

第27回腸内フローラシンポジウム
27th Symposium on Intestinal Flora

腸内フローラと
ディスバイオーシス (バランス失調)
Intestinal Microbiota and Dysbiosis

講演要旨集
Abstracts

日 時 平成30年10月26日 (金) 午前10時～午後5時30分
Date : Friday, October 26, 2018 10:00a.m.～5:30p.m.
場 所 ヤクルトホール (東京・新橋)
Venue : Yakult Hall (Shimbashi, Minato-ku, Tokyo)
主 催 公益財団法人 ヤクルト・バイオサイエンス研究財団
Sponsor : Yakult Bio-Science Foundation
後 援 文 部 科 学 省
Support : Ministry of Education, Culture, Sports, Science and
Technology – Japan

プ ロ グ ラ ム

午 前 の 部 10:00~12:00

- 主 催 者 挨 拶 澤 田 治 司 (ヤクルト・バイオサイエンス研究財団 理事長)
来 賓 挨 拶 仙 波 秀 志 (文部科学省研究振興局ライフサイエンス課 課長)
は じ め に 神 谷 茂 (杏林大学 保健学部 総合座長)

[座 長:伊 藤 喜久治 (東京大学)]

- 特別講演 1 「腸内細菌による免疫修飾」…………… 3
本 田 賢 也 (慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学)
- 特別講演 2 「抗菌薬耐性微生物に対する耐性を持つ共生細菌の同定」…………… 7
Eric G. Pamer (メモリアル スローン ケタリングがんセンター 米国)

午 後 の 部 13:15~17:30

[座 長:大 草 敏 史 (順天堂大学)]

- 講 演 1 「ディスバイオーシス、腸内フローラ・脳・腸関連とメンタルヘルス」…………… 11
Christopher A. Lowry (コロラドボルダー大学 米国)
- 講 演 2 「腸管外現象に影響を及ぼす特定の乳酸菌」…………… 15
金 井 隆 典 (慶應義塾大学医学部 内科学〔消化器〕)

[座 長:松 本 敏 (ヤクルト本社中央研究所)]

- 講 演 3 「口腔微生物叢と歯のケアが腸内微生物叢に及ぼす影響」…………… 19
花 田 信 弘 (鶴見大学歯学部 探索歯学講座)

一 休 憩 15:10~15:30

[座 長:加 藤 公 敏 (日本大学)]

- 講 演 4 「ヒト腸内フローラの個体レベル研究と臨床研究：
定量的フローラモニタリングの必要性」…………… 24
Jeroen Raes (KU ルーベン -VIB 微生物学センター ベルギー)
- 講 演 5 「腸内フローラの dysbiosis とプロバイオティクス・
シンバイオティクスの応用」…………… 28
朝 原 崇 (ヤクルト本社中央研究所)

- 総 合 討 論 [座 長:神 谷 茂 (杏林大学)]

P R O G R A M

10 : 00 ~ 12 : 00

Welcome Address : Haruji Sawada (President, Yakult Bio-science Foundation)

Guest Address : Hideshi Semba (Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology-Japan)

Introduction : Shigeru Kamiya (Kyorin University Faculty of Health Sciences, Japan)

Keynote Lecture :

[Chair : Kikuji Itoh (The University of Tokyo)]

1. **“Immune modulation by the gut microbiota”** 3
Kenya Honda (Keio University School of Medicine
Department of Microbiology and Immunology, Japan)
2. **“Identifying commensal bacteria that provide resistance against antibiotic-resistant pathogens”** 7
Eric G. Pamer (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, N.Y. USA)

13 : 15 ~ 17 : 30

Lecture :

[Chair : Toshifumi Ohkusa (Juntendo University School of Medicine)]

1. **“Dysbiosis, the microbiome-gut-brain axis, and mental health”** 11
Christopher A. Lowry (University of Colorado Boulder, C.O. USA)
 2. **“Selected Lactobacilli-dependent extraintestinal immune responses”** 15
Takanori Kanai (Keio University School of Medicine
Department of Gastroenterology and Hepatology, Japan)
- [Chair : Satoshi Matsumoto (Yakult Central Institute)]
3. **“Effect of oral microbiota and dental care to intestinal microbiota”** 19
Nobuhiro Hanada (Department of Translational Research,
Tsurumi University School of Dental Medicine, Japan)

—15 : 10 ~ 15 : 30 Break—

[Chair : Kimitoshi Katoh (Nihon University School of Medicine)]

4. **“Population-level and clinical studies of the human gut microbiome: the need for quantitative microbiome monitoring”** 24
Jeroen Raes (KU Leuven-VIB Center for Microbiology, Belgium)
5. **“Dysbiosis of Intestinal microbiota and application of probiotics and synbiotics”** 28
Takashi Asahara (Yakult Central Institute, Japan)

Discussion

[Chair : Shigeru Kamiya (Kyorin University)]

腸内細菌による免疫修飾

本田賢也

慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学教室

略歴：

1994 神戸大学医学部卒業

2001 京都大学大学院医学系研究科 博士課程修了

2001～2007 東京大学医学系研究科免疫学講座 助手・助教

2007～2009 大阪大学医学系研究科免疫制御学 准教授

2009～2013 東京大学医学系研究科免疫学講座 准教授

2013～現在 理化学研究所統合生命医科学研究センター・チームリーダー（兼任）

2014～現在 慶應義塾大学医学部微生物学免疫学教室教授

受賞歴：2015年 日本免疫学会賞 2016年 井上学術賞 2016年 持田記念学術賞

2016年 ベルツ賞 2018年 北里賞

その他：

2010～present Vedanta Bioscience, Scientific cofounder

2015～present Science Translational Medicine, Scientific Advisory Board Member

要約：ほ乳類の腸管には数百の腸内細菌（マイクロバイオータ）が存在し、宿主の生理機能に深く影響を及ぼしている。従ってマイクロバイオータを人為的に改善することが出来れば、複数の疾患に対する新たな治療戦略となり得る。我々は、消化管の恒常性維持機構を理解すると共に、個々の腸内細菌種が免疫システムにどのように影響を与えているかを還元化して把握して行く独自の研究手法を樹立してきた。この方法によってこれまでに、制御性T細胞、Th17細胞、Th1細胞、CD8 T細胞を特異的に誘導する腸内細菌種の同定に成功した¹⁻⁵⁾。

本研究では、健康人の便から、IFN γ 陽性（+）のCD8 T細胞を誘導する11菌株を単離することに成功した。IFN γ ⁺CD8 T細胞は、マウス腸管に多く恒常的に存在しているが、無菌マウスではその数が著減していることから、腸内細菌がその数を増やしていると考えられた。そこで、健康人6名の便をそれぞれ無菌マウスに投与したところ、それぞれの便でIFN γ ⁺CD8 T細胞誘導能が異なることがわかった。そこで最も協力的にIFN γ ⁺CD8 T細胞誘導が見られたマウスを選択し、その腸内容物を別の無菌マウスに投与し、異なる抗生物質を投与した。その結果、アンピシリンを投与した際に誘導が増強されることがわかった。再び最も強力にIFN γ ⁺CD8 T細胞誘導が見られたマウスを選択し、腸内容物を培養し、26菌株を単離した。そこからIFN γ ⁺CD8 T細胞誘導能を損なわずに11菌株にま

で絞り込むことが出来た。

IFN γ ⁺CD8 T細胞は、以前より、細胞内に感染する微生物の感染防御に非常に重要な働きをしていることが報告されている。さらに、IFN γ ⁺CD8 T細胞は、がん免疫において、エフェクター細胞として働くことが知られている。そこで我々は、免疫チェックポイント阻害薬と同定した11菌株の併用効果を検証した。マウスMC38がん移植モデルを用いた実験では、11菌株投与の抗腫瘍効果は抗PD-1抗体に匹敵するものであり、かつ抗PD-1抗体と11菌株を併用投与すると抗腫瘍効果が増強することがわかった。こうした11菌株と免疫チェックポイント阻害薬の併用効果は、抗CTL-4抗体との併用や、メラノーマのマウスモデルにおいても確認できた。今後、この11菌株を臨床応用したいと考えている。

参考文献

- 1) Ivanov, II *et al.* Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 139, 485-498, (2009).
- 2) Atarashi, K. *et al.* Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. *Science* 331, 337-341, (2011).
- 3) Atarashi, K. *et al.* Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* 500, 232-236, (2013).
- 4) Atarashi, K. *et al.* Th17 Cell Induction by Adhesion of Microbes to Intestinal Epithelial Cells. *Cell* 163, 367-380, (2015).
- 5) Atarashi, K. *et al.* Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science* 358, 359-365, (2017).

Immune modulation by the gut microbiota

Kenya Honda

Department of Microbiology and Immunology,
Keio University School of Medicine

Brief curriculum vitae :

1994 Kobe University, School of Medicine M.D.

2001 Kyoto University, Graduate School of Medicine Ph.D

2001-2007 Assistant Professor, Department of Immunology, The University of Tokyo

2007-2009 Associate Professor, Laboratory of Immune Regulation, Osaka University

2009-2013 Associate Professor, Department of Immunology, The University of Tokyo

2013-present Team Leader, Laboratory for Gut Homeostasis, RIKEN IMS

2014-present Professor, Dept of Microbiology and Immunology, Keio University School of Medicine

Honors and Awards : 2015 Japanese Society for Immunology Award ; 2016 The 32nd Inoue Prize for Science ; 2016 Academic Award of the Mochida Memorial Foundation ; 2016 Bälz award ; 2018 Kitasato award

Scientific Activities :

2010- present, Vedanta Bioscience, Scientific cofounder

2015-present Science Translational Medicine, Scientific Advisory Board Member

Abstract : The development and function of intestinal T cell populations are deeply affected by the composition of the microbiota. We have previously shown that specific members of the microbiota differentially promote the differentiation of intestinal TH17, TH1, and Treg cells¹⁻⁵).

In this study, we have identified and isolated 11 bacterial strains from healthy human fecal samples that can strongly induce interferon (IFN) - γ -expressing CD8⁺ T cells in the intestine. IFN γ ⁺CD8⁺ T cells are abundantly present in the intestine kept under specific-pathogen free conditions, whereas they are reduced in germ-free (GF) mice. To isolate IFN γ ⁺CD8⁺ T cell-inducible bacteria colonizing in the human intestine, GF mice were orally inoculated with stool samples collected from six healthy volunteers and housed in separate isolators. Individual stool samples showed considerable variability in the ability to elicit colonic IFN γ ⁺CD8⁺ T cell induction, and a mouse that exhibited the highest frequency of IFN γ ⁺CD8⁺ T cells was selected for the further experiments. Cecal

contents were collected from the selected mouse and inoculated into another GF mice, which were then treated with four different antibiotics through the drinking water. Oral gavage with the cecal contents from the selected mouse induced a significant increase in the frequency of IFN γ^+ CD8 $^+$ T cells in the colon of exGF mice, and ampicillin (Amp) treatment further enhanced the induction. Cecal contents were then collected from the Amp-treated mice and cultured *in vitro*. We succeeded in isolation of 26 strains, and selected 11 strains, which were positively correlated with the frequency of IFN γ^+ CD8 $^+$ T cells. The mixture of 11 strains sufficiently induced IFN γ^+ CD8 $^+$ T cells when colonized in GF mice. Repetitive gavages of SPF mice with the mixture of 11 strains enhanced the therapeutic effect of an immune checkpoint inhibitor against subcutaneously injected tumor. Therefore, our findings can potentially be applied to treatment/prevention of cancer.

References

- 1) Ivanov, II *et al.* Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 139, 485-498, (2009).
- 2) Atarashi, K. *et al.* Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. *Science* 331, 337-341, (2011).
- 3) Atarashi, K. *et al.* Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* 500, 232-236, (2013).
- 4) Atarashi, K. *et al.* Th17 Cell Induction by Adhesion of Microbes to Intestinal Epithelial Cells. *Cell* 163, 367-380, (2015).
- 5) Atarashi, K. *et al.* Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science* 358, 359-365, (2017).

抗菌薬耐性微生物に対する耐性を持つ共生細菌の同定

Eric G. Pamer, MD

メモリアル・スローン・ケタリングがんセンター 米国

略歴：Eric G. Pamer 医師は、メモリアル・スローン・ケタリングがんセンター (MSKCC) において、Head of the Division of Subspecialty Medicine、Enid A. Haupt Chair in Clinical Investigation、および Director of the Lucille Castori Center for Microbes, Inflammation & Cancer の要職を務めている。博士はケース・ウェスタン・リザーブ大学医学部より MD の学位を授与され、カリフォルニア大学サンディエゴ校 (UCSD) メディカルセンターにおいて内科医学および感染症学の臨床実習を修了した。UCSD (Charles E. Davis 博士に師事)、スクリプス研究所 (Maggie So 博士に師事)、ワシントン大学 (Michael Bevan 博士に師事) にてポストドクとして勤めた後、イェール大学に籍を移した。その後、2000年に自身の研究室を MSKCC に移し、そこで Chief of the Infectious Diseases Service の要職を 15年間に渡って務めた後に現職に至る。

要約：抗生物質耐性菌を含む病原細菌によって引き起こされる感染は、一般的にそれらが粘膜表面、特に腸上皮へ定着するところから始まる。バンコマイシン耐性 *Enterococcus faecium*、*Klebsiella pneumoniae* および *Clostridium difficile* は、抗生物質に対して高い耐性を有するが、腸内細菌叢はこれらが引き起こす感染に対する抵抗性を付与する。種々の抗生物質により処置したネズミおよびヒトの腸内細菌叢のメタゲノムシーケンス解析により、これらの一般的な院内感染原因菌に対する抵抗性獲得に関与する腸内細菌が同定され始めている。抗生物質治療後に、多様性に富む腸内細菌叢を移植する方法は、抗生物質耐性菌による感染症およびその患者間伝播を低減し得る手段として非常に有望である。

参考文献

- 1) Abt MC, Buffie CG, Susac B, Becattini S, Carter RA, Leiner I, Keith JW, Artis D, Osborne LC, Pamer EG. TLR-7 activation enhances IL-22-mediated colonization resistance against vancomycin-resistant enterococcus. *Science Translational Medicine*. 2016 ; 8 (327) : 327ra25.
- 2) Xiong H, Keith JW, Samilo DW, Carter RA, Leiner IM, Pamer EG. Innate Lymphocyte/Ly6C (hi) Monocyte Crosstalk Promotes *Klebsiella pneumoniae* Clearance. *Cell*. 2016 ; 165 (3) : 679-89.
- 3) Caballero S, Kim S, Carter RA, Leiner IM, Sušac B, Miller L, Kim GJ, Ling L, Pamer EG. Cooperating Commensals Restore Colonization Resistance to

- Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*. *Cell Host Microbe*. 2017 ; 21 (5) : 592-602.
- 4) Becattini S, Littmann ER, Carter RA, Kim SG, Morjaria SM, Ling L, Gyaltsen Y, Fontana E, Taur Y, Leiner IM, Pamer EG. Commensal microbes provide first line defense against *Listeria monocytogenes* infection. *Journal of Experimental Medicine*. 2017 ; 214 (7) : 1973-1989.
 - 5) Lewis BB, Carter RA, Ling L, Leiner I, Taur Y, Kamboj M, Dubberke ER, Xavier J, Pamer EG. Pathogenicity Locus, Core Genome, and Accessory Gene Contributions to *Clostridium difficile* Virulence. *MBio*. 2017 ; 8 (4) . pii : e00885-17.
 - 6) Haak BW, Littmann ER, Chaubard JL, Pickard AJ, Fontana E, Adhi F, Gyaltsen Y, Ling L, Morjaria SM, Peled JU, van den Brink MR, Geyer AI, Cross JR, Pamer EG, Taur Y. Impact of gut colonization with butyrate producing microbiota on respiratory viral infection following allo-HCT. *Blood*. 2018 ; Apr 19. pii : blood-2018-01-828996.
 - 7) Taur Y, Coyte K, Schluter J, Gjonbalaj M, Littmann E, Ling L, Miller L, Gyaltsen Y, Fontana E, Morjaria S, Gyurkocza B, Perales MA, Castro-Malaspina H, Tamari R, Ponce D, Koehne G, Barker J, Jakubowski A, Papadopoulos E, Dahi P, Sauter C, Shaffer B, Young J, Peled J, Meagher R, Jenq R, van den Brink M, Giralt S, Pamer E, Xavier J. Microbiota-Remediation After Antibiotic-Induced Loss of Commensal Bacteria. *Science Translational Medicine*. In Press

Identifying commensal bacteria that provide resistance against antibiotic-resistant pathogens

Eric G. Pamer, MD
Memorial Sloan Kettering Cancer Center

Brief curriculum vitae : Eric G. Pamer, MD is the Head of the Division of Subspecialty Medicine, Enid A. Haupt Chair in Clinical Investigation and Director of the Lucille Castori Center for Microbes, Inflammation & Cancer at Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC) . He received his MD degree from Case Western Reserve University Medical School and completed clinical training in Internal Medicine and Infectious Diseases at UCSD Medical Center. He was a postdoctoral fellow with Charles E. Davis at UCSD, Maggie So at Scripps Research Institute and Michael Bevan at the University of Washington and then moved to Yale University. In 2000 he moved his laboratory to MSKCC where he served as the Chief of the Infectious Diseases Service for 15 years.

Abstract : Identifying commensal bacteria that provide resistance against antibiotic-resistant pathogens.

Infections caused by antibiotic-resistant bacteria generally begin with colonization of mucosal surfaces, in particular the intestinal epithelium. The intestinal microbiota provides resistance to infection with highly antibiotic-resistant bacteria, including Vancomycin Resistant *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae* and *Clostridium difficile*. Metagenomic sequencing of the murine and human microbiota following treatment with different antibiotics is beginning to identify bacterial taxa that are associated with resistance to these common, hospital-acquired pathogens. Reintroduction of a diverse intestinal microbiota following antibiotic treatment provides an important potential avenue to reduce antibiotic-resistant infections and their transmission from patient-to-patient.

References

- 1) Abt MC, Buffie CG, Susac B, Becattini S, Carter RA, Leiner I, Keith JW, Artis D, Osborne LC, Pamer EG. TLR-7 activation enhances IL-22-mediated colonization resistance against vancomycin-resistant enterococcus. *Science Translational Medicine*. 2016 ; 8 (327) : 327ra25.
- 2) Xiong H, Keith JW, Samilo DW, Carter RA, Leiner IM, Pamer EG. Innate Lymphocyte/Ly6C (hi) Monocyte Crosstalk Promotes *Klebsiella*

- pneumoniae Clearance. *Cell*. 2016 ; 165 (3) : 679-89.
- 3) Caballero S, Kim S, Carter RA, Leiner IM, Sušac B, Miller L, Kim GJ, Ling L, Pamer EG. Cooperating Commensals Restore Colonization Resistance to Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*. *Cell Host Microbe*. 2017 ; 21 (5) : 592-602.
 - 4) Becattini S, Littmann ER, Carter RA, Kim SG, Morjaria SM, Ling L, Gyaltsen Y, Fontana E, Taur Y, Leiner IM, Pamer EG. Commensal microbes provide first line defense against *Listeria monocytogenes* infection. *Journal of Experimental Medicine*. 2017 ; 214 (7) : 1973-1989.
 - 5) Lewis BB, Carter RA, Ling L, Leiner I, Taur Y, Kamboj M, Dubberke ER, Xavier J, Pamer EG. Pathogenicity Locus, Core Genome, and Accessory Gene Contributions to *Clostridium difficile* Virulence. *MBio*. 2017 ; 8 (4) . pii : e00885-17.
 - 6) Haak BW, Littmann ER, Chaubard JL, Pickard AJ, Fontana E, Adhi F, Gyaltsen Y, Ling L, Morjaria SM, Peled JU, van den Brink MR, Geyer AI, Cross JR, Pamer EG, Taur Y. Impact of gut colonization with butyrate producing microbiota on respiratory viral infection following allo-HCT. *Blood*. 2018 ; Apr 19. pii : blood-2018-01-828996.
 - 7) Taur Y, Coyte K, Schluter J, Gjonbalaj M, Littmann E, Ling L, Miller L, Gyaltsen Y, Fontana E, Morjaria S, Gyurkocza B, Perales MA, Castro-Malaspina H, Tamari R, Ponce D, Koehne G, Barker J, Jakubowski A, Papadopoulos E, Dahi P, Sauter C, Shaffer B, Young J, Peled J, Meagher R, Jenq R, van den Brink M, Giralt S, Pamer E, Xavier J. Microbiota-Remediation After Antibiotic-Induced Loss of Commensal Bacteria. *Science Translational Medicine*. In Press

ディスバイオーシス、腸内フローラ・脳・腸連関とメンタルヘルス

Christopher A. Lowry
コロラドボルダー大学 アメリカ

略歴：

- ・アメリカ合衆国アリゾナ州チャンドラーに生誕（1965）
- ・ワイオミング大学を卒業（1987）
- ・オレゴン州立大学で博士号取得（1995）
- ・ブリストル大学で神経内分泌学を学ぶため、Prof. Stafford Lightmanに師事（1995～2007）
- ・コロラドボルダー大学助教（2007～2013）
- ・コロラドボルダー大学准教授（2013～現在）

Lowry博士の研究プログラムは、ストレスに関連する生理と行動、特にストレスからの回復、健康そして疾病における腸内フローラ・脳・腸連関の理解に焦点を当てている。博士は、Wellcome Trust Intermediate Level Research Career Development Fellowship (RCDF) (2002～2006) を受賞している。

要約：不安障害、心的外傷後ストレス障害（PTSD）のようなストレス関連精神障害、または情動障害などの負担を軽減する新規の予防および治療戦略が必要とされている。前臨床および臨床研究の両方で、炎症が精神障害の発症を促進することが示唆されている¹⁻⁴。したがって、炎症を軽減する免疫調節戦略は、これらの障害の予防や治療の可能性を秘めている⁵。我々は、マウス慢性的心理社会的ストレスモデルであるChronic Subordinate Colony (CSC) housingモデルを使用した試験によって、心理社会的ストレスが腸内細菌叢を攪乱し、病原性微生物の増殖や宿主の炎症が誘導されることを見出した。また、制御性T細胞（Treg）を活性化し、抗炎症性サイトカインの産生を増加させることが明らかになっている⁶。免疫調節生物製剤である *Mycobacterium vaccae* 加熱死菌体を同マウスに接種すると、PTSD様の症状の進展が抑制された¹。*M. vaccae* 接種によるこうした保護的な効果は、ストレスによって増殖する炎症性の腸内細菌群に対する防御効果に基づくものであることが解析により示されている。現在、PTSDを発症した退役軍人に免疫調節作用を有するプロバイオティクスを投与し、健康への影響を評価する臨床試験が進行中である。

参考文献

- 1) Reber SO, Siebler PH, Donner NC et al. Immunization with a heat-killed

preparation of the environmental bacterium *Mycobacterium vaccae* promotes stress resilience in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016 ; 113 : E3130-E3139.

- 2) Reber SO, Langgartner D, Foertsch S et al. Chronic subordinate colony housing paradigm : A mouse model for mechanisms of PTSD vulnerability, targeted prevention, and treatment-2016 Curt Richter Award Paper. *Psychoneuroendocrinology* 2016 ; 74 : 221-230.
- 3) Eraly SA, Nievergelt CM, Maihofer AX et al. Assessment of plasma C-reactive protein as a biomarker of posttraumatic stress disorder risk. *JAMA Psychiatry* 2014 ; 71 : 423-431.
- 4) Langgartner D, Peterlik D, Foertsch S et al. Individual differences in stress vulnerability : The role of gut pathobionts in stress-induced colitis. *Brain Behav Immun* 2017 ; 64 : 23-32.
- 5) Lowry CA, Smith DG, Siebler PH et al. The Microbiota, Immunoregulation, and Mental Health : Implications for Public Health. *Curr Environ Health Rep* 2016 ; 3 : 270-286.
- 6) Zuany-Amorim C, Sawicka E, Manlius C et al. Suppression of airway eosinophilia by killed *Mycobacterium vaccae*-induced allergen-specific regulatory T-cells. *Nat Med* 2002 ; 8 : 625-629.

Dysbiosis, the microbiome-gut-brain axis, and mental health

Christopher A. Lowry

University of Colorado Boulder, Boulder, CO, USA

Brief curriculum vitae : Born in Chandler, Arizona, United States of America (1965). Graduated from the University of Wyoming, Laramie, Wyoming (1987), and finalized PhD at Oregon State University (1995). Postdoctoral training in neuroendocrinology at the University of Bristol, under the leadership of Prof. Stafford Lightman (1995-2007). Assistant Professor at University of Colorado Boulder (2007-2013), Associate Professor at University of Colorado Boulder (2013-present). Dr. Lowry's research program focuses on understanding stress-related physiology and behavior with an emphasis on the role of the microbiome-gut-brain axis in stress resilience, health and disease. Dr. Lowry was awarded a Wellcome Trust Intermediate Level Research Career Development Fellowship (RCDF), 2002-2006.

Abstract : Novel prevention and treatment strategies are needed to reduce the burden of anxiety disorders, trauma and stressor-related psychiatric disorders such as posttraumatic stress disorder (PTSD), and affective disorders. Both preclinical and clinical studies suggest that inflammation increases vulnerability to development of psychiatric disorders¹⁻⁴). Consequently, immunoregulatory strategies to decrease inflammation have potential for the prevention and treatment of these disorders⁵). Using a murine model of chronic psychosocial stress, the chronic subordinate colony housing (CSC) model, we found that psychosocial stress induces gut dysbiosis, characterized by proliferation of pathobionts and host inflammation. Immunization with a heat-killed preparation of *Mycobacterium vaccae*, a bioimmunomodulatory agent previously shown to activate regulatory T cells (Treg) and to increase production of anti-inflammatory cytokines⁶), prevented development of a PTSD-like syndrome¹). Analysis suggests that the protective effects of *M. vaccae* immunization are due to protection from a stress-induced proinflammatory gut microbial community. Clinical trials investigating the potential health benefits of treatment with immunoregulatory probiotics in Veterans with PTSD are ongoing.

References

- 1) Reber SO, Siebler PH, Donner NC et al. Immunization with a heat-killed

- preparation of the environmental bacterium *Mycobacterium vaccae* promotes stress resilience in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016 ; 113 : E3130-E3139.
- 2) Reber SO, Langgartner D, Foertsch S et al. Chronic subordinate colony housing paradigm : A mouse model for mechanisms of PTSD vulnerability, targeted prevention, and treatment-2016 Curt Richter Award Paper. *Psychoneuroendocrinology* 2016 ; 74 : 221-230.
 - 3) Eraly SA, Nievergelt CM, Maihofer AX et al. Assessment of plasma C-reactive protein as a biomarker of posttraumatic stress disorder risk. *JAMA Psychiatry* 2014 ; 71 : 423-431.
 - 4) Langgartner D, Peterlik D, Foertsch S et al. Individual differences in stress vulnerability : The role of gut pathobionts in stress-induced colitis. *Brain Behav Immun* 2017 ; 64 : 23-32.
 - 5) Lowry CA, Smith DG, Siebler PH et al. The Microbiota, Immunoregulation, and Mental Health : Implications for Public Health. *Curr Environ Health Rep* 2016 ; 3 : 270-286.
 - 6) Zuany-Amorim C, Sawicka E, Manlius C et al. Suppression of airway eosinophilia by killed *Mycobacterium vaccae*-induced allergen-specific regulatory T-cells. *Nat Med* 2002 ; 8 : 625-629.

腸管外現象に影響を及ぼす特定の乳酸菌

金井隆典

慶應義塾大学医学部内科学（消化器）

職歴及び研究歴：

- 平成4年4月 慶應義塾大学医学部内科学（助手）
 - 平成4年6月 清水市立総合病院内科（医員）
 - 平成7年4月 清水市立総合病院内科（医長）
 - 平成7年9月 ハーバード大学Beth Israel Medical Center（リサーチフェロー）
 - 平成9年9月 慶応がんセンター内科（助手）
 - 平成12年8月 東京医科歯科大学医学部付属病院第一内科学（助手）
 - 平成13年4月 東京医科歯科大学医学部付属病院消化器内科学（助手）
 - 平成16年6月 東京医科歯科大学医学部付属病院消化器内科学（講師）
 - 平成20年4月 慶應義塾大学医学部消化器内科(准教授)東京医科歯科大学医学部(臨床教授)
 - 平成25年8月 慶應義塾大学医学部消化器内科（教授）
 - 平成26年4月 AMED（難治性疾患実用化研究事業；OCHプロジェクト）（統括班長）
 - 平成26年10月 慶應義塾大学免疫統括医療センター（センター長、兼任）
 - 平成28年8月 IBD（炎症性腸疾患）センター（センター長、兼任）
 - 平成29年10月 慶應義塾大学医学部学部長補佐
 - 平成30年7月 慶應義塾大学病院消化器センター（センター長、兼任）
- 主な研究テーマ：消化管疾患、炎症性腸疾患、腸内細菌学、粘膜免疫

要約：産業革命以降、近代化した衛生環境や医療の進歩によって、これまで人類を苦しめてきた致死性の感染症の大部分が克服出来るようになった。しかし、近代化した先進国を中心に、炎症性腸疾患といった腸の免疫難病ばかりではなく、腸管外の疾患である、喘息、花粉症、アトピー性疾患、肥満、糖尿病、動脈硬化、自閉症（20世紀病）なども増えてきている。日本では東京オリンピック開催のころから増えている。なぜ、人類誕生から20万年のうち直近100年という短期間に先進国を中心に増えてきたのか？ その原因として、ヒトの共生微生物‘腸内細菌’が注目されている。抗生物質の過剰使用、帝王切開、過衛生、食事の欧米化（高脂肪低繊維食）、発酵食品の衰退化、ストレス、運動不足、家畜や土壌からの隔絶など、さまざまな近代化生活様式によってヒトの共生微生物である“腸内細菌”は単純化し、細菌の構成パターンが乱れること（ディスバイオーシス）が原因ではないかと考えられている。しかし、腸に棲息する腸内細菌がなぜ、腸管以外の臓器の疾患にも影響するのかについてはいまだに不明であり、近

年やっと研究が始まったばかりである。我々のグループは炎症性腸疾患を研究するグループであるが、ラクトバシラス属の腸内細菌がさまざまな臓器（皮膚、肝臓）に影響を及ぼす事例を見出した。第一の話題は、Lactobacillus murinusがビオチンを独占的に消費し脱毛を誘導する。第二の話題Lactobacillus johnsoniiが肝臓においてIL-10/TGF- β 産生樹状細胞を増加させ、肝臓免疫寛容を誘導する。偶然、ラクトバシラス属の腸内細菌の話であるが、本セミナーでは詳細に紹介したい。

参考文献

- 1) Intestinal lamina propria retaining CD4+CD25+ regulatory T cells is a suppressive site of intestinal inflammation.
Makita S, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Yamamoto M, Kiyono H, Watanabe M.
J Immunol. 2007 Apr 15 ; 178 (8) : 4937-46.
- 2) A single strain of Clostridium butyricum induces intestinal IL-10-producing macrophages to suppress acute experimental colitis in mice.
Hayashi A, Sato T, Kamada N, Mikami Y, Matsuoka K, Hisamatsu T, Hibi T, Roers A, Yagita H, Ohteki T, Yoshimura A, Kanai T.
Cell Host Microbe. 2013 Jun 12 ; 13 (6) : 711-22.
- 3) Commensal Lactobacillus Controls Immune Tolerance during Acute Liver Injury in Mice.
Nakamoto N, Amiya T, Aoki R, Taniki N, Koda Y, Miyamoto K, Teratani T, Suzuki T, Chiba S, Chu PS, Hayashi A, Yamaguchi A, Shiba S, Miyake R, Katayama T, Suda W, Mikami Y, Kamada N, Ebinuma H, Saito H, Hattori M, Kanai T.
Cell Rep. 2017 Oct 31 ; 21 (5) : 1215-1226.

Selected lactobacilli-dependent extraintestinal immune responses

Takanori Kanai

Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of
Internal Medicine, Keio University School of Medicine

Brief curriculum vitae :

1989-1998 Instructor of Medicine, Keio University School of Medicine

1998-2000 Instructor of Medicine, Keio Cancer Center

2000- Instructor of Medicine, Tokyo Medical and Dental University

2003- Assistant Professor of Medicine, Tokyo Medical and Dental University

2005- Committee of Harvard Medical Institute Educational Program, TMDU

2006- Inflammatory Bowel Diseases. Section Editor

2007- Associate Professor of Medicine, Keio University School of Medicine

2008- Clinical Professor of Medicine (Visiting), Tokyo Medical and Dental University

2009- J Gastroenterology, Associate Editor

2011- Am J Physiol Gasrointest & Liver Physiol, Editorial Board member

2013- Professor of Medicine, Keio University School of Medicine

2017- Vice Dean, Keio University School of Medicine

Abstract : Since the Industrial Revolution, the modernized hygiene environment and medical advances have made it possible to overcome most of the fatal infectious diseases that have been afflicted with humanity so far. However, in advanced countries, not only intestinal immune diseases such as inflammatory bowel disease but also extraintestinal diseases such as asthma, hay fever, atopic disease, obesity, diabetes, arteriosclerosis, and autism (21st century diseases) are dramatically increasing. These diseases have been increasing since Japan began the first Tokyo Olympic Games. Why has it increased mainly from developed countries in the short term of the most recent 100 years from the birth of humanity to 200,000 years? As a cause, a human symbiotic microorganism ‘intestinal microbiota’ has attracted attention. Various modern lifestyles such as excessive use of antibiotics, caesarean section, hygiene environment, Westernization of meals (high fat and low fiber diet), decline of fermented foods, stress, lack of exercise, isolation from livestock and soil are believed to be causes of these diseases. It is thought that modern “intestinal microbiota” which should be a symbiotic microorganism is simplified and dysregulated by disturbance of

the constitution pattern of bacteria (dysbiosis). However, it is still unknown why intestinal bacteria living in the intestine affect diseases of organs other than the intestinal tract, and the research has only just begun at last. Our group is a group to study inflammatory bowel disease, but we coincidentally found cases in which *Lactobacillus* enteric bacteria affect various organs (skin, liver). The first topic, *Lactobacillus murinus* exclusively consumes biotin (Vitamin B7) and induces alopecia in mice. The second topic *Lactobacillus johnsonii* increases IL-10/TGF- β -producing dendritic cells in the liver and induces liver immune tolerance. It is a story about the intestinal bacteria of *Lactobacillus* by chance, but I would like to introduce it in detail at this seminar.

References

- 1) Intestinal lamina propria retaining CD4+CD25+ regulatory T cells is a suppressive site of intestinal inflammation.
Makita S, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Yamamoto M, Kiyono H, Watanabe M.
J Immunol. 2007 Apr 15 ; 178 (8) : 4937-46.
- 2) A single strain of *Clostridium butyricum* induces intestinal IL-10-producing macrophages to suppress acute experimental colitis in mice.
Hayashi A, Sato T, Kamada N, Mikami Y, Matsuoka K, Hisamatsu T, Hibi T, Roers A, Yagita H, Ohteki T, Yoshimura A, Kanai T.
Cell Host Microbe. 2013 Jun 12 ; 13 (6) : 711-22.
- 3) Commensal *Lactobacillus* Controls Immune Tolerance during Acute Liver Injury in Mice.
Nakamoto N, Amiya T, Aoki R, Taniki N, Koda Y, Miyamoto K, Teratani T, Suzuki T, Chiba S, Chu PS, Hayashi A, Yamaguchi A, Shiba S, Miyake R, Katayama T, Suda W, Mikami Y, Kamada N, Ebinuma H, Saito H, Hattori M, Kanai T.
Cell Rep. 2017 Oct 31 ; 21 (5) : 1215-1226.

口腔微生物叢と歯のケアが腸内微生物叢に及ぼす影響

○花田信弘¹、野村義明¹、村田貴俊¹、岡本公彰¹

¹鶴見大学歯学部探索歯学講座教授

略歴：1953年福岡市生まれ。1981年九州歯科大学歯学部卒業。1985年九州歯科大学大学院歯学研究科修了。1990年岩手医科大学歯学部助教授。1993年国立感染症研究所部長。2002年国立保健医療科学院部長。2008年鶴見大学歯学部教授。現在に至る。

主な研究テーマ： *Streptococcus mutans* 及び他の口腔細菌の病原性

要約：唾液中には多くの口腔細菌（ 10^8 cfu/mL）が含まれている。計算上では1000億 cfu～1500億 cfuの口腔細菌が毎日腸管に流入している。口腔細菌は胃を通過するとき胃酸によって殺菌されるので基本的には腸内に定着しない。たとえば口腔細菌が胃を安全に通過したとしても、腸管には特殊化された上皮細胞が存在している。その上皮細胞によって分泌される抗菌タンパク質が小腸の上皮細胞と細菌との接触を妨げる。結腸には、ムチンによって形成された網状ポリマーがあり、細菌が上皮細胞に接触することを阻止する。さらにこの網状ポリマーには抗菌タンパク質が保持されていて、捕捉された細菌を殺すことができる。腸管にはこの様な仕組みがあるために簡単には唾液により流入する口腔細菌の影響を受けないと考えられる¹⁾。

ところが、歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* の反復経口投与が回腸の腸内微生物叢の変化を介して内毒素血症を誘発し、それにより全身性炎症およびインスリン抵抗性を誘導することが動物実験で明らかにされた²⁾。 *P. gingivalis* の経口投与は、腸内微生物叢を有意に変化させ、腸内細菌の割合が減少し、血清エンドトキシン濃度が上昇した。腸組織では、腸の透過性に関与する遺伝子発現が下方制御されていた。より多くの量の細菌DNAが、感染マウスの肝臓で検出された²⁾。

この現象には歯周病菌の Outer membrane vesicle（外膜小胞（OMV））が関与していることが考えられる。 *P. gingivalis* には多数のOMVが存在している。無害な細菌のOMVはヒトの健康に貢献する免疫増強に働くが、有害な細菌のOMVは腸管の健康を損なうことが報告されている。たとえば無害な *Bacteroides fragilis* のOMVは、他の微生物に対して重要な栄養的役割を果たし、免疫細胞に対する抗炎症効果を促進する。しかし、ビルレンス因子を含む有害な *B. fragilis* は、大腸癌を含む腸疾患を惹き起こす³⁾。 *P. gingivalis* のOMVは、リポ多糖類（LPS）、線毛およびジンジパインを含む広範囲のビルレンス因子を含む。OMVは生物ではないので、胃酸や腸管のムチンによって形成された網状ポリマーの抗菌タンパク質にも影響を受けない。

口腔には歯が存在し、歯と舌の表面にはバイオフィームが形成されている。バイオフィームは、強い薬剤耐性と嫌気性の環境を持ち、歯周病菌だけでなくヘリコバクター・ピロリ菌のように口腔の常在微生物とはいえない細菌まで生息することが可能である⁴⁾。口腔バイオフィームを構成する細菌種の中には、*P. gingivalis*以外にもOMVを放出して、腸内微生物叢に悪影響を与える歯周病菌が多数含まれている。また、*Fusobacterium nucleatum*のFap2タンパク質は、T細胞免疫受容体との結合によってNK細胞媒介性腫瘍死滅を阻害する⁵⁾。このような機構により口腔の*F. nucleatum*は消化器系のがんに関連するのであろう。さらに、口腔の*Klebsiella pneumoniae*は、抗菌薬による腸内微生物叢の乱れに乗じて、腸管内に定着し、TH1細胞の過剰な活性化による炎症性腸疾患（クローン病や潰瘍性大腸炎）の発症を引き起こす⁶⁾。

このように、口腔細菌と腸管の健康には関連がある事が示されているので、人々の健康を維持するためには具体的な予防対策の提示が必要である。我々は、個人トレーと殺菌消毒薬を用いて歯面のバイオフィームを除去する口腔ケアの手法を開発した（Dental Drug Delivery System：3DS）。歯面のバイオフィームを3DSで繰り返し除去すると、もともと平均300菌種いた細菌種が平均150菌種に減少した。減少した細菌種を調べると、大幅に減少したのは*F. nucleatum*であった。一方で口腔常在菌のなかでも乳児の口腔に存在し、ヒトだけでなくチンパンジーでも固有のコア・マイクロバイオータを形成する*Streptococcus salivarius*はヒトに対する3DSによりその数を著しく増大させた。現在、我々は3DSの臨床試験で*P. gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*の口腔からの除菌を試みている。腸管とは異なりプロバイオティクス単独では、歯や舌の表面のバイオフィームを除去できない。口腔微生物叢と腸内微生物叢の改善のためには、歯科医療との連携が必要である。歯科医院で行う3DSによる口腔ケアと口腔のプロバイオティクスの組み合わせは、口腔と腸管の健康を維持するために必要な手法だと思われる。

参考文献

- 1) Johansson ME, Hansson GC. : . *Science*. 334 : 182-3, 2011.
- 2) Nakajima M, Arimatsu K, Kato T, et al. : *PLoS One*. 10 : e0134234, 2015.
- 3) Zakharzhevskaya NB, Vanyushkina AA, Altukhov IA, et al. : *Sci Rep*. 7 : 5008, 2017.
- 4) Yee JK. : *World J Gastroenterol*. 22 : 641-8, 2016.
- 5) Gur C, Ibrahim Y, Isaacson B, et al. *Immunity* 42 : 344-355, 2015.
- 6) Atarashi K, Suda W, Luo C, et al. : *Science*. 358 : 359-365, 2017.

Effect of oral microbiota and dental care to intestinal microbiota

○Nobuhiro Hanada¹, Yoshiaki Nomura¹,
Takatoshi Murata¹, Masaaki Okamoto¹

¹ Department of Translational Research,
Tsurumi University School of Dental Medicine

Brief curriculum vitae : Born in Fukuoka, 1953. Graduated from Kyushu Dental University School of Dentistry in 1981. Completed Doctor's Course, Graduate School of Dentistry, Kyushu Dental University in 1985. Associate professor of Iwate Medical University in 1990. Director of the National Institute of Infectious Disease in 1993. Director of the National Institute of Public Health in 2002. Professor of Tsurumi University School of Dental Medicine in 2008. To the present.

Major field of studies : Virulence properties of *Streptococcus mutans* and other oral bacteria.

Abstract : Saliva contains several oral bacteria (10^8 cfu/mL) . On an average, the count of oral bacteria ranges from 100 to 1500 billion cfu, which flow into the intestinal tract every day. Oral bacteria are killed by stomach acid and hence do not settle in the intestine. The antibacterial protein secreted by specialized epithelial cells limits the epithelial contact with oral bacteria in the small intestine. In the colon, there is a reticulated polymer formed by mucin, which prevents the contact of bacteria with epithelial cells. Furthermore, the mucus layer of colon is organized around the net-like polymer formed by mucin. The mucus layer acts as a mesh that retains the antibacterial proteins capable of killing the trapped bacteria. Because of this mechanism in the intestinal tract, we considered that it is not easily affected by oral bacteria flowing in with saliva¹⁾ .

However, repeated oral administration of *Porphyromonas gingivalis* elicits endotoxemia via changes in the gut microbiota of the ileum, and thereby induces systemic inflammation and insulin resistance²⁾. It is unclear why administration of *P. gingivalis* could affect gut microbiota composition, gut barrier function, and subsequent influx of gut microbiota into the liver. It is conceivable that outer membrane vesicles (OMVs) of *P. gingivalis* are involved in this intestinal permeability increment. *P. gingivalis* produces several OMVs. OMVs derived from harmless bacteria enhance immunity, contributing to human health; however, it is reported that harmful bacterial OMVs impair intestinal health. For

example, the OMVs of *Bacteroides fragilis* play an important nutritional role with respect to other microorganisms and promote anti-inflammatory effects on immune cells. However, toxigenic *B. fragilis* contributes to bowel disease, even leading to colon cancer³⁾. *P. gingivalis* OMVs contain a wide range of virulence factors including lipopolysaccharides (LPSs), pili, and a protease (gingipain). OMVs are not affected by stomach acid and antimicrobial proteins, because OMVs are not a living organism.

In the oral cavity, biofilms form on the surface of the teeth and tongue. Biofilm has strong drug resistance and form an anaerobic environment. It can contain not only periodontitis bacteria but also bacteria that are not indigenous to oral cavity like *Helicobacter pylori*⁴⁾. The oral biofilm contains not only *P. gingivalis*, but also many bacteria that release OMVs, which adversely affect the intestinal microbiota. In addition, Fap2 protein of *Fusobacterium nucleatum* inhibits NK cell-mediated tumor killing by binding to T cell immunoreceptor⁵⁾. Therefore, *F. nucleatum* in the oral cavity may be associated with cancer of the digestive system. Furthermore, *Klebsiella pneumoniae* in the oral cavity multiplies in those whose intestinal microflora is disrupted owing to long-term administration of antibiotics, settles in the intestinal tract, causing excessive activation of TH1 cells and eventually causing inflammatory bowel disease (Crohn Disease and ulcerative colitis)⁶⁾.

Therefore, oral bacteria are associated with the health of the intestinal tract, and it is necessary to find concrete preventive measures in order to maintain the health of people. We developed an oral care method to remove tooth biofilm using personal trays and sterilization disinfectants (Dental Drug Delivery System : 3DS). Repeated removal of the tooth surface biofilm in 3DS resulted in the reduction of the number of bacterial species. *F. nucleatum* decreased, while *Streptococcus salivarius*, which exists as the core microbiota in the oral cavity of not only in humans but also in chimpanzee, increased significantly. Currently, we are attempting to eradicate *P. gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* from the oral cavity in a 3DS clinical trial. Unlike in the intestinal tract, probiotics alone cannot remove the biofilm on the surface of the teeth and tongue. Therefore, professional care is also necessary for improving the composition of oral and intestinal microbiota. The combination of oral care by 3DS, conducted at a dental clinic, and probiotic of the oral cavity seems to be necessary to maintain oral and intestinal health.

References

- 1) Johansson ME, Hansson GC. : . *Science*. 334 : 182-3, 2011.
- 2) Nakajima M, Arimatsu K, Kato T, et al. : *PLoS One*. 10 : e0134234, 2015.
- 3) Zakhazhevskaya NB, Vanyushkina AA, Altukhov IA, et al. : *Sci Rep*. 7 : 5008, 2017.
- 4) Yee JK. : *World J Gastroenterol*. 22 : 641-8, 2016.
- 5) Gur C, Ibrahim Y, Isaacson B, et al. *Immunity* 42 : 344-355, 2015.
- 6) Atarashi K, Suda W, Luo C, et al. : *Science*. 358 : 359-365, 2017.

ヒト腸内フローラの個体レベル研究と臨床研究： 定量的フローラモニタリングの必要性

Jeroen Raes

KU Leuven-VIB Center for Microbiology, Belgium

略歴：2003年、ゲント大学（ベルギー）にて博士号を取得。その後、2003年から2005年にかけてフランダース・バイオテクノロジー研究機関（VIB、ベルギー）の植物システム生物学学部、2005年から2007年にかけて欧州分子生物学研究所（EMBL、ドイツ）にて博士研究員を務めたのち、同2007年にEMBLの正研究員に就任。2009年9月よりVIBのグループリーダー。これと重ねて2009年から2015年にかけてVIB-VUB（ベルギー）の教授（10% ZAP；Odyssey fellowship）兼グループリーダーを、2013年からはInteruniversity Institute of Bioinformatics Brussels（ベルギー）の副ディレクターおよびルーヴェン・カトリック大学（KU Leuven、ベルギー）の正教授（Hoofddocent）を兼務している。

要約：

定量的な個体レベルの腸内フローラモニタリング—フランダース腸内フローラプロジェクト（Flemish Gut Flora project）；

腸内細菌叢は、炎症性腸疾患、糖尿病、がんなどの多様な疾患に関与している。近年、こうした疾患に対する腸内細菌叢マーカーを明らかにすることを目的とした多くの臨床試験が進められているが、そもそもの一般的なヒト腸内細菌叢の多様性や、これを決定付ける因子に関する基本的な知見が不十分であるのが実情である。そこで本講演では、ベルギーのフランダース地方という限定された地域において腸内細菌叢の多様性を大規模調査した試験について紹介したい。我々は、5000人を上回る一般人コホートについて腸内細菌叢を解析すると共に、被験者背景データ、健康状態や生活スタイルに関する項目を含む詳細なメタデータを採集した。そして本コホートを基に、細菌叢の違いと健康の関係性や、細菌構成と相関するメタデータパラメータを解明するための大規模横断研究を進めている。今回の発表では、我々が大規模な腸内フローラモニタリングを進めてきたなかで得た経験を考察し、専門的な計算科学的手法の発展がいかに腸内細菌叢の解析とその解釈を支えてきたかを示したい。また、腸内細菌叢と疾患をテーマとする研究において、どのような交絡因子が重要であり、解析に組み込むべきかを提示する。加えて、フローサイトメトリーを基盤とした細胞数測定技術を腸内細菌叢の網羅的解析と組み合わせた「定量的細菌叢プロファイリング（Quantitative Microbiome Profiling, QMP；Vandeputte et al. Nature 2017）」の出現が、腸内細菌叢の多様性、細菌叢に基づく疾患マーカー、菌種間ネットワーク予測に対す

る解釈を変えつつあることを紹介する。

参考文献

- 1) Vandeputte D, Kathagen G, D'hoë K, Vieira-Silva S, Valles-Colomer M, Sabino J, Wang J, Tito RY, De Commer L, Darzi Y, Vermeire S, Falony G, Raes J

Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load.

Nature. 2017 Nov 23 ; 551 (7681) : 507-511. doi : 10.1038/nature24460.

Population-level and clinical studies of the human gut microbiome : the need for quantitative microbiome monitoring

Jeroen Raes

KU Leuven-VIB Center for Microbiology, Belgium

Brief curriculum vitae : PhD : Ghent University, Ghent, Belgium, 2003

Postdoc : Dept of Plant Systems Biology, VIB, Ghent, Belgium, 2003-05 Postdoc : EMBL, Heidelberg, Germany, 2005-2007

Scientist at EMBL, Heidelberg, Germany, 2007-2009 VIB Group leader since September 2009

Professor (10% ZAP : Odysseus fellowship), group leader, 2009-2015 at VIB-VUB, Brussels, Belgium

Vice director, Interuniversity Institute for Bioinformatics Brussels (IB) 2, since 2013

Full Professor (Hoofddocent), since 2013 at KU Leuven, Belgium

Abstract :

Quantitative, population-level microbiome monitoring - the Flemish Gut Flora project :

Alterations in the gut microbiota have been linked to various pathologies, ranging from inflammatory bowel disease and diabetes to cancer. Although large numbers of clinical studies aiming at microbiome-based disease markers are currently being performed, our basic knowledge about the normal variability of the human intestinal microbiota and the factors that determine this still remain limited. Here, I will present a large-scale study of the gut microbiome variation in a geographically confined region (Flanders, Belgium). A cohort of >5000 individuals from the normal population is sampled for microbiome analysis and extensive metadata covering demographic, health- and lifestyle-related parameters is collected. Based on this cohort, a large-scale cross-sectional study of microbiome variability in relation to health as well as parameters associated to microbiome composition is being performed. In this presentation, I will discuss our experiences in large-scale microbiome monitoring, show how the development of dedicated computational approaches can assist in microbiome analysis and interpretation, and which confounders are essential for inclusion in microbiome disease research. In addition I will show how Quantitative Microbiome Profiling (QMP ; Vandeputte et al. Nature 2017), which combines

microbiomics with flow cytometry-based cell counts, is profoundly changing our view on gut microbiota variation, disease markers and species interaction network prediction.

References

- 1) Vandeputte D, Kathagen G, D'hoë K, Vieira-Silva S, Valles-Colomer M, Sabino J, Wang J, Tito RY, De Commer L, Darzi Y, Vermeire S, Falony G, Raes J

Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load.

Nature. 2017 Nov 23 ; 551 (7681) : 507-511. doi : 10.1038/nature24460.

腸内フローラの dysbiosis とプロバイオティクス、 シンバイオティクスの応用

朝原 崇

株式会社ヤクルト本社中央研究所

略歴：1970年 東京都生まれ。1994年 東京農業大学大学院農学研究科修了。1994年 (株)ヤクルト本社入社。2006年 獣医学博士取得(麻布大学)。2008年 日本ビフィズス菌センター研究奨励賞受賞。2015年～ 東京農業大学大学院農学研究科非常勤講師。2016年～ 順天堂大学大学院医学研究科非常勤講師、東京農業大学農学部非常勤講師。

主な研究テーマ：プロバイオティクス、シンバイオティクスの感染防御に関する基礎および臨床研究

要約：近年、2型糖尿病のような生活習慣病の患者において、腸内細菌叢（フローラ）のバランスの破綻（dysbiosis）と、dysbiosisに伴う生体内への腸内細菌の侵入（Bacterial translocation, BT）が指摘されている¹⁾。さらに外科手術²⁾やICU入室^{3,4)}、がん化学療法施行といった重症病態の患者⁵⁾においては、腸管は侵襲の重要な標的臓器であり、極めて重篤な dysbiosis と BT による感染症が、患者の予後を左右する大きな問題となっている^{6,7)}。

プロバイオティクスの臨床領域への応用として、日本人2型糖尿病患者を対象とする「*Lactobacillus casei* シロタ株（乳酸菌）」を含むプロバイオティクス飲料の無作為化プラセボ対照2群並行比較試験が実施された。本飲料の16週間の飲用により腸内フローラが変化し、慢性炎症の原因となる腸内細菌の血液中へのBTが抑制されることが明らかにされている⁸⁾。

近年臨床では、プロバイオティクスとプレバイオティクスを併用する、シンバイオティクスという概念が定着してきている。プロバイオティクス単独での使用に比べより強い効果が期待できることから、特に重症病態の患者においては感染症を制御する手段として注目されている。医学領域においては、EBM (evidence-based medicine) という、実験的証拠に基づいた治療法の評価が重要視されており、医療に用いられるシンバイオティクスについては、医学的な質の高い臨床研究による有用性の証拠の蓄積が重要であると考えられる。そのような観点から特定のプロバイオティクスとプレバイオティクスの組み合わせ（シンバイオティクス; *L. casei* シロタ株, *Bifidobacterium breve* ヤクルト株およびガラクトオリゴ糖の併用）においては、消化器外科^{2,9-13)}や救命救急^{14,15)}の周術期患者を対象にした複数の臨床研究が実施されており、感染性合併症に対する予防効果や栄養管理における有用性が明らかにされている。また近年では、手術患者のみな

らず、がん化学療法施行下のがん患者において有害事象に対する軽減作用（発熱性好中球減少症や重篤な下痢の減少）が認められており、適応症例が拡大されてきている⁵⁾。

以上のプロバイオティクス・シンバイオティクスによる感染性合併症予防のメカニズムとして、実験動物モデルや臨床研究の結果から、プロバイオティクス・シンバイオティクス投与による①腸内のdysbiosisおよび腸内環境（短鎖脂肪酸濃度、pH）の異常の改善、②感染症起因菌の腸内異常増殖の抑制、③腸管上皮のバリア機能（タイトジャンクション）の改善、からなるBTの抑制が重要であることが示されている^{12,13,16)}。

今後、プロバイオティクス・シンバイオティクスの基礎研究および臨床研究の情報を系統化し、科学的なデータをもとに適切な利用方法を確立することが、医療の現場で今以上にプロバイオティクス・シンバイオティクスが普及されていくうえで重要であると考えられる。

参考文献

- 1) Sato J, et al. *Diabetes Care* 37 : 2343-50, 2014.
- 2) Sugawara G, et al. *Ann Surg* 244 : 706-14, 2006.
- 3) Shimizu K, et al. *Dig Dis Sci* 56 : 1171-7, 2011.
- 4) Hayakawa M, et al. *Dig Dis Sci* 56 : 2361-5, 2011.
- 5) Motoori M, et al. *Clin Nutr* 36 : 93-9, 2017.
- 6) Mizuno T, et al. *Ann Surg* 252 : 1013-9, 2010.
- 7) Nishigaki E, et al. *Ann Surg* 259 : 477-84, 2014.
- 8) Sato J, et al. *Sci Rep* 21 : 12115, 2017.
- 9) Kanazawa H et al. *Langenbecks Arch Surg* 390 : 104-13, 2005.
- 10) Tanaka K et al. *Surgery* 152 : 832-42, 2012.
- 11) Okazaki M et al. *Nutrition* 29 : 1224-30, 2013.
- 12) Yokoyama Y, et al. *Br J Surg* 101 : 189-99, 2014.
- 13) Komatsu S, et al. *Langenbecks Arch Surg* 402 : 401-16, 2017.
- 14) Hayakawa M, et al. *Dig Dis Sci* 57 : 2642-9, 2012.
- 15) Shimizu K et al. *Dig Dis Sci* 58 : 23-32, 2013.
- 16) Asahara T, et al. *Antimicrob Agents Chemother* 60 : 3041-50, 2016.

Dysbiosis of intestinal microbiota and application of probiotics and synbiotics

Takashi Asahara

Yakult Central Institute, Senior Researcher

Brief curriculum vitae : Born in Tokyo, 1970. Completed Master's Course, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture in 1994. Joined Yakult Honsha Co., Ltd. in 1994. Received a PhD (veterinary medicine) from Azabu University in 2006. Part-time lecturer of Master's Course, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture as 2015. Part-time lecturer of Juntendo University Graduate School of Medicine as 2016.

Major field of studies : Protective effects of pro- and synbiotics against infection.

Abstract : In recent years the breakdown in the balance of intestinal microbiota referred to as dysbiosis and intestinal bacterial translocation (BT) in vivo accompanied by dysbiosis have been shown in patients with lifestyle diseases such as type 2 diabetes¹⁾. The intestines are also an important target for invasion in patients with severe pathologies, including surgery patients²⁾, patients in the ICU^{3,4)}, and cancer chemotherapy patients⁵⁾, and infections from very serious dysbiosis and BT are a major problem that impacts patient outcomes^{6,7)}.

A randomized, double-blind, two-arm parallel group, placebo-controlled study of a probiotics drink that included *Lactobacillus casei* strain Shirota (lactic acid bacteria) was conducted in Japanese type 2 diabetes patients as a clinical application of probiotics. The consumption of this drink for 16 weeks resulted in not only changes to intestinal microbiota, but also inhibition of intestinal BT to the blood, which is a cause of chronic inflammation⁸⁾.

In recent years the concept of synbiotics (combination of probiotics and prebiotics) has become established in clinical settings. Compared with the use of probiotics alone, a stronger effect can be expected with synbiotics. Thus, synbiotics have attracted attention as a means to control infectious disease especially in patients with severe pathologies. In the field of medicine, importance is attached to evaluations of therapeutic methods based on experimental evidence as evidence-based medicine (EBM), and accumulation of evidence from high quality clinical studies for the beneficial value of the synbiotics used in medical care is thought to be important. A number of clinical studies have been conducted from that perspective on the combination of specific probiotics and

prebiotics (synbiotics ; combination use of *L casei* strain Shirota, *Bifidobacterium breve* strain Yakult and galacto-oligosaccharides) reduces the severity of adverse events including febrile neutropenia, diarrhea,) in perioperative patients in gastrointestinal surgery^{2,9-13)} and critical care^{14,15)}, and the usefulness of synbiotics in the prevention of infectious complications and nutritional management has been demonstrated. In recent years synbiotics have also come to be recognized for their effects in alleviating adverse events in cancer patients receiving chemotherapy (reductions in febrile neutropenia and serious diarrhea) as well as in surgery patients, and indications for the use of synbiotics are expanding to a greater range of cases⁵⁾.

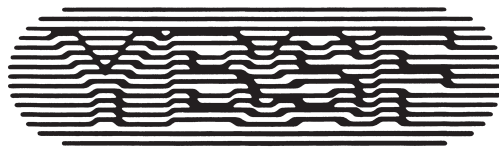
The results of experimental animal model studies and clinical studies on the mechanisms by which probiotics and synbiotics prevent infectious complications have shown that the control of BT from (1) improvement of intestinal dysbiosis and abnormalities in the intestinal environment (short chain fatty acid concentration, pH), (2) inhibition of abnormal proliferation of infection-causing bacteria in the intestines, and (3) improvements in the barrier function (tight junctions) of the intestinal epithelium is important^{12,13,16)}.

In the future, systematization of information from basic and clinical studies on probiotics and synbiotics, and the establishment of appropriate methods for their use based on scientific data will be important in spreading the use of probiotics and synbiotics in clinical settings beyond their current levels.

References

- 1) Sato J, et al. *Diabetes Care* 37 : 2343-50, 2014.
- 2) Sugawara G, et al. *Ann Surg* 244 : 706-14, 2006.
- 3) Shimizu K, et al. *Dig Dis Sci* 56 : 1171-7, 2011.
- 4) Hayakawa M, et al. *Dig Dis Sci* 56 : 2361-5, 2011.
- 5) Motoori M, et al. *Clin Nutr* 36 : 93-9, 2017.
- 6) Mizuno T, et al. *Ann Surg* 252 : 1013-9, 2010.
- 7) Nishigaki E, et al. *Ann Surg* 259 : 477-84, 2014.
- 8) Sato J, et al. *Sci Rep* 21 : 12115, 2017.
- 9) Kanazawa H et al. *Langenbecks Arch Surg* 390 : 104-13, 2005.
- 10) Tanaka K et al. *Surgery* 152 : 832-42, 2012.
- 11) Okazaki M et al. *Nutrition* 29 : 1224-30, 2013.
- 12) Yokoyama Y, et al. *Br J Surg* 101 : 189-99, 2014.
- 13) Komatsu S, et al. *Langenbecks Arch Surg* 402 : 401-16, 2017.

- 14) Hayakawa M, et al. *Dig Dis Sci* 57 : 2642-9, 2012.
- 15) Shimizu K et al. *Dig Dis Sci* 58 : 23-32, 2013.
- 16) Asahara T, et al. *Antimicrob Agents Chemother* 60 : 3041-50, 2016.



Yakult Bio-Science Foundation