳酸菌とリノール酸とを反応させて得られる新規機能性脂肪酸が脂肪蓄積の抑制、脂肪関係の生活習慣病の予防、治療に使えるかもしれないと報告し、培養タンクを作って大量生産可能としている(図 2-12-8)。

以上のような動きも実際にあるため、我が社としてはマイクロバイオーームを無視するわけではなく、ウォッチしながら、エビデンスが進んでいくに連れてそれをキャッチアップし、一緒にやっていこうという体制でいる。

当該研究動向に関する研究や技術開発の進展が社会的・経済的に与え得るインパクトや、その結果実現し得る将来の社会像とは何かであるが、やはり薬剤開発が我々の最終の使命である。また、細菌叢の状態がバイオマーカーになるならば、使っていきたい。未病診断や早期治療、予防治療、これは今日もずっと出てきた話である。必要な要素技術としては、分析機械の分野として、個人の細菌叢を簡便に測定できるような装置の開発が望まれるのではないかと思う (図 2-12-10)。

8 年間に達成すべき研究・技術開発目標とは何かについてであるが、第一には腸内細菌の安価で効率的な分離技術、同定技術、培養技術構築ということで、サンプル解析における手法の標準化がある。標準化は非常に大切で、我々がアカデミアと一緒に研究していても、同じサンプルでも研究室によってデータが違ってくるというのが一番困るため、重要である。メタゲノム解析は抽出方法、リファレンスなどの影響を受ける可能性が高い。次に、原因菌を同定し、標的を同定していく。そして、データベースの構築、ビッグデータの中にこのデータをどう取り込んでいくかという議論が必要である (図 2-12-12)。

具体的研究課題例としては、疾患発症および進展に対する腸内細菌叢の変動について、日本人を対象にしたコホート研究、データベースの構築がある。先ほど来の議論で製薬企業が困るのは、日本人だけに効く薬では仕方なく、アメリカや欧州まで広がるグローバルな形で薬を開発する必要があるため、このジレンマをどうしていくかが問題として今後挙がってくると考えられる。次に、金井先生からも話があったヒト腸内細菌叢を再現した動物モデルの作製、あくまでもヒトモデルを再現できる動物、創薬における非臨床と臨床をつなぐようなモデルは必要である。製薬企業にいくとネズミの薬をつくった人はいっぱいいるがヒトの薬をつくった人はほとんどいないのが現状である。このため、比較評価のための良いバイオマーカーも含め、いかにモデルをつくっていくかが必要なわけである。さらには、腸内細菌叢を制御する物質の研究、これは薬につながっていく。また、我が社は感染症が得意なメーカーなので、特定の腸内細菌、特異的な抗菌スペクトラムを持ち、既存の抗菌薬の耐性菌出現リスクを増やさない抗菌剤創製技術の開発も挙げられる (図 2-12-14)。

最後に、産業界のニーズについて。一つは医療ビッグデータで、疾患履歴や個人情報と紐づけされたデータベースをつくっていく。そして、産業界がそれを利用できないとおそらく我々からの発想は生まれない。いつまでも個々のアカデミアの中で、例えば遺伝研だけ、理研だけ、産総研、東大でのデータベースという形では大変困り、ビッグデータとするならそれらをどう統合し、産業界にどのようなルールで開放していくかという規則作りまで行ってもらいたい。ヒトの動物モデルは先程の通り必要であり、また、バンクも作製する。さらには、色々な倫理的法規制の問題があり、個人情報の問題などに関連づけてもらうことで利用していきたい (図 2-12-16)。

<質疑応答>

【黒川】 JST-NBDC で開発しているデータベースは、いわゆるセマンテックウェブ技術に基づくデータベースで、分散型データベースという形をとることも技術的には可能である。各場所で指定の仕様に基づいてつくったデータベースであれば、関係性だけを抽出してきて1カ所で運営することができるため、統合する問題は比較的楽になっている。あとは政治的な問題や取り決めだけになる。

【本田】 アメリカの SECOND GENOME 社や SERES 社のような企業はクリニカルからアカデミアに投資して一緒に育て、うまく臨床に持っていけるという感じに最初から企業の投資があるが、日本ではそういう考えは無いのか。

【坂田】 現在、各製薬企業が非常に早期段階のシーズからアカデミアに投資し、企業の目から評価しつつ、一緒に育てるスキームをつくっている。

【本田】 ベンチャーが間に入ると、よりやりやすいと思うが、企業がある程度最初から出資してベンチャーを立ち上げたりしないのか。

【坂田】 その場合もある。我が社でも疼痛疾患のためのベンチャー、化合物を外出ししてそれをまた買い戻すというベンチャーを最近立ち上げている。

アカデミアと組む場合で一番困っている点はスピード感の違いである。企業では3ヶ月ごとにマイルストーンを切られ、進捗がなければプロジェクトを打ち切られる。それに対し、1年経っても進捗がない先生がいたりもする。スピード感とガバナンス、プロジェクトマネジメントがアカデミアには欠けている。

【本田】 3ヶ月は短いので、逆に、成果が出るまでもう少し辛抱してくれる形にできないか。

【坂田】 両者で話し合い、「1年間でここまでやる」と最初に合意すれば良い。

【小安】 アカデミアが企業と話すときのプロジェクトマネジメントのやり方次第であって、アカデミアが余りにも慣れていないのではないかという感じがする。

【坂田】 日本でバイオベンチャーは立てにくい状況なため、やはり日本型の創薬スキームをつくっていく。それは、例えば AMED 創薬戦略支援部のようなスキームもあるし、我々事業会社が育てるというスキームもあり、その時のニーズによって違ってくる。

【服部】 ノバルティスが、2025年に狙う柱として「ヒト微生物叢」を挙げていると聞いたが、製薬業界は実際にはどういう動きなのか。

【坂田】 ずるい考え方だが、エビデンスが出てくれば一緒にやりましょうと考えている。国内製薬と欧米のメガファーマでは規模が違うこともある。また、研究開発費が小さくなっている中でやり繰りする、つまり、日本の内資研究所が萎縮してしまっている。

【服部】 ベンチャーを探して実際に開始しているような会社は今の日本にあるか。

【鍋島】 国内製薬企業にそういうマインドがないわけではないと思うが、アメリカのように実績がないベンチャーへすぐに大量の資金が集まる状況ではないと思う。そこが大きな課題だと、我が社としては認識している。

【坂田】 我々も幾つかのベンチャーに投資している。しかし、一番投資の効果があるのはトップダウンであるが、上から言うとやらされる感が大きくなってしまい、ボトムアップではなかなか上がってこないという問題がある。これがコーポレート側の一番の問題となっている。

【鍋島】私の個人的意見だが、欧米の大手製薬企業の方針はかなりの部分がトップダウン型で決まる。そうすると、もしかすると5年後に経営陣が変わると同時に方針も変わってしまう可能性も十分にある。そういう点を少し注意してもらいたい。また、彼らはリスクヘッジ的にいろいろな分野に少しずつ投資する。そのため、マイクロバイオーームに投資しているからといって、それが本当に薬剤となると信じてやっているかどうかはわからない。ただ、一応可能性があるからとりあえず資金を出してやらせておくか、程度の考えかもしれない。

【坂田】可能性があるという認識は、我々も持っている。ただ、それに対して資金を投資するかどうかは、違う次元の事情もある。



図 2-12-1

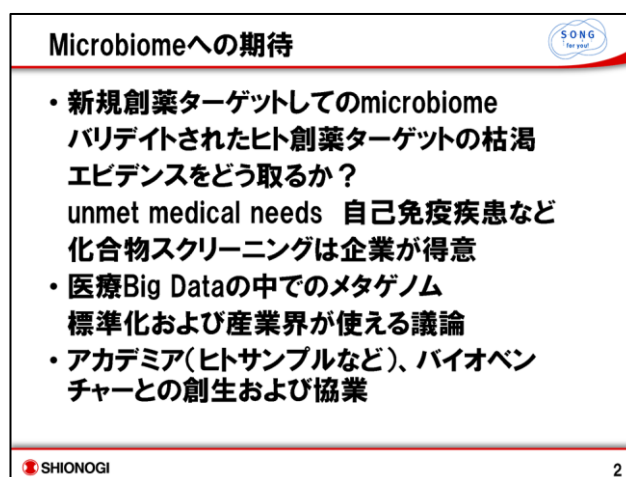


図 2-12-2

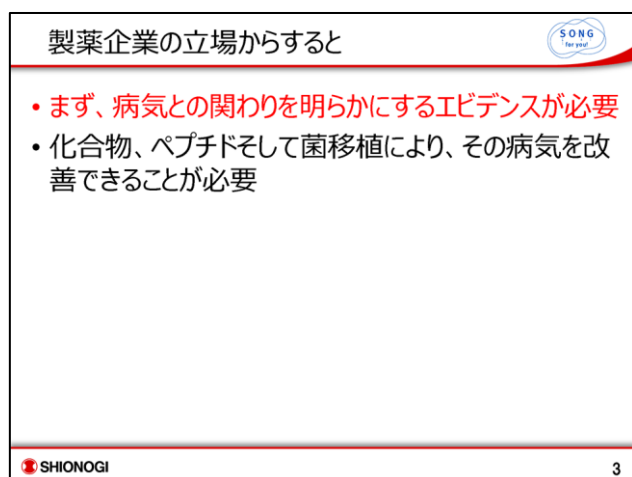


図 2-12-3

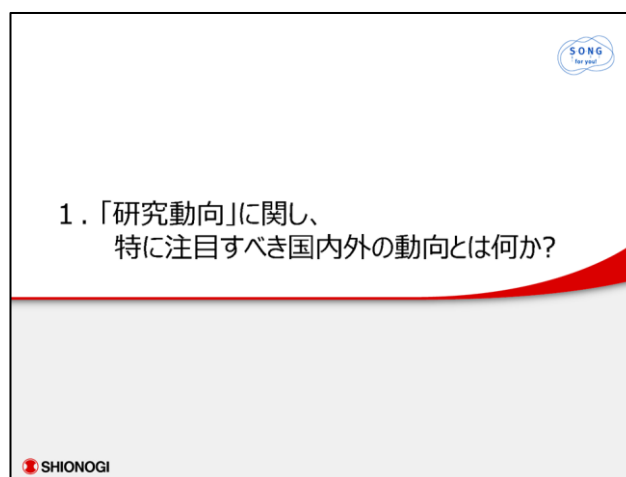


図 2-12-4

1. 「研究動向」に関し注目すべき国外動向 - 臨床試験

SERES THERAPEUTICS (9000以上の菌種ライブラリを有する) プロバイオティクスのさきがけ企業



SER-109 (Ecobiotic® drugs)

- 対象疾患；再発性クロストリジウム関連腸炎（80万人が毎年罹患し、再発率が60%を超える。抗菌剤では悪化する事が多く、アメリカのみで年間3万人弱が死亡。）
- 組成：菌カクテルの経口剤
- 特徴：Disrupt the disease microbiome and catalyze the transition of the gut microbiota to a healthy state
- ステージ；Phase II (Phase1b/2では97%の患者に奏功しFDAの Breakthrough therapyに認定)

SHIONOGI 画像は各社ホームページより引用 5

図 2-12-5

1. 「研究動向」に関し注目すべき国外動向-臨床試験

細菌叢は、食物の消化を助け、特定の感染症を防ぎ、ビタミンなどを合成する一つの成体器官である。Second genomeは、細菌叢とヒトとの関わり合いから、創薬ターゲットを見出すことに注力。この動きは年々加速中。



SGM-1019(Small molecule)

- 対象疾患；IBD
- ステージ；Phase I

SHIONOGI 画像は各社ホームページより引用 6

図 2-12-6

1. 「研究動向」に関し注目すべき国外動向-コラボレーション

Second genomeの契約状況

2013年度
Second Genome Announces Agreement with Janssen on Microbiome Drug Discovery in Ulcerative Colitis
The role of gut bacteria in ulcerative colitis to be the focus of pharmaceutical collaboration in microbiome R&D
June 5, 2013, San Bruno, CA

2014年度
Second Genome Enters Into Agreement with Pfizer Inc. on Microbiome Research Initiative in Obesity
Posted by Todd on Thursday, May 1, 2014 · Leave a Comment

2015年度
TOP STORY
Second Genome and Evotec to collaborate in microbiome discovery and development
Hamburg, Germany - 13 March 2015: Evotec AG (Frankfurt Stock Exchange: EVT, TecDAX, TSIN)

SHIONOGI 画像は各社ホームページより引用 7

図 2-12-7

1. 「研究動向」に関し注目すべき国内動向-コラボレーション

企業とアカデミアの共同研究により
腸内細菌に関連した新たな知見が見出されている

News Release **NITTO PHARMA**
2015年03月30日
日東薬品工業株式会社

機能性脂肪酸「HYA」が腸管の炎症を抑える効果を持つことを発表
—潰瘍性大腸炎、クローン病などの難病治療の可能性を示唆—

日東薬品工業は京都大学等との共同研究により、リノール酸と乳酸菌を反応させて作られる新規機能性脂肪酸（KetoA、HYA）に脂肪の蓄積を抑制、炎症を抑制する効果があると報告

SHIONOGI 画像は各社ホームページより引用 8

図 2-12-8

2. 当該研究動向に関する研究や技術開発の進展が社会的・経済的に与え得るインパクトや、その結果実現し得る将来の社会像とは何か？

SHIONOGI

図 2-12-9

2. 当該研究動向に関する研究や技術開発の進展が社会的・経済的に与え得るインパクト

- 腸内細菌叢と疾病の因果関係が明らかになる
 - ⇒ 細菌叢を対象とした薬剤開発の増加
 - ⇒ 細菌叢の状態が非侵襲性バイオマーカーになりうる
 - ⇒ 癌や代謝性疾患の未病診断、早期治療、予防治療の普及
 - ⇒ 健康寿命延伸、医療費の削減
 - ⇒ 牛、豚、鶏、魚類を含め畜産においても腸内細菌叢と生産性、品質などに対する理解が進み、積極的にその知識を利用することで生産性や品質を上がり世界の食文化が豊かになる可能性がある

必要な要素技術：
腸内細菌叢の状態を安価で簡便に個人で測定できるような装置の開発

SHIONOGI 10

図 2-12-10

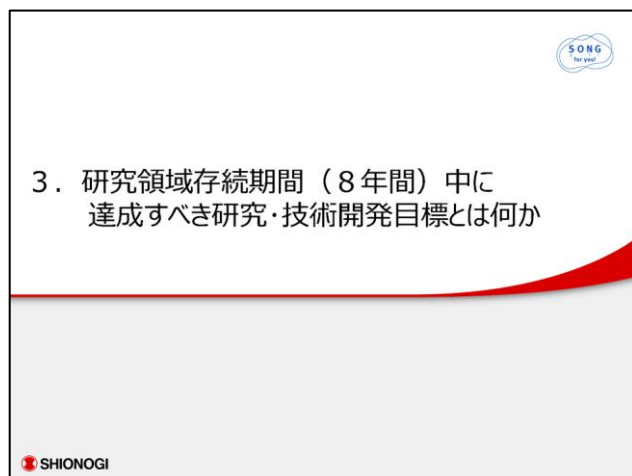


図 2-12-11

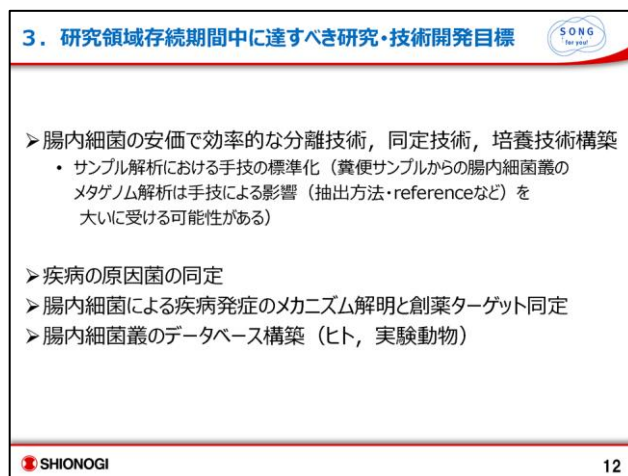


図 2-12-12

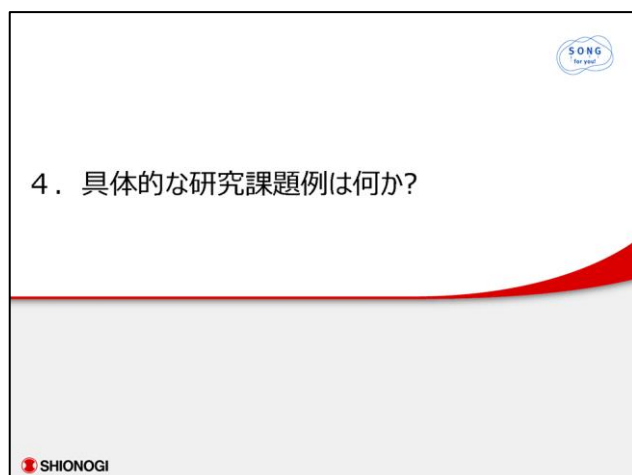


図 2-12-13

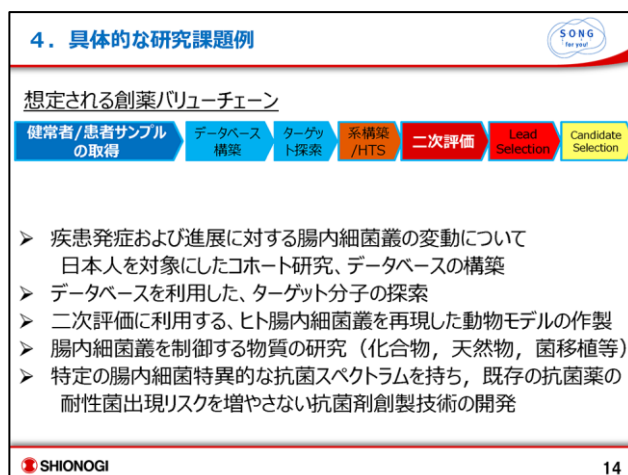


図 2-12-14

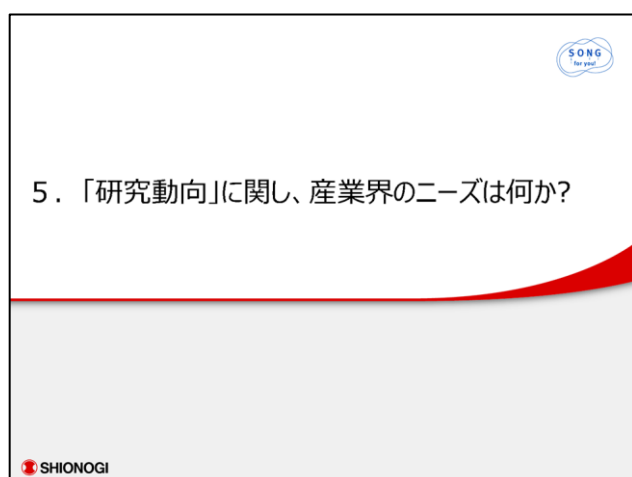


図 2-12-15

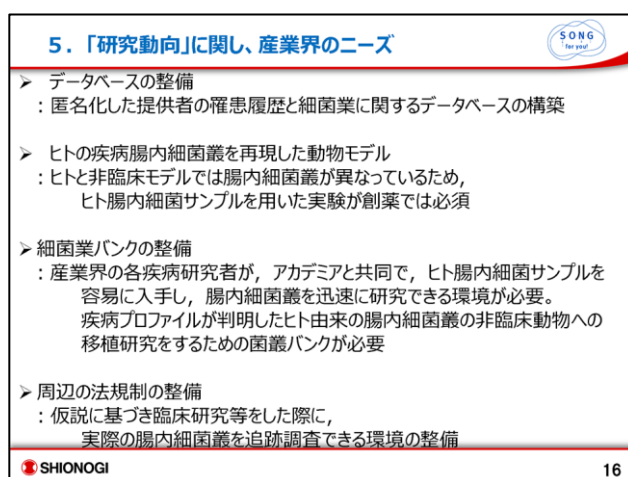


図 2-12-16

2. 13 「製薬企業の視点②」

銅島 竜介(小野薬品工業株式会社 筑波研究所 先端医薬研究部 部長)

<発表概要>

特にマイクロバイオームの専門家というわけではないので、企業の立場からこの分野に対する期待を述べたいと思う。また、本発表はほとんど個人的な意見で、所属団体などの意見を反映するものではないことを予め申し上げたい。

初めに、製薬企業の投資額に対する売上額を生産性として述べると、1990年代はブロックバスターの薬剤が多く、非常に生産性が高かった。しかし、2010年問題に代表されるように、ブロックバスターの特許が切れていくに従い、どんどん生産性が下がってきた。他にも、生活習慣病に対する薬剤がある程度出てくることで治療満足度が上がり、なかなか画期的な新薬が出てこなかったという状況もあった。近年はバイオ医薬や分子標的薬などで持ち直しつつあるが、過去に比べると高いとは言えない状況である。そのような状況下で、製薬企業としては新しい創薬標的、特に新しい領域からの創薬が求められていると思っている(図2-13-2)。

今回多くの先生が指摘されたように、微生物叢が様々な疾患に関連していることが明らかになりつつある。つまり、微生物叢は残された製薬企業が狙うべき魅力的な研究領域だと考える(図2-13-3)。

近年、食事と微生物、宿主が相互作用して形成された腸内微生物叢が、個人の環境要因と遺伝的な表現型を総合的に反映したアウトプットになり得るということが分かりつつある。これまでの主な薬剤は、宿主に何らかの作用をして治療効果を得るメカニズムであった。もちろん抗生剤やプロバイオ、プレバイオは存在してきたが、一部の疾患領域に限定した、微生物叢の相互作用を直接狙う様な創薬をしようということはほとんどなされてこなかった。今後、これらの相互作用を深く理解することによって、微生物叢を制御して様々な疾患で治療効果を出すような薬剤や、さらにはプロバイオティクス、プレバイオティクスの作用をより具体的にした薬剤、選択的に悪玉菌だけを殺すような抗生剤も開発できると思われる。

また、微生物叢は代謝物やメタゲノムを含めて、個人のバイオマーカーとして非常に有用であり、これらを測定する技術が発達すると臨床試験のモニター、有効性の指標、さらには微生物叢のモニタリングによる健康管理という方向にも発展していく可能性がある(図2-13-4)。

製薬企業とベンチャーの提携状況については、先ほどの坂田氏と重なるため省略するが、Janssen や Pfizer が積極的に研究提携を進め、基礎的な研究も含めて行っていることに注目している。また、バイオマーカーという観点では、免疫チェックポイント阻害剤の有効性に特定の腸内細菌の有無が関与していることが、最近の「Science」誌に報告された。微生物叢はやはりバイオマーカーとしても有用であることが示されている(図2-13-5)。

食物成分が微生物叢によって代謝され、その代謝産物が宿主へ作用する、こういった相互作用が宿主の恒常性および免疫制御などに非常に重要な役割を果たしている。その一方で、このような事実はわかっているが、具体的なメカニズムは依然不明な点が残されている(図2-13-6)。このような中、最近の研究によって微生物叢と宿主との相互作用に関わる

分子として、酪酸、ATP など具体例が続々と報告されてきている。この分野の研究を進めることによって相互作用のメカニズムが次々とわかり、新しい創薬標的発見の可能性が生まれてくると期待される (図 2-13-7)。

一方、創薬応用する上での課題を考えてみたところ、微生物叢の複雑性が挙げられる。微生物叢はたくさんの微生物から成り、その代謝産物は多様である。また、複数の微生物が関与して代謝産物がつくられ、さらにその代謝産物も、さまざまな宿主の細胞に作用し得る。まさに、多対多の複雑な相互作用が起きていると言え、そのような環境で有効性を持つ薬剤を開発していくのは、かなり難しい印象を持っている。実際、現在進められている微生物叢カクテルや糞便治療は、このような複雑な環境を腸内で再構築することで治療することを目指しているが、品質および安全性という点でかなり懸念が残る。製薬企業としてここに踏み込むかという点、現時点ではかなり難しい判断となる。そのため、複雑な微生物叢を個々の因子にブレークダウンすることが必要と考える。例えば、相互作用に関与する代謝産物を見出したり、代謝産物が作用する宿主の標的タンパク質を同定したりする取組みは、従来の創薬手法が使えるという点で非常に有用である。ただし、ブレークダウンした結果、代謝産物を飲んでもすぐ分解されて何も効果を示さないといった可能性や、動物とヒトの種差の課題など、懸念材料は残っている。標的レベルまでいけば安定性や種差はある程度解消できるかもしれないが、選択した標的を制御するのみで期待する有効性が得られるのかなどの疑問が出てくる。よって、これらの課題や疑問については、基礎的な研究で丁寧に証明していくしかないと思う。そして、製薬企業の立場からは、このような基礎研究の成果をいかに創薬応用につなげていくかを考えていく必要がある (図 2-13-8)。

当社がこれまでどういう形で創薬をしてきたかを少し話したいと思う。端的に述べると、アカデミアの先生との共同研究を通じて、様々な製品を生み出してきている。例えば当社の原点であるプロスタグランジン関連製品は、生理作用では京都大学の早石先生、合成法ではハーバード大学のコーリー先生の研究室に研究員を派遣し、長期的な関係を築きながら行ってきた歴史がある。最近の成果として、オプジーボという非常に画期的な抗がん剤を得たのも、やはり京都大学の本庶先生との長い関係があったことが大きな原点であり、製薬会社とアカデミアが長期にわたって関係を築くことが重要であると感じている。例えば、オプジーボ創製では、当初は SST 法という分泌タンパクを網羅的に取得しようというプロジェクトで本庶先生と共同研究を開始し、その中で PD-1 が見つかった。当時はノックアウトマウスなどの技術も未熟であり、PD-1 の機能解析はなかなか進まなかった。徐々に自己免疫疾患の可能性などが示されてきた後、同定から 10 年経ってようやくがんとの関連性を見出すことができた。結局、1992 年に PD-1 が単離されてから 2014 年に実際にオプジーボが承認されるまで、22 年を要した。以上のことから、これから微生物叢の基礎研究を開始しても、短縮はすべきだと思うが、薬剤になるまでには非常に長い時間がかかる。しかし、こういった基礎研究を継続していくことが、画期的な薬剤開発につながるという一例として、挙げさせてもらった。

まとめると、微生物叢はあらゆる疾患に関連しており、こういった基礎の研究成果から新規創薬標的、バイオマーカー、個別化医療への期待ができ、こういった基礎研究をベースに産学のオープンイノベーションを推進することが、創薬研究として非常に重要である。

最後に、この「画期的新薬は画期的な基礎科学より」という言葉が今回のワークショップにぴったりだと思う。本日議論した微生物叢の基礎科学を、製薬企業が画期的な成果につなげていくことが重要である (図 2-13-9)。

<質疑応答>

【牛島】創薬はどれぐらいの確率か。

【鍋島】当社の場合、色々な基礎研究をアカデミアと行いながら進めているが、期待する有効性が得られる標的を見出せるかが最初の大きな壁になる。この段階で多分テーマの半分以上が落ちる。さらに、何か疾患への作用が得られた場合でも、疾患への寄与度や既存の薬と比べてどの程度良いかが重要になってくる。ここでさらに落ちて印象として 10 分の 1 程度になる。そこまできても、安全性や選択性に優れた化合物がつかれないなどの問題もあり、うまくいった例ばかりではないのが現実である。

【野本】薬物の代謝に関わる腸内フローラ、例えば配糖体のアグリコン化やプレドラッグの代謝など、はターゲットとして期待できないのか。

【鍋島】当社はこれまで細菌などを扱った経験がなく、抗生剤もほとんどやっていないため、それらを扱うのはかなりリスクが高い。これは我々の事情であり、他の製薬企業ではどうかかわからない。当社としては最終的にかなりブレークダウンした形で持っていくのが理想形ではある。

関連する国内の研究開発動向、今後のあるべき方向性など



図 2-13-1

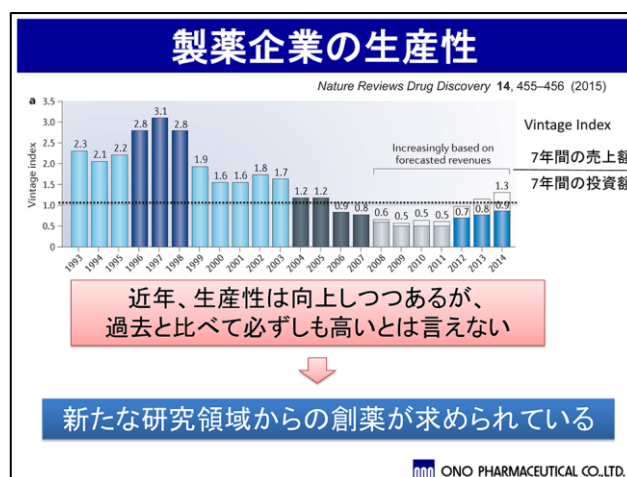


図 2-13-2

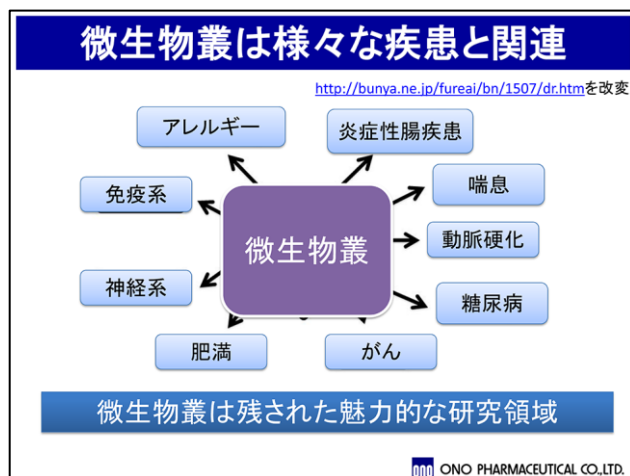


図 2-13-3

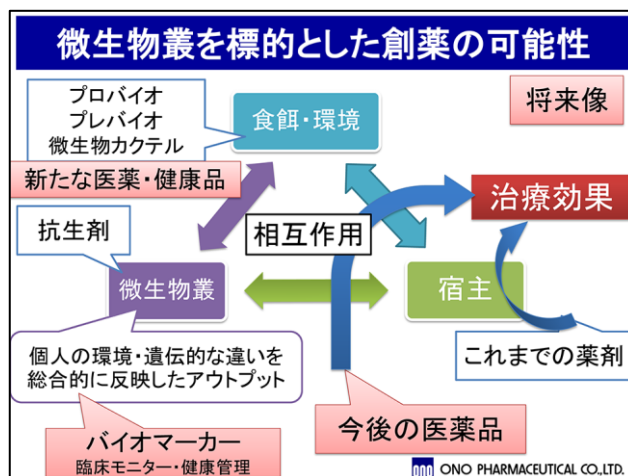


図 2-13-4

企業として注目すべき研究提携動向

企業・大学	内容	特徴
Rebiotix SERES Therapeutics	クロストリジウム・デフィシル感染症に対する健康人糞便による治療	菌叢カクテル FDA Breakthrough
Vedanta Biosciences	Jansen社と約240億円でIBD治療薬の提携	選択された菌叢カクテル
Second Genome	Jansen社：IBDの創薬標的探索 Pfizer社：肥満と微生物叢の研究（900名規模）	基礎的な研究を含む
Chicago大学 Gustave-Roussy 研	免疫チェックポイント阻害剤の有効性に特定の腸内細菌が関与	バイオマーカー 新規創薬標的の可能性

ONO PHARMACEUTICAL CO.,LTD.

図 2-13-5

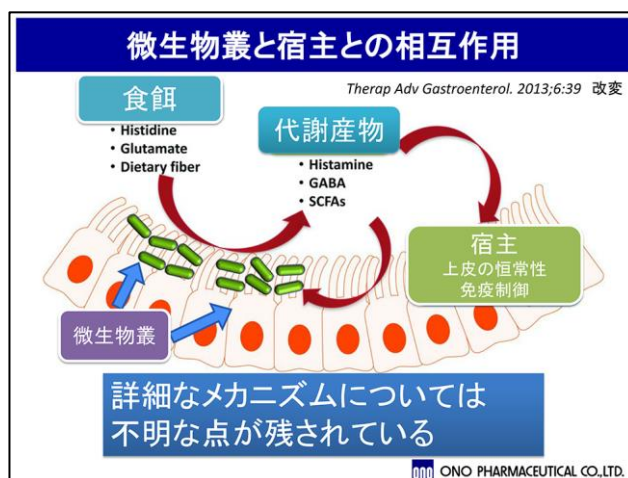


図 2-13-6

微生物叢由来の産物による免疫制御

腸内細菌	産物	標的細胞	作用／疾患関連性	論文
セグメント細菌	ATP	樹状細胞	Th17分化誘導	Nature 455, 808-812 (2008)
細菌叢	TBMCA代謝	上皮細胞	FXRを介した胆汁酸分泌制御	Cell Metab 17 225-235 (2013)
クロストリジウム属細菌	酪酸	Naïve T細胞	Treg分化誘導	Nature, 504, 446-450 (2013)
乳酸菌	2本鎖RNA	樹状細胞	TLR刺激によるIFN γ 誘導→大腸炎抑制	Immunity, 38, 1187 (2013)

微生物叢と宿主との相互作用の解明
→ 新しい創薬標的の可能性

ONO PHARMACEUTICAL CO.,LTD.

図 2-13-7

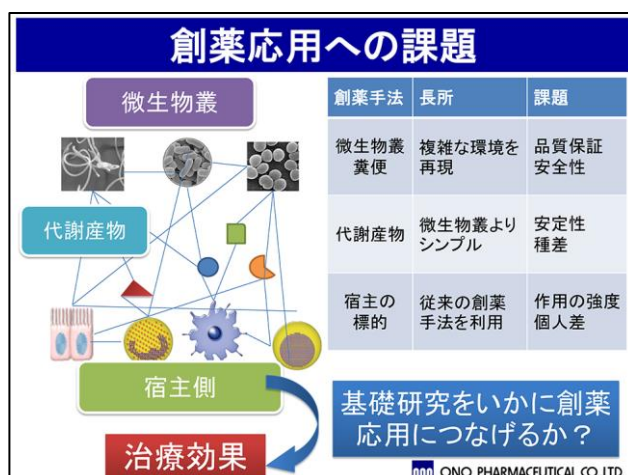


図 2-13-8

まとめ

- 微生物叢はヒトのあらゆる疾患に関係
- 微生物叢の研究成果から、新規創薬標的、バイオマーカー、個別化医療への期待
- 基礎研究をベースに、産学間のオープンイノベーション推進による創薬研究が重要

画期的新薬は画期的な基礎科学より

国立大学法人 北海道大学
院長
山口 佳三

やまぐち けいぞう
1979年3月 京都大学大学院理学研究科博士
課程修了
1979年4月 北海道大学理学部助教授
1984年7月 北海道大学理学部助教授
1988年4月 北海道大学理学部助教授
1993年11月 北海道大学理学部助教授
2007年1月 北海道大学理学部研究開発・
競争的資金・国際交流
2011年4月 北海道大学理事・副学長
2013年4月 北海道大学校長



MEDCHEM NEWS Vol.24 No.4

 ONO PHARMACEUTICAL CO.,LTD.

図 2-13-9

関連する国内の研究開発動向、
今後のあるべき方向性など

2. 14 「わが国のヒト microbiome 研究が目指すべき方向性」

大野 博司(理研 統合生命医科学研究センター 粘膜システム研究グループ

グループディレクター)

<発表概要>

EU の MetaHIT、アメリカの HMP のように、マイクロバイオームあるいはメタゲノムの大規模な研究が欧米では進められてきた。その一方で、日本の研究推進体制は若干残念な状態だった。アメリカでは HMP stage2 が Integrative HMP (iHMP) という名前で 2014 年から開始されている。そして、幾つかの疾患に注力して進めるらしいが、明記されている対象は 3 つとなっている。1 つは妊婦と早産で、2,000 人の妊婦さんとその新生児を集めると人数だけは明記されている。それから、IBD と T2D に対し、メタゲノムだけではなく、6 種類の解析をミックスする。メタゲノム (16SrRNA)、それからホールメタゲノムショットガンシーケンス、リファレンスとしてのバクテリアの全ゲノムシーケンス、メタトランスクリプトーム、メタボローム (リポミクス)、イムノプロテオミクス (免疫系タンパク質) というような解析による網羅的な検討が、すでに 2014 年からアメリカではスタートしているのだと思われる。

我々が服部先生らと一緒に働きかけをしても、善玉菌や悪玉菌のような言葉が先行し、サイエンス的ではない、研究によって何がわかるのか明確でないため投資できない、という日本全体の意識があった。しかし、何が出るかわからないが、やれば絶対何か成果が出るようなところに投資することも国策として必要だと思っていた。そのような中、細菌との関連性が今ここでわかってきたわけである。それに加え、海外と日本人のメタゲノムが大きく異なるようだとなってきたため、日本においても研究を進めても遅すぎはしないと考える (図 2-14-2)。

さらに、アメリカの Precision Medicine Initiative では、100 万人以上のコホートを予算 250 億円で実施すると発表され、メタゲノムやホールゲノム、メタボロームが含まれている。

中国の BGI でも、MetaHIT のメタゲノムを一手に引き受けていたわけだが、Three Million Genomes Project を 2011 年に開始し、100 万種の動植物ゲノム、100 万人のヒトゲノム (おそらくメタゲノムも含む)、100 万種のメタゲノム (腸を含む環境ゲノム) をやると発表した。メタゲノムは腸を含む環境ゲノムと標記されているため、100 万人の腸内細菌メタゲノムというわけではないが、ヒトのゲノムもかなりの数を解析すると思っている。

以上のように、2 つの大国が 100 万という数字を出している (図 2-14-3)。

一方、キーワードを含む論文数について PubMed で調査を行った。「Metagenome」と「Gut」では、トータルのうち、日本人は大体 3% ぐらいに関与していた。「Metatranscriptome」では、「Gut」も加えるとまだ 16 報しかなく、日本人はそのうち 1 報だけである。メタトランスクリプトーム全体では 117 報で、環境ゲノムがかなり入っている。「Metabolome」は「Metagenome」よりももう少し日本の寄与率は高く、5% であった (図 2-14-4)。

今後のことを考えると、大国では100万人だったので、日本も10万人ぐらいやってもいいのではないかと勝手に思っていたが、小安先生や服部先生も10Kと言っていたため、最低でもこのくらいの規模はあっても良いのではないかと。

なぜ今推し進めるかについてだが、服部先生が2007年に論文を出した際は、メタゲノム解析をサンガー法で行っていたため、かなりの費用が必要であった。しかし、MetaHITなどが始まった頃には10分の1、あるいはもっと低くなっていた。そこからさらに技術が進歩しており、今では1人当たりのメタゲノム解析がさらに安くなっている。そのように、いま色々なことが整ってきたところで、しかも欧米人とは違う細菌叢を日本人は持っていることから、日本人を対称に解析、データベースを構築することは、まず重要である。その上で疾患との比較ができ、日本の特異な精密なメタボロームと組み合わせしていく。しかも、メタトランスクリプトームは世界的にもほとんどやられていない。以上については世界的にもまだまだ始まったばかりだといえる。なぜなら、今年のIHMC2015がルクセンブルグで行われた際に、「Future Directions for Human Microbiome Research in Health and Disease」というサブタイトルで、「Integrated omics for microbiome analyses」というワークショップが開催され、各種Omixデータのサンプル取得、保存、処理法の意見交換が丸1日かけて行われた。このことから、まだ世界的な標準もできておらず、意見交換している段階だといえる。メタゲノム解析では今更と思われるかも知れないが、他の解析技術も含めたマイクロバイオームの総合的な研究は今から参入しても全く遅くないと考えられる。

以上を含め、日本の強みを生かした精密なデータを取得することで、ヒトゲノム同様に、ゲノム解析は単なるカタログ作りでそれだけで全て解るわけではなく、機能をそこから付与していく研究が始まる。そういう形で進めていくことがこれからの日本がとるべき道なのではないかと思っている。

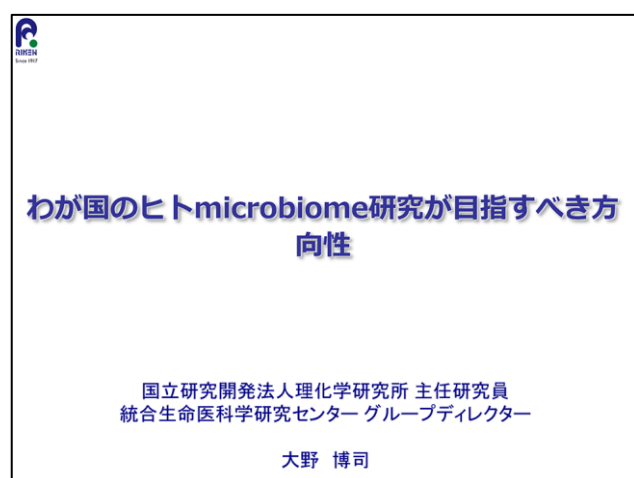


図 2-14-1

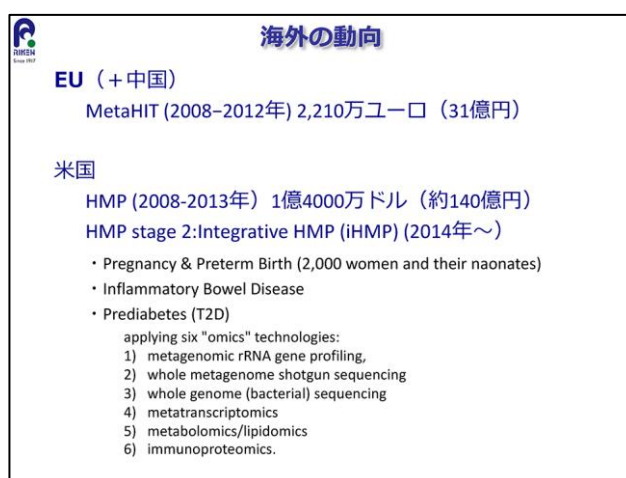


図 2-14-2

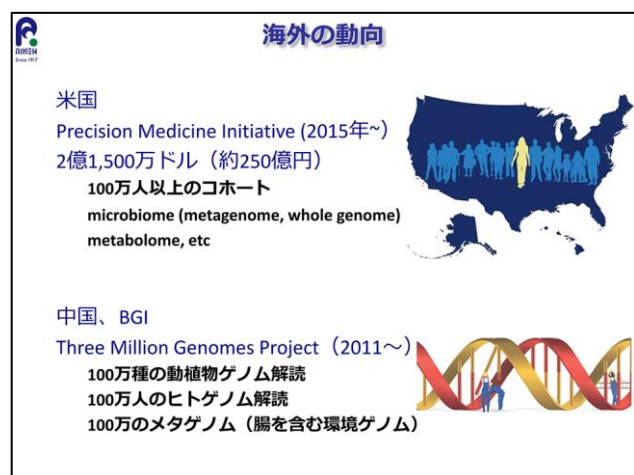


図 2-14-3

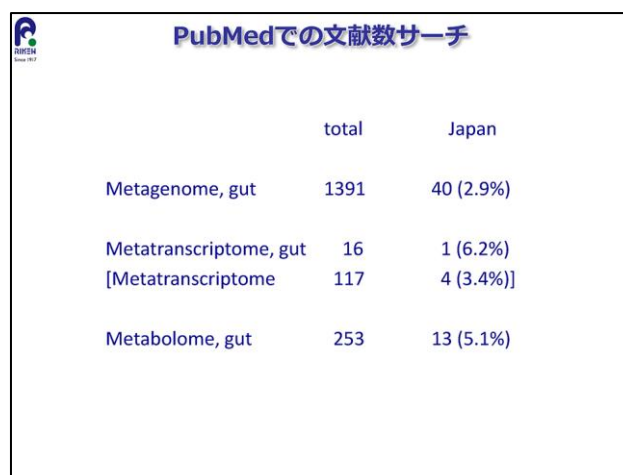


図 2-14-4

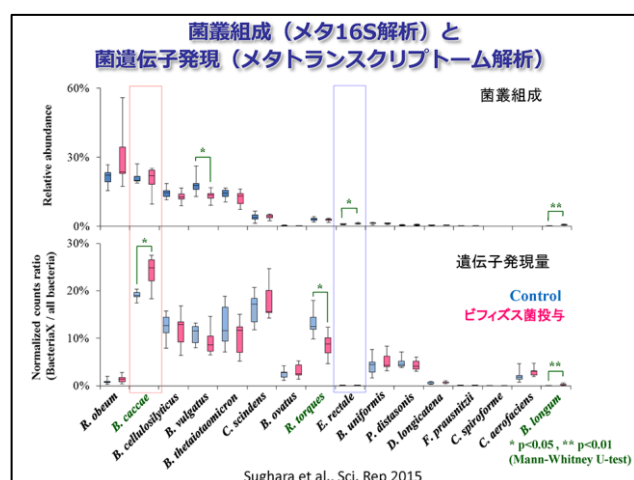


図 2-14-5

第3章 総合討論

【辻】本ワークショップは CRDS の政策提言の策定に向けた情報収集と当方で準備した仮説の検証を目的としている。また、本日得られた情報について、今後、関連府省へ適宜情報発信を実施したい。ここまでの先生方のご発表、ご議論を通じて様々な問題点、重要事項が見出されてきたように思うが、総合討論でまとめて議論したい。

始めに、わが国における本分野の研究開発戦略に関するストーリーについて改めて確認したい。近年、本分野は欧米が先行しているが、一方で、これから健康医療技術開発を大きく展開する際に必要な技術・研究領域は日本がトップレベルであり、これらを結集させることで世界をリードする成果創出が可能である。その際、日本人健常者のリファレンスのような、わが国に欠けている基盤情報の収集も重要である。期待される成果として、まずは生命・疾患理解の深化が進み、健康・医療技術が次々と生み出され、社会に大きなインパクトをもたらさう。また、微生物叢という分野は、将来的には食料や環境などを含めた広い視野で考えていくべきかなり大きな学術分野になることが期待される。この大きなストーリーについて違和感があればご指摘頂きたい。

【辻】特に無いようなので、個々の議論に移りたい。最初に、プロトコルの統一化について、製薬企業、アカデミアの両方から何度も出てきたが、一体どのように、こういった形で議論すれば統一できるだろうか。

【服部】初期はメタゲノムしか考えていなかったもので、DNA をどう安定的に抽出するか、糞便の菌叢が変動しない保存・処理法などを考えてきた。しかし、今回のように、DNA のみならず、メタトランスクリプトームを含めた RNA 抽出、またメタボロームも重要となっている。つまり、それらに耐え得るプロトコルを構築しないといけない。また、10 万人規模のような話になると、プロトコルを確立しつつ、どの様な収集体制にすべきかも大きな問題の 1 つである。シーケンサーなどの解析技術については大まかには出来上がっている。つまり、サンプリングした検体から解析するサンプルにまで処理する段階の方法の統一化が必要だと思う。

【辻】メタボロームではどうか。

【有田】同意見である。できれば同じ検体からメタゲノム、トランスクリプトーム、メタボロームすべきである。そこから考えると、検体を分ける方法も重要で、例えば糞便の状態だけでなく、どここの部位かでも違って来る。特にメタボロームは影響がでると考えられるため、検体を全部こねて混ぜてから分けるなど、やり方の統一化も非常に重要だといえる。また、サンプリングを個々で行うよりも、サンプリングセンターの様な場所ができれば一番良いとは思いますが、現実的には簡単でないかもしれない。

【小安】國澤先生は健常者で取り組んでいることから、色々なノウハウがあるのではないかと。

【國澤】我々も同じ問題があり、東京でとった糞便を大阪で解析するため、一般の方に家をとったものを家の冷凍庫に入れてもらうわけにもいかず、現段階では倫理申請中である。この問題が少なくとも今年度は解決しないため、来年度から検討開始という形になっている。ただし、糞便検体をアニジンで変性させた形であれば室温でも DNA に問題がないため、現状はこれを送ってもらい、メタゲノム解析できるようにしている。

もう一つの、糞便をこねるかどうかは、トイレでどのように採取するかが問題となる。現状は、採便キットの小さじで少し取る形なので、こねる作業が入るとかなりハードルが上がる。そうすると、おそらく 1 万人分を集める場合は相当協力的な人でないといけない。さらに、協力的な人となると健康意識が高い人になるため、バイアスがかかってしまう。そのため、福田先生の話でもあった室温で保存可能な方法作りも重要な課題だと現実的に感じている。

【福田】確かに、既存のアニジンの方法ではメタボローム解析はできない。我々の試みでは、他の幾つかの薬剤を試したところ、何となくこの辺ならできそうかなという段階である。我々自身がチェックしてはいないが、この方法では RNA も一応大丈夫そうだという話を聞いている。今は薬剤の安全性などの問題に対応している段階である。

【大野】こねるという話に関して、福田先生の話にあった 30 人ぐらいで食事を調整した試験では、とる時間やどこをとるかなどの条件は決めたのか。

【福田】場所は一応、真ん中ということで決めた。しかし、真面目な話、便は出口側よりも上側のほうが、有機酸もグラジエント的に多くなることが解っている。

【大野】誰もが同じではないものをどのようにコントロールしているのか。

【福田】全体で見ると、サンプリング時の部分の違いよりも圧倒的に個体差のほうが大きい。メタボライトでは、有機酸量などは割と相関があり、多い人は常に多く、少ない人は常に少ないというプロファイルはある。そのため、こねるまでは必要ないと思っている。ただし、糞便の一部を取ったあとに均一化してから、DNA と代謝物の分析用に分ける必要はあると思う。

【服部】私もメタゲノムで便の表面か中か調べたが、基本的にはどこでも良いという安心感があった。ただし、メタボロームなど他の解析と組み合わせるとなると違って来るだろう。しかし、このような技術面は関係者が具体的に話し合えば確立できる。難しいのは、ボランティアなどから、どの方法でどうやって集めるかというサンプルルートを確実にすることである。実際に私は 200 人以上の解析をしたが、サンプリングから保存と DNA 抽出処理までは共同研究先などの別拠点で行っているため、サンプル保存や処理方法を初めに厳密に決める必要があると実感している。ボランティアについては、本当にやる気のある人しか送ってこないが、それは仕方がないことで、数を増やすしかない。

【本田】サンプルが送られてくる、便ストックセンターのような拠点は必要か。

【服部】その通りで、収納、管理する拠点があるといい。

【福田】サンプル状態の均一化として、拠点ではない対応も我々は考え、検討している。

DNA の場合、サンプル処理の段階で多少差ができて、例えば抽出溶液中にどのぐらい便が入っていたとしても、ある程度判断できるが、メタボライトの場合はうまくノーマライズできない。そこで、例えば便にブスッと刺したら均一的に量がとれるなど、道具自体も開発が必要だと考えている。そういうキットを産業界と一緒に開発し、簡単にサンプリングして液体へ入れると均一的に、誰がやっても安定的に処理できれば、ストックセンターがなくても、それこそ健康診断レベルで集めることも将来的には可能になると考えている。

【大野】検体取得、処理場所は個別にバラバラであっても、最終的にはどこかに集約させた方が良い。疾患由来の検体などは直接患者を診断し、リクルートしてきた医師が管理すればよいが、特に健常人サンプルは多数の研究者が利用したいだろうと考えられる。

【天谷】皮膚からのサンプリングに関しては、NIH の研究者 Heidi Kong などを中心に、国際的な方向性、決め事が出来はじめている。アトピー性皮膚炎の場合は、ステロイドを炎症部に塗って2週間後取る、シャワーを浴びてから12時間以上経過後に取る、保湿剤の塗布条件などや、場所によってできるアトピーの形が非常に異なるため、定点の20ヶ所を決めたら発疹有無に関わらず取るといった点で話し合われている。そうしないと各国で出した皮膚のマイクロバイオームデータを比較し、解釈できなくなってしまう。

【辻】次に、『基盤データ収集』のテーマに移りたい。欧米の大型プロジェクトで収集されたデータに付いてはもちろん活用すべきと考えられるが、一方で、日本で補うべき基盤データもある。本日の発表・議論では、日本人の微生物ゲノム情報・微生物カタログ、日本人の健常人データが不足であることが挙げられたが、どのくらい足りず、不足によって今後の日本人データの解析のやり辛さなどがでてくるのか。今すぐやるべきこと、中長期的にやるべきことなどについて議論したい。

【服部】ゲノムで言うと、公的データベースには2万から3万のゲノムが登録されている。しかし、これらは沢山オーバーラップしており、特にヒト常在菌では結局3,000クラスターぐらいに減らせる。このことから、結局は種類の違う細菌が2,000~3,000同定できる程度の解析人数があれば問題ないと思っており、日本人データとしても1,000、2,000人ぐらいで良く、何十万人ではかなりオーバーラップが出てくるので、費用対効果や時間を考えるともったいない。

マウスに関してもやはり微生物カタログがあったほうが良い。なぜならば、マウスを用いた実験でのメタゲノムデータを出してもリファレンスがないため、ヒトのようにはなかなか上手く答えが出せない。このため、マウスについても1,000から2,000匹分の解析をすれば良いと思う。ゲノムを2,000解析するのには大した労力、時間は必要ないと考えている。

【辻】マウスについても整備しようという動きは欧米にあるのか。

【服部】そのような話は全然聞いていない。

【大野】MetaHITの後続プロジェクト(MGPS)が少し取り組んでいるように見える。

C57BL/6(マウスの種類)など幾つかのマウスの系統で、異なるブリーダーで育った同系統マウス間で比較するという内容で、最近論文が出ていたと思う。

【服部】マウスのメタゲノム解析については知っているが、肝心なのはヒトとどれだけ異なるかを知りたい。

【黒川】真菌など、菌類もおそらく解析する必要がある。

【辻】次に『健常人データ』に移りたい。小安先生から規模感として10Kと伺ったが、1万人程度のデータがあればリファレンスとして十分、ということか。

【大野】統計学者と議論すべきだと思っている。ただし、研究内容や目指すものによって規模は異なってくるともいえる。

- 【服部】疾患と比較する場合、例えば IBD は 20～30 歳で発症するため、やはり対応する 20～30 歳の健常人データが要る、といったようにそれぞれに年齢が異なり、それに対応するものが要る。
- 【小安】世代間が見られるデータを考えると結構な人数になる。
- 【服部】研究対象として何を用いても良いような規模で考えると大きい。
- 【小安】世代間での定点観測だけでなく、細かい年齢幅でデータを取らないと時代の流れや社会の変化がどうなってきたかまではわからない。そう考えると馬鹿に出来ない数となる。むしろもっと必要なのではないかという気も直感的にはしている。
- 【服部】統計解析が出来るように、1 歳か 2 歳毎で 100 人ずつ、地域によっても差が出るかもしれないので上手くばらついたポピュレーションでとることが考えられる。
- 【小安】理研では GWAS がほぼ終わり、今は全ゲノムシーケンス解析を 1,000 人規模で行っている。その中で、Principal component analysis (主成分分析) をすると、やはり日本の中でも地域差が見えてくる。当然、どんどん分解能は上がってくるだろう。腸内細菌も当然そうだと思う。
- 【本田】解析数は多ければ多いほど良いということか。
- 【小安】一般的にはそうである。しかし、現実的な点も考慮すると、5 年間に、10 年間にどこまで物事を解決したいかを議論し、それに適した設定をすべきである。
- 【本田】少なくとも年齢ごとに数十例ずつは必要だろう。HMP で 80 歳ぐらいまで年齢ごとに解析した論文がもうすぐ沢山出てくるようだが、やはり年齢で変化がある。これはリファレンスとして使えるので、日本人でも必要である。
- 【黒川】ビッグデータ的に、期待していない何かが出ることを期待する場合、できるだけランダムにデータをとる。実はデータの取り方を考え過ぎても、それがもし偏っていたら本当に偏った知見しか出てこない。つまり、いかにして分散、ランダムにとるかが、実は、少ないサンプルで解析するときにはいいこともある。
- 【國澤】「健常人」として付随情報、例えば食生活など、をどこまで集めるかを将来的にはぜひ議論して欲しい。多すぎると参加者は面倒くさくなり、集まり辛くなる。しかし、リファレンスとして使う場合、数が先行して質の低いデータばかり集まるよりは、正確なしっかりしたものがあ程度の数あるほうが結果的には良いかもしれない。
- 【牛島】日本人独自の細菌叢が構成される要因が環境的か遺伝的かは重要な問題なので、やはり個体の SNP 情報と環境情報は絶対に必要となる。ただし、全リファレンスでやると費用がかかるため、バランスをとりながら運営していくことが非常に重要だと考える。
- 【辻】続いて、具体的な研究開発テーマの話題に移りたい。研究開発推進項目として大きく 3 つ考えており、1 つは解析技術の高度化、2 つ目が宿主と微生物のクロストークの理解、3 つ目は予防・診断・治療の創出としている。これらについて、ご意見を頂きたい。
- 【福田】メタボローム解析のさらなる高度化となると、どうしても質量分析計の開発などになり、メーカー依存度が高い。研究者レベルでは前処理や分析方法、アプリケーションの改良にとどまっているのが現状だと思うため、分析機器メーカーらと一緒に高度化という形で進めていければ、現実的に高感度なメタボローム解析技術が構築できると思っている。

【有田】メタボローム解析から機能性分子の同定については、決して簡単なものではなく、抽出や生成など、かなりの労力が必要である。一方で、大村先生のように、今までの天然物科学は生物活性を示す成分から化合物の構造を決定する流れだったが、メタボロームとメタゲノムの解析結果を組み合わせる先に化合物を生成した後に生物活性を調べていくやり方、つまり逆の流れで進めると安定性が低い化合物でもピックアップできる可能性がある。これは、腸内細菌叢の研究で有効なアプローチであるかもしれない。これを進めるにはメタボローム解析の高度化という意味では分析技術の優先度が低く、既存技術の解析結果から機能性分子を探索する際の化合物の合成技術の高度化が現状では問題になる。細菌叢の代謝物の場合は微生物の発酵技術が使えるため、微生物ライブラリ (ゲノムデータ) とメタボロームデータを連携して利用すべきである。

【辻】機能性分子の合成は日本に強みがあるのか。

【有田】発酵技術に強みがある。

【西野】有田先生の発表であった京大の小川先生のように、微生物発酵技術の知識がある研究機関や研究室で、他にこの分野に協力してくれるところはあるのか。

【有田】あると思う。日本では伝統的に発酵分野は非常に強く、嫌気細菌の培養技術も含めて農学部の研究室だと思う。

【野本】難培養菌の分離については、偶然出てくる菌と目的を持って採取する菌とで全くトライの仕方が違う。また、目的を持ってトライすれば取れるわけでもない。目的を持たないで網羅的に取るにはどういう筋道で進めるかの前提を考えないといけない。例えば、抗生物質で *dysbiosis* を起こさせた状況下で出てくる菌、あるいは、糖源を抑える、特殊な基質にするなど、他の菌が使えない条件で生えてくる菌といった前提である。このような特殊技術で、非特異的に取る場合でも、何のためにどのぐらい取るのかという目的は必要になってくる。

【井上】農学の話が出たが、戦略として立たせるにはある程度研究者層がいないと難しい。医学や基礎科学以外の異分野参入の可能性や研究者層の厚さについてどう思うか、意見がほしい。

【野本】一番微生物を扱っているのは発酵分野の研究者だと思う。ただし、我々が望むような目的的研究をしているかということ、現状は違う。なぜなら、難培養菌の培養条件検討には手間隙とお金が必要である。

【井上】そのような研究者が参入できるようなテーマ設定を考えると、どのような研究テーマにしたら良いか。

【福田】私は農学部で反芻動物のルーメン細菌の研究もやっていた。反芻胃には嫌気性菌、特に絶対嫌気生菌がたくさんいて、培養するために色々なノウハウがあり、これまでの腸内細菌の培養法とかなり違いがある。農学系で家畜など微生物分野の研究者にも加わってもらえると、嫌気性培養で何かテクノロジーや知識を持っているかもしれない。

【井上】そういう観点から見たときに、「テーマ設定」としては何があるか。

【大野】培養技術を持った人が本分野に賛同し、参入して新しいものをつくり上げるような一言があれば、興味を引くだろう。

【福田】「家畜」のような言葉が一つ入っていると、農学関係では「おっ」と思うところはあるかと思う。

- 【小安】マイクロバイオームは大きなテーマであると私も認識するが、他のものを全部外して『ヒトマイクロバイオーム』に特化した理由が CRDS 中の議論にあったと思う。それをもとに戻してどこまで拡大するかという議論をしている気がするため、CRDS での経緯を知りたい。
- 【辻】ヒトマイクロバイオームの研究を通じて生命や疾患の理解の深化と同時に健康医療技術開発を推進し、成果を挙げていく。続いて、それらを通じて構築された研究基盤を、次は作物、土壌、家畜などへも展開し、さらには生活環境のような話まで広げていくべきである。健康医療技術、食料関連技術、或いは生活環境など、いずれも社会的に重要性は高いものであるが、やはり移植、微生物叢カクテルといった実際の動きが見られつつあるヒトマイクロバイオームをまずは進めたいと考えた次第である。
- 【辻】続いて、ヒトの微生物叢に着目した出口、社会実装について、成果の時間軸を含めてご議論頂きたい。医薬品、診断薬について、例えば 8 年後を目処に一部上市されそうか。
- 【坂田】無理だと思う。これからリファレンスを取り、病気の情報を抽出していき、その情報を利用してどこかの製薬企業が乗ってくることを考えると時間的に難しい。微生物叢カクテルなどは製薬企業がやる問題ではなく、アカデミア発ベンチャーでいくかどうかだと思う。これについては本田先生がもう進めておられるのではないかな。
- 【本田】我々の成果はベンチャーに育ててもらい、大手がそれを買った形なので、非常に速いスピード感で進んでいる。そう考えると 8 年後でもあり得ると思うが。
- 【坂田】地道にやろうと思うと、臨床疫学や統計学の情報が必要で、その分野の研究者の参入を進めないといけないのではないかな。製薬企業の観点から出口を速くしようと考えたと、1 つは研究者がいるか、もう 1 つは薬のない病気の治療である。生活習慣病などは相当革新的な治療法にならない限り、手を出すのは難しい。
- 【永井】今の話は非常に重要で、必ずしもマーケットが大きくななくても良いので、何か 1 つ「さすがだ」といわれる成功事例を用意する必要がある。
- 【坂田】患者さんがすごく困っている病気、例えば自己免疫疾患のギランバレーはしばしば挙げられている。
- 【永井】これはむしろ臨床家に聞いたほうがいい。極めて稀でも「これは答えが出る」という確定的な病態モデルが欲しい。確率的な話ばかりを最初からやると批判される可能性がある。
- 【金井】日本に多い病気でベーチェット病を挙げると、米国ではあまり売れないと言われるが、中国には多くの患者がいる。欧米に多い疾患だけをターゲットに研究すると負ける可能性がある印象で、ベーチェット病は治療薬がほとんどなく、重要な病態である。また、PSC（原発性硬化性胆管炎）は、患者数は少ないが死に至る病気で、治療薬が無く、また dysbiosis が関係しているという事実を掴んでいる。数が少ないため欧米はやらないこともあり、わが国において実施する意義は大きい。
- 【本田】それら疾患のコンソーシアムが国内で既に構築されており、サンプルを集めやすい状況にあると進めやすいと思うが、どうか。
- 【金井】ベーチェット病も PSC も班会議があるため、そこを中心に一気に集めるという体制は構築可能である。

【天谷】皮膚はアウトカムが見やすい。そういう意味で、既にシステマティック・レビューで抗菌剤が無効と言われる中、寛解維持を長く延ばすというデータを示すことができれば、**dysbiosis** をターゲットとした治療をすることで新しい治療戦略になるという出口が既にある程度見えている。ただし、製薬会社としてどういう形のシーズになるかは考える必要がある。

【坂田】製薬企業が希少疾患をやらないわけではない。フラッグになれば良い。

【永井】希少疾患で得られた知見がコモンディジーズに適用拡大できる可能性もある。

【永井】メタゲノム関係の解析について、現状はどうなっているのか。

【大野】今の日本では、服部先生にサンプルを送って解析してもらっている研究者がほとんどだと思われる。メタゲノム解析を自分たちでできる研究者は少なく、大半が **16SrRNA** 解析である。

【小安】私の提案としても、この領域はメタゲノム解析などのプラットフォームをつくった上で個別研究ができると考えている。

【大野】例えば、文部科学省の **CREST** のような枠組みには収まらず、国策としての対応が必要である。

【小安】メタボロミクスについても同様である。拠点化した上で尖った個別のテーマができ、そこから新しいものが生まれてくるという姿にしないと無理だと思う。ぜひそういった形での施策を推進すべきと考えている。

【辻】最後に、当ユニットの統括である永井良三先生に、総合討論、そして本日のワークショップのまとめをお願いしたい。

【永井】マイクロバイオーム分野は実際にはすごく大きな話で、**JST** 内でも以前から「マウスからヒトへ」「統合的システム医学」のようなキーワードが出ていたが、ある意味では **Precision Medicine Initiative** の一つの典型例ではないかと思われる。まず当面どう進めていくかという話と、将来的にどのような展開をするかという話の二段構えで用意していく必要があるだろう。しかし、最初に言ったようにこれは大きな話で、おそらくこれまでのがんやゲノム、脳科学といった既存の柱と重複しつつも超えていくだろう。しかし、新しい柱を立てることは相当難しく、発展させていくには相当関係者が頭をひねってクリエイティブにやっていかなければいけない。そういう意味でも、まず上手に研究プラットフォームをつくり、出口も見据えつつ多くの研究者が活発に研究できる環境を整える必要がある。その際、やはり何人かは本当に出口にたどり着けそうな研究者、これから伸びそうな研究者、などをうまく巻き込むことが重要である。そういった形で研究成果を挙げていき、将来的にはがん、ゲノムと並ぶ一つの柱として立てていくことが期待される。その柱は、マイクロバイオームという分野を包含しつつ、日本版 **Precision Medicine** のような大きな枠組みになるものと思っている。本日のワークショップはそのきっかけとして、引き続きご協力を頂きたい。

第4章 まとめ

本ワークショップを通じ、ヒト生体上皮環境（微生物叢）に関する最新の研究開発動向についての情報が参加者間で共有された。また、わが国が今後推進すべき研究開発戦略の方向性について活発な議論がなされ、JST-CRDS が当初設定した仮説の大きな方向性についての妥当性が検証されると共に、更なるブラッシュアップに向けて、多くの示唆が得られた。

まず、欧米の大型プロジェクトにより、ヒト微生物叢に関する公共の基礎データがある程度整備され、機能解析に向けた研究を強く推進すべき時期にあることが改めて確認された。機能解析において必要な研究・技術（例えば、難培養微生物培養技術、ノトバイオート技術、メタボローム解析技術、小腸内視鏡技術、免疫研究ほか）はわが国が世界トップレベルの強みを有するものが多く、それらを最大限活用することで世界をリードするインパクトの高い成果創出が期待される。また、欧米の収集した基礎データでは、日本人特有の情報（日本人健常者情報、日本人特有の細菌）が不足しているため、機能解析に向けた研究の基盤としての情報整備も強く求められる。具体的には次のテーマ設定の重要性が見出された。

【柱1：生体恒常性の維持・破綻機構の理解】

免疫研究、宿主ゲノム／エピゲノム研究、代謝研究、イメージング研究、栄養研究、疾患研究、システムバイオロジー

【柱2：健康・医療技術の創出】

診断技術（健康状態の評価、疾患診断）、治療技術（微生物カクテル技術、医薬品など）、予防技術（食品、運動など）

【柱3：研究・技術基盤の整備・活用】

難培養微生物培養技術、ノトバイオート技術、メタゲノム解析技術、メタボローム解析技術、サンプリング技術（小腸内視鏡）、健常者情報の取得・解析、データベースの整備・統合活用

以上のテーマの推進方策として、微生物叢の培養・操作・解析に必須な「柱3」に挙げた技術群について、集約・拠点化を実施し、「柱1」「柱2」を担う全国のアカデミア・企業研究者との連携を図ることが効率的・効果的であると考えられた。「柱3」に挙げた健常者情報について、その規模や収集すべき情報項目、推進体制について十分な議論の上、集中的に収集・解析を実施することが重要であると考えられた。

さらに、ヒト微生物叢研究の推進による波及効果はきわめて大きいことが強く認識された。ヒト微生物叢の理解は、様々な生命現象を解き明かす重要な切り口になるだけでなく、健康・医療産業へのインパクトも期待される。例えば製薬関係では、既に米国において微生物カクテルの臨床試験が推進（わが国の研究成果に基づくケースも含む）され、将来的にはヒト微生物叢－宿主相互作用で見出された知見に基づく創薬活動が一般的になりうる

との意見もみられた。また、エビデンスに基づく新たな健康食品の創出などが進展し、健康産業化も大きく活性化しうる。本ワークショップでは主にヒトの微生物叢について議論を行なったが、微生物叢はヒト以外の様々なところ（動物、植物、土壌、海中、大気中ほか）にも存在し何らかの役割を担っていると考えられ、ヒト微生物叢研究を通じて構築された知識・技術基盤はそれら分野への展開、活性化が期待される。

付録 ワークショップ概要(プログラムなど)

会合名：「ヒト微生物叢（マイクロバイオーーム）に関する研究開発戦略のあるべき姿」
ワークショップ

場 所：国立研究開発法人 科学技術振興機構 東京別館（五番町）4階会議室 F

日 時：平成 27 年 12 月 6 日（日） 10：30～17：45

プログラム：

10：30 ～ 開会挨拶：

永井 良三（JST-CRDS 上席フェロー）

本田 賢也（JST-CRDS 特任フェロー）

10：40 ～ 趣旨説明：

辻 真博（JST-CRDS フェロー）

11：00 ～ 「情報統合データベースおよびその活用 オープンデータで世界の標準化を目指せ」

黒川 顕（東京工業大学 地球生命研究所（ELSI）教授）

11：20 ～ 「粘膜免疫—消化管粘膜と腸内微生物叢の相互作用—」

竹田 潔（大阪大学大学院 医学系研究科 感染症免疫学講座・免疫制御学 教授）

11：40 ～ 「栄養・健康科学に着目した腸内細菌叢の構築と免疫応答・疾患」

國澤 純（医薬基盤・健康・栄養研究所 ワクチンマテリアルプロジェクト
プロジェクトリーダー）

12：00 ～ 「話題提供（科研費解析）」

辻 真博（JST-CRDS フェロー）

13：00 ～ 「エピゲノムと微生物叢研究」

牛島 俊和（国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野 分野長）

13：20 ～ 「微生物のゲノム解析」

服部 正平（早稲田大学 理工学術院 教授）

13：40 ～ 「宿主と腸内細菌叢との共生関係から生まれる機能性（脂質）代謝物のメタボ
ローム解析」

有田 誠（理化学研究所 統合生命医科学研究センター メタボローム研究
チームチームリーダー）

14：00 ～ 「腸内細菌叢由来代謝物質による生体恒常性維持機構」

福田 真嗣（慶應義塾大学 先端生命科学研究所 特任准教授）

14：20 ～ 「難培養微生物培養技術／食品企業研究社の視点」

野本 康二（株式会社ヤクルト本社 中央研究所 特別研究員）

14：40 ～ 「疾患：IBD」

金井 隆典（慶應義塾大学 医学部 内科学（消化器） 教授）

15：00 ～ 「疾患：アトピー」

天谷 雅行（慶應義塾大学 医学部 皮膚科 教授）

<休憩>

15：40 ～ 「健常者情報の重要性」

小安 重夫（理化学研究所 理事）

16：00 ～ 「製薬企業の視点①」

坂田 恒昭（塩野義製薬株式会社 シニアフェロー）

16：20 ～ 「製薬企業の視点②」

鍋島 竜介（小野薬品工業株式会社 筑波研究所 先端医薬研究部 部長）

16：40 ～ 総合討論

司会：本田 賢也（JST-CRDS 特任フェロー）／辻 真博（JST-CRDS フェロー）

指定コメント：「わが国のヒト microbiome 研究が目指すべき方向性」

大野 博司（理化学研究所 統合生命医科学研究センター 粘膜
システム研究グループグループディレクター）

17：40 ～ 閉会の挨拶

永井 良三（JST-CRDS 上席フェロー）

■作成メンバー■

総括責任者	: 永井 良三	上席フェロー	(ライフサイエンス・臨床医学ユニット)
リーダー	: 辻 真博	フェロー	(ライフサイエンス・臨床医学ユニット)
メンバー	: 西野 恒代	フェロー	(ライフサイエンス・臨床医学ユニット)
	齊藤 知恵子	フェロー	(ライフサイエンス・臨床医学ユニット)
	鶴峰 麻耶子	主査	(人財部)
	和田 久司	調査員	(研究プロジェクト推進部)

※お問い合わせ等は下記ユニットまでお願いします。

CRDS-FY2015-WR-12

「ヒト微生物叢（microbiome）に関する研究開発戦略の あるべき姿」

平成 28 年 3 月 March 2016

国立研究開発法人 科学技術振興機構 研究開発戦略センター
ライフサイエンス・臨床医学ユニット
Life Science and Clinical Research Unit,
Center for Research and Development Strategy
Japan Science and Technology Agency

〒102-0076 東京都千代田区五番町 7 番地

電 話 03-5214-7481

ファックス 03-5214-7385

<http://www.jst.go.jp/crds/>

©2015 JST/CRDS

許可無く複写／複製することを禁じます。
引用を行う際は、必ず出典を記述願います。

No part of this publication may be reproduced, copied, transmitted or translated without written permission. Application should be sent to crds@jst.go.jp. Any quotations must be appropriately acknowledged.

