

プ ロ グ ラ ム

午 前 の 部 11:00~12:10

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 辻 山 隆 (文部科学省 研究振興局ライフサイエンス課 生命科学専門官)
は じ め に 神 谷 茂 (杏林大学 医学部 総合座長)
〔座 長：神 谷 茂 (杏林大学)〕

特別講演 1 「自己免疫疾患と腸内細菌叢」…………… 3
大 野 博 司 (理化学研究所 生命医科学研究センター 粘膜システム研究チーム)

午 後 の 部 13:25~16:15

〔座 長：松 本 敏 (ヤクルト本社中央研究所)〕

講 演 1 「小児アレルギー疾患と皮膚・腸内細菌叢」…………… 9
下 条 直 樹 (千葉大学 予防医学センター)

〔座 長：伊 藤 喜久治 (東京大学)〕

講 演 2 「腸内細菌と睡眠：プロバイオティクスの脳腸相関を介した新しい機能」…………… 13
西 田 憲 生 (徳島大学大学院医歯薬学研究部 病態生理学分野)

— 休 憩 14:40~15:00 —

〔座 長：加 藤 公 敏 (日本大学)〕

講 演 3 「腸管と女性生殖器のマイクロビオータ：隣どうしの誼」…………… 21
早 川 智 (日本大学医学部 病態病理学系 微生物学分野)

〔座 長：大 草 敏 史 (順天堂大学)〕

講 演 4 「腸肺相関」…………… 28
福 永 興 壱 (慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学)

P R O G R A M

11 : 00 ~ 12 : 10

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

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

Introduction : Shigeru Kamiya (Kyorin University School of Medicine, Japan)

Keynote Lecture :

[Chair : Shigeru Kamiya (Kyorin University)]

- “Autoimmune diseases and gut microbiota”** 3
Hiroshi Ohno (Laboratory for Intestinal Ecosystem,
RIKEN Center for Integrative Medical Sciences, Japan)

13 : 25 ~ 16 : 15

Lecture :

[Chair : Satoshi Matsumoto (Yakult Central Institute)]

- 1. “Allergic diseases and skin / gut microbiota in childhood”** 9
Naoki Shimojo (Center for Preventive Medical Sciences, Chiba University, Japan)

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

- 2. “Gut microbiota and Sleep: novel beneficial effects of probiotics on gut-brain axis”** 13
Kensei Nishida (Department of pathophysiology, Institute of Biomedical Sciences,
Tokushima University Graduate School, Japan)

—14 : 40 ~ 15 : 00 Break—

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

- 3. “Microbiota of intestinal and female genital tracts, with the neighbors”** 21
Satoshi Hayakawa (Nihon University School of medicine
Department of Pathology and Microbiology, Japan)

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

- 4. “Gut-lung axis”** 28
Koichi Fukunaga (Pulmonary Division, Department of Medicine,
Keio University, School of Medicine, Japan)

自己免疫疾患と腸内細菌叢

大野博司^{1,2,3,4}

¹ 国立研究開発法人理化学研究所生命医科学研究センターチーム

² 地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所腸内細菌叢プロジェクト

³ 公立大学法人横浜市立大学大学院生命医科学研究科免疫生物学研究室

⁴ 国立大学法人千葉大学大学院医学研究院免疫制御学講座

略歴：

1958年、東京都生まれ。1983年 千葉大学医学部卒業後、1991年 千葉大学大学院医学研究科博士課程修了。1991年 千葉大学医学部助手、1994年 米国NIH訪問研究員、1997年 千葉大学医学部助教授、1999年 金沢大学がん研究所教授を経て2004年 理化学研究所チームリーダー。2005年より横浜市立大学大学院客員教授、2007年より千葉大学大学院客員教授、2017年より神奈川県立産業技術総合研究所プロジェクトリーダーを兼務。主な研究テーマ：腸管免疫学、特にM細胞の機能と分化の分子機構、ならびに宿主の生理/病理における腸内細菌叢の役割の理解。主な受賞：2016年 2015年度第20回安藤百福賞大賞・腸内細菌が食物成分を分解して産生する代謝産物による腸管免疫系制御の分子メカニズムの解明、2016年 第53回ベルツ賞（2等賞）・宿主-腸内細菌叢相互作用、2018年 2018年度文部科学大臣表彰 科学技術賞（研究部門）・腸内環境の統合的研究、2018年 第61回野口英世記念医学賞・宿主-腸内細菌相互作用の総合的理解に関する研究。

要約：

われわれヒトを含む動物の体内外の境界をなす皮膚や粘膜面には膨大な数の細菌が共生細菌叢として定着している。特にヒト大腸では、40兆以上と、宿主であるヒト個体を構成する約30兆とされるヒトの細胞数を超える細菌が生息している。近年のメタゲノム解析の急速な普及とともに、自己免疫疾患を含む様々な疾患に発症や病態の進展への腸内細菌叢の関与が示唆されている。

自己免疫疾患の主要な発症要因は遺伝的因子であるが、食事や感染症などの環境的要因も関与している。多発性硬化症や1型糖尿病などの自己免疫疾患は近年急増しており、衛生状態の向上に伴い病原菌や寄生虫などへの暴露が減少した綺麗すぎる環境が、先進諸国におけるアレルギーや自己免疫疾患など種々の疾患の急増に繋がっているといういわゆる「衛生仮説」が提唱された。これら諸国では生活水準の向上による栄養摂取過多も加わり、腸内細菌叢の異常、すなわちdysbiosisが起こることが疾患発症の一因と考えられる。

多発性硬化症は、中枢神経系の有髄神経のミエリン鞘に対する自己免疫応答により脱髄が起こり神経伝達が障害されるために生じる疾患である。脱髄は脳脊髄

の様々な部位に生じ、かつ消長するため、多彩な症状が増悪と寛解を繰り返し、患者によっては進行的に悪化することもある難病である。多発性硬化症患者における便中の細菌叢の dysbiosis が国内外から報告されている。

われわれは、多発性硬化症のマウスモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) を用いて、その発症に小腸の細菌が関与することを見いだした。すなわち、ミエリン鞘の自己抗原と交叉反応を示すペプチドをを発現する *Lactobacillus reuteri* 属菌と病原性の T h17 細胞に対するアジュバント活性を有する Erysipelotrichaceae 科に属する細菌が協働的に作用することで EAE の発症に寄与することを発見した。

われわれはまた、ストレプトゾトシン腹腔内投与による薬剤誘導性の自己免疫性 I 型糖尿病モデルマウスにおいて、マウスの腸管寄生虫 *Heligmosomoides polygyrus* 感染がその発症を抑制することを見だし、詳細な検討の結果、寄生虫が分泌するトレハロースが腸内細菌叢の一種である *Ruminococcus* 属菌を増やし、それがさらに CD8 陽性制御性 T 細胞を増やすことで、T1D の抑制に働くことを明らかにした。ヒトにおいても、T1D 患者の血中 CD8 陽性制御性 T 細胞の減少と糞便中のルミノコッカス属菌の減少が認められた。

これらの結果は、腸内細菌が自己免疫疾患の発症に重要な役割を果たしていることを示しており、今後これらの自己免疫疾患発症に関与するヒト腸内細菌を探索し、その発症制御機構をあきらかにすることで、腸内細菌叢に基づくこれら疾患の新たな発症予防法・治療法の開発に繋げたい。

参考文献

- 1) Sender R, Fuchs S, Milo, R.: Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell* 164: 337-340, 2016.
- 2) Clemente JC, Manasson J, Scher JU.: The role of the gut microbiome in systemic inflammatory disease. *BMJ* 360: j5145, 2018.
- 3) Chu F, Shi M, Lang Y, *et al.*: Gut Microbiota in Multiple Sclerosis and Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: Current Applications and Future Perspectives. *Mediators Inflamm* 2018: 8168717, 2018.
- 4) Han H, Li Y, Fang J, *et al.*: Gut Microbiota and Type 1 Diabetes. *Int J Mol Sci* 19: 995, 2018.
- 5) Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis - a review. *Eur J Neurol* 26: 27-40, 2019.
- 6) Miyauchi E, Kim S-W, Suda W, *et al.*: Gut microbes act in concert to exacerbate inflammation in spinal cords. *Nature* in press
- 7) Furman BL.: Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats.

Curr Protoc Pharmacol 70: 5.47.1-5.47.20, 2015.

- 8) Shimokawa C, Kato T, Takeuchi T, *et al.*: CD8+ regulatory T cells are critical in prevention of autoimmune-mediated diabetes. *Nat Commun* 11: 1922, 2020.

Autoimmune diseases and gut microbiota

Hiroshi Ohno^{1,2,3,4}

¹Laboratory for Intestinal Ecosystem, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences,

²Gut Microbiota Project, Kanagawa Institute of Industrial Science and Technology,

³Immunobiology Laboratory, Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University,

⁴Laboratory for Immune Regulation, Graduate School of Medicine, Chiba University

Brief curriculum vitae :

Born in Tokyo in 1958. After graduating from Chiba University School of Medicine in 1983, completed the doctoral course at Chiba University Graduate School of Medicine in 1991. Appointed as Assistant Professor, Chiba University School of Medicine in 1991, and joined NIH, USA as Visiting Scientist. Promoted to Associate Professor at the Chiba University School of Medicine, and full Professor at the Kanazawa University Cancer Research Institute in 1999. In 2004, moved to RIKEN as Team Leader. He has also served as Visiting Professor at Yokohama City University since 2005, Visiting Professor at Chiba University since 2007, and Project Leader at Kanagawa Prefectural Institute of Advanced Industrial Science and Technology since 2017. Main research interest: Understanding intestinal immunology, especially the molecular mechanisms of M-cell function and differentiation; and the role of gut microbiota in host physiology/pathology. Major award: 2015, Grand Prize, Momofuku Ando Award; 2016, Second Prize, Bälz Award; 2018, Commendation for Science and Technology by the Minister of Education, Culture, Sports, Science and Technology; 2018, The Hideyo Noguchi Memorial Award for Medical Science.

Abstract :

An enormous number of commensal microbiota resides on the skin and mucosal surfaces, the boundary separating the inside of our body and outside environment. In particular, in the human large intestine, there are over 40 trillions of bacteria, which exceed the number of somatic cells constituting a human body estimated to be ~30 trillions. With the rapid spread of metagenomic analysis in recent years, it has been suggested that gut microbiota is involved in the onset and progression of various diseases including autoimmune diseases.

While genetic factors are primarily responsible for autoimmune diseases, environmental factors including diet and infection also contribute to their risk. Autoimmune diseases such as multiple sclerosis (MS) and type 1 diabetes mellitus (T1D) have increased rapidly in recent years. The so-called “hygiene hypothesis” has been proposed; due to the improvement of hygiene, exposure to pathogenic bacteria and parasites has decreased, and the resulting overly clean environment has thought to correlate with a rapid increase in various diseases including allergies and autoimmune diseases in developed countries. In these countries, it is considered that the occurrence of dysbiosis, or abnormal gut microbiota, which is accompanied by excessive nutritional intake due to the improvement of living standards as well is one of the causative factors for these diseases.

We have been studying the impact of gut microbiota on MS and T1D. MS is a disease caused by demyelination and subsequent impaired neurotransmission due to an autoimmune response to the myelin sheath of myelinated nerves of the central nervous system. Demyelination occurs in various regions of the brain and spinal cord, which repeats exacerbations and remissions. Therefore, various symptoms repeatedly exacerbate and ameliorate, and may progressively worsen in some patients. Dysbiosis of fecal microbiota in MS patients has been reported from domestic and overseas. We found that small intestinal commensal bacteria are involved in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) , a mouse model of MS. Two distinct small intestinal bacteria act synergistically to develop EAE. One is *Lactobacillus reuteri* that expresses a peptide that cross-reacts with the self-antigen of myelin sheath, and another is belonging to the family Erysipelotrichaceae that have an adjuvant activity against pathogenic Th17 cells.

We also found that the intestinal parasite *Heligmosomoides polygyrus* infection in mice suppresses the development of streptozotocin-induced T1D model mice. It has been revealed that the parasite-secreted trehalose increases the number of *Ruminococcus* spp., in the feces, and that it further increases CD8+ regulatory T cells, thereby acting on the suppression of T1D. In T1D patients as well, we found a decrease in peripheral blood CD8+ regulatory T cells and fecal *Ruminococcus* spp.

These results indicate that gut microbiota plays an important role in the development of these autoimmune diseases, and in the future, human gut commensals involved in the development of these autoimmune diseases will be

searched for and the mechanisms for their onset control will be investigated. These approaches should lead to the development of new preventive and therapeutic strategies for these diseases based on gut microbiota.

References

- 1) Sender R, Fuchs S, Milo, R.: Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell* 164: 337-340, 2016.
- 2) Clemente JC, Manasson J, Scher JU.: The role of the gut microbiome in systemic inflammatory disease. *BMJ* 360: j5145, 2018.
- 3) Chu F, Shi M, Lang Y, *et al.*: Gut Microbiota in Multiple Sclerosis and Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: Current Applications and Future Perspectives. *Mediators Inflamm* 2018: 8168717, 2018.
- 4) Han H, Li Y, Fang J, *et al.*: Gut Microbiota and Type 1 Diabetes. *Int J Mol Sci* 19: 995, 2018.
- 5) Dobson R, Giovannoni G. Multiple sclerosis - a review. *Eur J Neurol* 26: 27-40, 2019.
- 6) Miyauchi E, Kim S-W, Suda W, *et al.*: Gut microbes act in concert to exacerbate inflammation in spinal cords. *Nature* in press
- 7) Furman BL.: Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc Pharmacol* 70: 5.47.1-5.47.20, 2015.
- 8) Shimokawa C, Kato T, Takeuchi T, *et al.*: CD8⁺ regulatory T cells are critical in prevention of autoimmune-mediated diabetes. *Nat Commun* 11: 1922, 2020.

小児アレルギー疾患と皮膚・腸内細菌叢

下条直樹

千葉大学予防医学センター

略歴：

東京生まれ。1979年 千葉大学医学部卒業・同小児科入局。1987年 学位取得後、米国国立衛生研究所 Visiting Fellow。2013年 千葉大学大学院医学研究院小児病態学教授。2020年 千葉大学予防医学センター特任教授。日本小児アレルギー学会理事、NPO法人千葉アレルギーネットワーク理事長。主な研究テーマ：アレルギー疾患の予防法の開発。

要約：

小児のアレルギー疾患の病態には複数の環境因子が関与している。最近の国内外の研究からは、皮膚バリア機能異常、ビタミンD摂取の低下、などの他、腸内細菌叢の異常（ディスバイオーシス）が候補として挙げられている¹⁾。しかし、具体的にディスバイオーシスがどのような機序でアレルギー疾患の病態に関与しているかは十分に解明されていない。米国のCanani, Naglerのグループは牛乳アレルギー児に加水分解乳と共に乳酸菌を投与すると酪酸産生菌が増加して寛解率が高まることを報告している²⁾。我々は、理化学研究所大野博士らとの共同研究として、経口免疫療法をおこなった小児牛乳アレルギー患者の臨床経過と腸内細菌叢・メタボロームの関連を解析したところ、寛解がえられた患者群ではえられなかった群と比較して、糞便中酪酸濃度が高く、酪酸産生に関与するある種の菌が多いことがわかった。今後、腸内の短鎖脂肪酸代謝に関連する菌群と小児のアレルギー疾患との関連についての研究の進展が期待される。一方、プロバイオティクスなど、腸内細菌叢を標的とする介入では、現在のところはアトピー性皮膚炎の発症予防のみで一定のエビデンスが得られており、他のアレルギー疾患の予防・治療における腸内細菌叢の関与は今後の課題である。

我々は、千葉県・東京都で複数のコホートを立ち上げて小児のアレルギー疾患の発症に関わる皮膚／腸内の細菌叢の解析を進めてきた。乳児健診で同一の児童をフォローしたところ、生後4か月での皮膚黄色ブドウ球菌定着が1歳半でのアトピー性皮膚炎の発症リスク因子であることが明らかになった。また、二つの出生コホート^{3,4)}で生後6か月での皮膚黄色ブドウ球菌定着が生後1歳でのアトピー性皮膚炎の発症リスク因子であった。一方、生後1か月での定着はその後のアトピー性皮膚炎発症に関連していなかった。興味深いことに、6か月での黄色ブドウ球菌定着にはクオラムセンシングに関わるAgrの発現が関与していることがわかった⁵⁾。鼻腔、腸管、皮膚の黄色ブドウ球菌定着には相関が認められており、

母子間のトランスミッションなどを今後解析して行く必要がある。

参考文献

- 1) Lopes JP, Sicherer S. Food allergy: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and treatment. *Curr Opin Immunol.* 2020;66:57-64.
- 2) Canani RB, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG-supplemented formula expands butyrate-producing bacterial strains in food allergic infants. *ISME J* 2016;10:742.
- 3) Nakano T, et al. Breastfeeding promotes egg white sensitization in early infancy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2020;31:315.
- 4) Dissanayake E, et al. Skin Care and Synbiotics for Prevention of Atopic Dermatitis or Food Allergy in Newborn Infants: A 2 × 2 Factorial, Randomized, Non-Treatment Controlled Trial. *Int Arch Allergy Immunol* 2019;180:202.
- 5) Nakamura Y, et al. Staphylococcus Agr virulence is critical for epidermal colonization and associates with atopic dermatitis development. *Sci Transl Med.* 2020;12:eaay4068.

Allergic diseases and skin/gut microbiota in children

Naoki Shimojo

Center for Preventive Medical Sciences, Chiba University

Brief curriculum vitae :

Born in Tokyo. 1979 Graduated from School of Medicine Chiba University. 1987 Visiting Fellow at National Institutes of Health (Natl Inst Neurol Dis and Strokes). 2013 Professor, Department of Pediatrics Graduate School of Medicine, Chiba University. 2020 Project Professor, Center for Preventive Medical Sciences, Chiba University. Major field of study : Prevention of Allergic diseases in childhood.

Abstract :

Several environmental factors are involved in the pathophysiology of allergic diseases in children. Recent studies in Japan and overseas suggest that abnormalities in the intestinal flora (dysbiosis) as well as abnormal skin barrier function, decreased vitamin D intake, etc. have been cited as candidates¹⁾. However, it is not fully elucidated how dysbiosis is involved in the pathophysiology of allergic diseases. Canani and Nagler in the United States have reported that administration of *Lactobacillus rhamnosus* GG along with hydrolyzed milk to cow's milk allergy increases the butyrate-producing bacteria and increases the remission rate²⁾. By collaborating with Prof. Ohno at RIKEN, we analyzed relationship between clinical course of cow's milk allergy children who received oral immunotherapy and gut microbiota and metabolites. We found that the concentration of butyric acid in the feces in children with sustained unresponsiveness (SU) was higher than that in those who could not obtain SU, and that there were some kinds of bacteria involved in butyric acid production. Advances in research on the association between bacteria related to short-chain fatty acid metabolism in the intestine and allergic diseases in children are expected. On the other hand, interventions that target the intestinal flora, such as probiotics, have provided some evidence to date only for the prevention of the development of atopic dermatitis.

We have set up several cohorts in Chiba Prefecture and Tokyo, and have proceeded with the analysis of skin/intestinal bacterial flora involved in the development of allergic diseases. Following the same child in the infant visiting on medical examination, we found that the *Staphylococcus aureus* colonization at

the age of 4 months was a risk factor for developing atopic dermatitis at one and a half years. In addition, colonization of *Staphylococcus aureus* at 6 months of age in two birth cohorts^{3,4)} was a risk factor for developing atopic dermatitis at 1 year of age. Interestingly, colonization at 1 month of age was not associated with subsequent development of atopic dermatitis. It was found that the expression of *Agr* related to quorum sensing is involved in *Staphylococcus aureus* colonization at 6 months⁵⁾. Correlation has been observed with *Staphylococcus aureus* colonization of nasal cavity, intestinal tract, and skin, and it is necessary to analyze transmission between mother and child in the future.

References

- 1) Lopes JP, Sicherer S. Food allergy: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and treatment. *Curr Opin Immunol.* 2020;66:57-64.
- 2) Canani RB, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG-supplemented formula expands butyrate-producing bacterial strains in food allergic infants. *ISME J* 2016;10:742.
- 3) Nakano T, et al. Breastfeeding promotes egg white sensitization in early infancy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2020;31:315.
- 4) Dissanayake E, et al. Skin Care and Synbiotics for Prevention of Atopic Dermatitis or Food Allergy in Newborn Infants: A 2 × 2 Factorial, Randomized, Non-Treatment Controlled Trial. *Int Arch Allergy Immunol* 2019;180:202.
- 5) Nakamura Y, et al. *Staphylococcus Agr* virulence is critical for epidermal colonization and associates with atopic dermatitis development. *Sci Transl Med.* 2020;12:eaay4068.

腸内細菌と睡眠：プロバイオティクスの脳腸相関を介した新しい機能

西田憲生

徳島大学大学院医歯薬学研究部病態生理学分野

略歴：

1975年、静岡県生まれ。2001年京都府立医科大学医学部医学科卒業。京都第一赤十字病院にて内科研修、消化器内科専攻医を経て、2009年徳島大学大学院プロテオミクス医科学専攻博士課程修了、医学博士取得。2009年米国 Columbia university, Post-doctoral fellow。2011年徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部助教、2015年徳島大学大学院医歯薬学研究部准教授。

主な研究テーマ：RNAバイオロジー、生体ストレス応答メカニズムの解明、脳腸相関を介した抗ストレス食品としてのプロバイオティクスの評価と開発。

要約：

ヨーグルトなどの発酵食品に含まれているプロバイオティクスは、古くから日常的な食品として摂取されてきた。近年の研究により、プロバイオティクスは、整腸作用にとどまらず、様々な機能を発揮することが分かってきた。その作用点の一つである腸内細菌叢は、脳腸相関において重要な役割を果たしており、Mind-altering microorganismsとも呼ばれるようになった。そのため、現在では、腸内細菌叢を含めた脳腸相関（Brain-Gut-Microbiota axis）の概念が広く認知されている¹⁾。そこで、プロバイオティクスの持つ腸内環境改善作用に注目し、脳腸相関を介したプロバイオティクスの中枢への作用、特に睡眠改善作用について介入研究を行った。本講演では、脳腸相関と睡眠について、介入研究の成果を含めて紹介したい。

脳腸相関を担う情報伝達経路は、大きく分けて神経因子と液性因子の二つが知られている。神経因子は、腸管上皮細胞や腸管内分泌細胞、M細胞、樹状細胞などが認識した腸内環境を、迷走神経が中枢に伝達する経路である。中枢に伝えられた腸管の情報は、最終的に脳の視床で統合され、迷走神経遠心路を介して、腸管および全身に伝えられる。液性因子を担うのは、消化管ホルモンや腸内細菌の代謝物であり、血流を通して、直接的あるいは間接的に中枢神経に作用する。腸内細菌叢を含めた腸管環境の情報は、これらの調節因子により、脳腸相関の相互作用ネットワークに反映される^{2,3)}。

睡眠リズムと生体の概日リズムは密接に関係している。概日リズムのペースメーカーは、脳の視床下部の視交叉上核（SCN, suprachiasmatic nucleus）に存在し、生体の概日リズム調節において中心的な役割を果たしている。腸管におい

ては、約30%の遺伝子発現が時計遺伝子により制御され、腸管上皮の増殖や、腸管透過性などが概日リズムを刻んでいる。このような腸管の概日リズムは、腸内細菌叢にも影響を及ぼす。マウスの腸内細菌叢は明期と暗期で増減パターンを示し、また、腸内細菌による代謝活性も概日リズムを刻んでいる。さらに、規則的な食餌摂取も腸内細菌の日内変動を調節していることが明らかにされた。このように、腸管では、時計遺伝子による制御と摂食行動が、腸内細菌と相互作用しながら概日リズムを形成すると考えられている^{4~8)}。

では、腸内環境や腸内細菌叢の変化が睡眠の質を改善するのであろうか。マウスでは、プレバイオティクスの投与が睡眠状態の変化を引き起こすとの報告⁹⁾があるが、現在のところ、そのメカニズムまで明らかにはなっていない。しかしながら、腸内環境と中枢神経系が非常に密接な関係にあることを考えると、腸内環境の改善は、直接的もしくは間接的な作用を介して睡眠の質的改善をもたらす可能性は十分にあると予想される。

そこで、我々は、ストレスバイオマーカーの探索の中で確立した医学部学生の進級試験ストレスモデルを用いて、プラセボ対照二重盲検比較試験（徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会にて承認）を実施した。被験者を、*Lactobacillus casei* Shirota (LcS) 含有飲料摂取群とプラセボ摂取群の2群にわけ、試験前後から11週間にわたり被験物を毎日摂取してもらった。LcSを摂取した群においては、ストレスによる腹部症状や体調不良などの身体症状の発症頻度が有意に低下していた。さらに、LcS群では、ストレスバイオマーカーである唾液コルチゾールの上昇が有意に抑えられ、LcSのストレス緩和作用を明らかにした^{10,11)}。次に、同じストレスモデルにおいて、LcS摂取が睡眠に及ぼす影響について検討を行った。睡眠に関する質問紙の解析から、LcS摂取は、ストレスにより生じる起床時眠気スコアの悪化を防ぎ、また、進級試験前後の睡眠時間スコア（睡眠の体感）を高く維持していた。さらに、睡眠時脳波を解析した結果、LcS摂取は、プラセボ群でみられた入眠潜時（眠るまでの時間）の延長を防ぐことが分かった。また、深睡眠時間（深く眠れている時間）は、プラセボ群ではストレスとともに短くなったが、LcS群ではむしろ長くなっていた。さらに、デルタパワー値（睡眠力）は、LcS群では、非常にストレスがかかる進級試験1か月前から急増していた。このように睡眠に関する主観的・客観的指標の解析結果から、LcS摂取は、睡眠の質的改善をもたらす可能性が示された¹²⁾。

これまでの一連の介入研究^{10~13)}から、LcS含有飲料は、ストレスによる身体症状の出現を予防・緩和し、さらに睡眠の質を改善する可能性が示唆され、抗ストレス食品として健康増進に寄与することが期待される。また、整腸作用にとどまらず、腸内環境改善を起点とした臓器間ネットワークに作用するプロバイオティクスの新しい機能に関する、更なる研究や開発に期待が集まっている。

参考文献

- 1) Cryan, J. F. & Dinan, T. G. Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 701–712 (2012) .
- 2) 須藤信行. 脳機能と腸内細菌叢. 腸内細菌学雑誌 31, 23–32 (2017) .
- 3) 六反一仁, 桑野由紀 & 西田憲生. ストレスと腸内細菌叢 : 乳酸菌を用いた新たな健康戦略. ストレス科学 33, 331–344 (2019) .
- 4) Konturek, P. C., Brzozowski, T. & Konturek, S. J. Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. *J. Physiol. Pharmacol.* 62, 139–150 (2011) .
- 5) Stokes, K. *et al.* The Circadian Clock Gene BMAL1 Coordinates Intestinal Regeneration. *Cmgh* 4, 95–114 (2017) .
- 6) Stearns, A. T., Balakrishnan, A., Rhoads, D. B., Ashley, S. W. & Tavakkolizadeh, A. Diurnal expression of the rat intestinal sodium-glucose cotransporter 1 (SGLT1) is independent of local luminal factors. *Surgery* 145, 294–302 (2009) .
- 7) Saito, H., Terada, T., Shimakura, J., Katsura, T. & Inui, K. I. Regulatory mechanism governing the diurnal rhythm of intestinal H⁺/peptide cotransporter 1 (PEPT1) . *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.* 295, 395–402 (2008) .
- 8) Lesauter, J., Hoque, N., Weintraub, M., Pfaff, D. W. & Silver, R. Stomach ghrelin-secreting cells as food-entrainable circadian clocks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 13582–13587 (2009) .
- 9) Thompson, R. S. *et al.* Dietary Prebiotics and Bioactive Milk Fractions Improve NREM Sleep , Enhance REM Sleep Rebound and Attenuate the Stress-Induced Decrease in Diurnal Temperature and Gut Microbial Alpha Diversity. 10, 1–16 (2017) .
- 10) Kato-Kataoka, A. *et al.* Fermented Milk Containing *Lactobacillus casei* Strain Shirota Preserves the Diversity of the Gut Microbiota and Relieves Abdominal Dysfunction in Healthy Medical Students Exposed to Academic Stress. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 3649–58 (2016) .
- 11) Takada, M. *et al.* Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut–brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterol. Motil.* 28, 1027–1036 (2016) .
- 12) Takada, M. *et al.* Beneficial effects of *Lactobacillus casei* strain Shirota on academic stress-induced sleep disturbance in healthy adults: a double-blind,

- randomised, placebo-controlled trial. *Benef. Microbes* 8, 153–162 (2017) .
- 13) Kato-Kataoka, A. *et al.* Fermented milk containing *Lactobacillus casei* strain Shirota prevents the onset of physical symptoms in medical students under academic examination stress. *Benef. Microbes* 7, 153–156 (2016) .

Gut microbiota and Sleep: novel beneficial effects of probiotics on gut-brain axis

Kensei Nishida

Department of pathophysiology, Institute of Biomedical Sciences,
(Tokushima University Graduate School, Japan)

Brief curriculum vitae :

I was born in Shizuoka in 1975. I graduated from the Faculty of Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine, in 2001, and worked as a medical intern and resident at Kyoto First Red Cross Hospital for 4 years. I received my Ph.D. from the Tokushima University Graduate School in 2009 and served as a post-doctoral fellow at Columbia University, USA, until 2011. After returning to Japan, I worked as an Assistant Professor at the Institute of Health Biosciences, Tokushima University, until 2014. Currently, I am working as an Associate Professor at the Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University.

Research interests :

RNA biology, mechanisms of stress response, and the evaluation and development of probiotics as anti-stress foods, based on their effects on the brain-gut axis

Abstract :

Probiotics contained in fermented foods such as yogurt have been ingested as a daily food for a long time. Recent studies have revealed that probiotics exert various functions as well as improving gut environment. The gut microbiota plays an important role in brain-gut axis, and is so-called Mind-altering microorganisms, and then, the concept of Brain-Gut-Microbiota axis is now widely recognized¹⁾. We focused on the gut environment-improving effect of probiotics, and conducted an intervention study on effects of probiotics on the central nerves system, especially sleep quality, through brain-gut axis. Herein, I would like to introduce relationship between the brain-gut axis and sleep as well as the results of our intervention researches.

The two major pathways responsible for gut-brain axis are known to be neural and humoral pathways. A neural pathway delivers information of the gut environment to the central nerve system, which are recognized by intestinal epithelial cells, endocrine cells, M cells, and dendritic cells. The

information is finally integrated in the thalamus, and transmitted to the whole body including the intestine via the vagal nerve tract. A humoral pathway is mediated by the gastrointestinal hormones and metabolites produced by gut bacteria, and consequently, the signals act directly or indirectly on the central nervous system through the bloodstream. The gut environment, including gut microbiota, is reflected in the brain-gut interaction network through these regulators^{2,3)}.

Sleep rhythm and biological circadian rhythm are closely related. The circadian rhythm pacemaker exists in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of the hypothalamus of the brain, which plays a central role in the regulation of the circadian rhythm. In the intestinal tract, about 30% of gene expression is controlled by clock genes, and proliferation of intestinal epithelium and intestinal permeability exhibit a circadian rhythm. These gut circadian rhythms also affect the gut microbiota. The murine gut microbiota showed a pattern of increase and decrease during the light and dark periods, and the metabolic activity of gut microbiota also showed a circadian rhythm. Furthermore, food intake also regulates diurnal variation of gut microbiota. Thus, expression of clock genes in the gut and feeding behavior are key regulators to maintain the host circadian rhythm of gut through interaction with gut microbiota^{4~8)}.

Then, alteration of the gut environment or microbiota composition may improve sleep quality? It has been reported that the administration of prebiotics altered sleep status⁹⁾, but, the mechanism has not been clarified. However, given the close relationship between the gut environment and the central nervous system, improvement of the gut environment may lead to improve of sleep quality.

To investigate this hypothesis, we conducted a placebo-controlled double-blind comparative study (approved by the Tokushima University Hospital Clinical Research Ethics Review Committee) using the stress model, which were established in the previous study for stress biomarkers. The subjects were divided into two groups, *Lactobacillus casei Shirota* (LcS) -containing beverage intake group and a placebo intake group. They ingested the test beverage daily for 11 weeks before and after the stress event. In the LcS group, the frequency of stress-induced physical symptoms such as abdominal symptoms was significantly reduced. Furthermore, in the LcS group, the stress-induced salivary cortisol levels was significantly suppressed. Therefore, daily intake of LcS exhibited the stress relieving effect^{10,11)}. Next, using the same

stress model, we examined effects of LcS intake on sleep quality. The analysis of a sleep questionnaire showed that LcS intake prevented worsening sleepiness scores at waking, and maintained sleep time scores (sleep feeling) before and after the stress event. Furthermore, as a result of analyzing electroencephalograms during sleep, we found that LcS intake prevented prolongation of the sleep onset latency (time to sleep) , which were observed in the placebo group. In addition, deep sleep time was decreased with stress in the placebo group, but rather increased in the LcS group. Delta power levels in the LcS group were significantly increased from one month before the stress event. According to these results of the analyses of subjective and objective indices regarding sleep, it was suggested that LcS intake may improve sleep quality under the stressful condition¹²⁾ .

A series of intervention studies^{10 ~ 13)} suggest that LcS-containing beverages may prevent/alleviate the appearance of stress-related physical symptoms and improve sleep quality, and consequently, contribute to health promotion as anti-stress foods. Furthermore, it is of interest to discover new functions of probiotics and to develop probiotics, which act not only on the intestine, but also on the interorgan network based on the improvement of the intestinal environment.

References

- 1) Cryan, J. F. & Dinan, T. G. Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 701–712 (2012) .
- 2) Sudo N. Gut Microbiota and Brain Function. *Chonaisaikingaku Zasshi (Japanese)* . 31, 23–32 (2017) .
- 3) Rokutan K, Kuwano Y, Nishida K. Stress and Gut Microbiota: Potential Benefits of Lactic Acid Bacteria for Health Promotion. *Jap J Stress Sci (Japanese)* , 33, 331–344 (2019) .
- 4) Konturek, P. C., Brzozowski, T. & Konturek, S. J. Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. *J. Physiol. Pharmacol.* 62, 139–150 (2011) .
- 5) Stokes, K. *et al.* The Circadian Clock Gene BMAL1 Coordinates Intestinal Regeneration. *Cmgh* 4, 95–114 (2017) .
- 6) Stearns, A. T., Balakrishnan, A., Rhoads, D. B., Ashley, S. W. & Tavakkolizadeh, A. Diurnal expression of the rat intestinal sodium-glucose

- cotransporter 1 (SGLT1) is independent of local luminal factors. *Surgery* 145, 294–302 (2009) .
- 7) Saito, H., Terada, T., Shimakura, J., Katsura, T. & Inui, K. I. Regulatory mechanism governing the diurnal rhythm of intestinal H⁺/peptide cotransporter 1 (PEPT1) . *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.* 295, 395–402 (2008) .
 - 8) Lesauter, J., Hoque, N., Weintraub, M., Pfaff, D. W. & Silver, R. Stomach ghrelin-secreting cells as food-entrainable circadian clocks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 13582–13587 (2009) .
 - 9) Thompson, R. S. *et al.* Dietary Prebiotics and Bioactive Milk Fractions Improve NREM Sleep , Enhance REM Sleep Rebound and Attenuate the Stress-Induced Decrease in Diurnal Temperature and Gut Microbial Alpha Diversity. 10, 1–16 (2017) .
 - 10) Kato-Kataoka, A. *et al.* Fermented Milk Containing *Lactobacillus casei* Strain Shirota Preserves the Diversity of the Gut Microbiota and Relieves Abdominal Dysfunction in Healthy Medical Students Exposed to Academic Stress. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 3649–58 (2016) .
 - 11) Takada, M. *et al.* Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut–brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterol. Motil.* 28, 1027–1036 (2016) .
 - 12) Takada, M. *et al.* Beneficial effects of *Lactobacillus casei* strain Shirota on academic stress-induced sleep disturbance in healthy adults: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Benef. Microbes* 8, 153–162 (2017) .
 - 13) Kato-Kataoka, A. *et al.* Fermented milk containing *Lactobacillus casei* strain Shirota prevents the onset of physical symptoms in medical students under academic examination stress. *Benef. Microbes* 7, 153–156 (2016) .

腸管と女性生殖器のマイクロビオータ：隣どうしの誼

早川 智, 高田和秀, 高野智圭, 相澤志保子
日本大学医学部 病態病理学系微生物学分野

略歴：1958年 岐阜県関市生まれ。1983年 日本大学医学部卒業。1987年 日本大学大学院修了（医学博士）。1985～86年 米国City of Hope研究所生殖遺伝学部門にて大野乾博士に師事。1986年 日本大学助手（産婦人科学無給）、1992年 同助手、第二病理学教室出向。1997年 同講師（専任扱）国立感染症研究所エイズ研究センター研究員併任、2004年 日本大学医学部助教授（先端医学講座・感染制御科学）、2007年 日本大学医学部病態病理学系微生物学分野教授。主な研究テーマ：女性生殖器の粘膜免疫と性感染症、母子感染 特に胎盤の感染防御機構。

要約：女性生殖器の常在菌

女性生殖器は外陰部から膣、子宮頸部を通じ、子宮体部へと繋がる（図1）。女性生殖器粘膜には消化管同様に独自の細菌叢が存在し本人のみならず胎児・新生児の健康に関与する。膣から子宮腔部は組織学的には重層扁平上皮に被覆され、子宮頸部外側の扁平上皮からSC Junctionを経て内側の単層円柱上皮へ移行する。膣を中心とする重層扁平上皮部分では、人にとって有益な常在菌を保持するために、ある程度自然免疫応答は抑制される。一方、子宮頸部から上部では子宮体部への上行感染を防ぐために、より厳格な自然免疫ならびに適応免疫応答が行われ、菌量は膣部と比べ子宮頸部では数百分の一、子宮体部では数千分の一まで減少する。

解剖学的に近位にあることから下部消化管から膣に少量の菌は常に移行する。面白いことに、腸内細菌叢は多様性に富むほど健常であるが、膣内は少数の菌種が独占する方が健常であり、優位菌種は*Lactobacillus*属である。生殖可能年齢の健常女性の膣内細菌叢は少なくとも五種類のCommunity state type (CST)が存在し、*Lactobacillus crispatus* 優位のCST-I、*Lactobacillus gasseri* 優位のCST-II、*Lactobacillus iners* 優位のCST-III、*Lactobacillus jensenii* 優位のCST-V、そして*Lactobacillus*が減少し優位でなくなり、*Gardnerella*、*Prevotella*、*Atopobium*や*Mobiluncus*を始めとする嫌気性菌が混在するCST-IVに分類される。*Lactobacillus*優位の場合、1、2種類の菌種が細菌叢の大半を占める。女性ホルモンによって膣上皮のグリコーゲン産生が誘導されると、これを基質として乳酸が産生され、膣内を酸性に保つ。子宮頸部および子宮体部の細菌叢に関しても、*Lactobacillus*優位の報告があるがコンセンサスを形成するには至っていない。*Lactobacillus*優位の膣内細菌叢はdysbiosisの阻止および感染防御といった恒常

性維持に關与する。乳酸のみならずバクテリオシンやH₂O₂産生、病原体との競合的阻害など様々なメカニズムで雑菌の増殖を抑止する。臨床的にも先に述べた腔細菌叢で、*L. crispatus*、*L. gasseri*、*L. jensenii*主体のCST- I、II、Vは「健康」な状態とされる。一方、同じく*Lactobacillus*属の*L. iners*主体や、嫌気性菌混在のCST-III、IVは細菌性腔症（bacterial vaginosis: BV）などdysbioticな状態に移行しやすく、性感染症への罹患リスクが高くHPVやHIVなどの感染リスクも高い。我々は腔上皮との共培養系で、*L. crispatus*が特異的に腔上皮再生を促進することを明らかにした^{1, 2)}。

乳酸、バクテリオシン、過酸化水素

腔内は主に*Lactobacillus*が産生する乳酸によってpHが約4.5に保たれる。乳酸の光学異性体の違いは生物学的活性の相違ともなり、D体の濃度が高いほど粘液によるHIV-1の捕捉や拡散防止効果が高いという。*Lactobacillus*が産生する乳酸光学異性体の種類や比率は種によって異なっており、*L. crispatus*と*L. gasseri*はL体とD体の両方を産生するが、*L. jensenii*はD体のみ、*L. iners*はL体のみを産生する。*Lactobacillus*をはじめ細菌は殺菌作用のあるペプチドであるバクテリオシンを産生し、他菌種の発育を阻害しているが、これに加えて腔内細菌叢のうち70～90%はH₂O₂を産生性の*Lactobacillus*が占める。

細菌叢と周産期疾患

BVなど腔内細菌叢のdysbiosisは、骨盤内炎症性疾患、子宮内膜炎、妊婦では絨毛膜羊膜炎から早産や新生児有害事象、HIVを始めとする性感染症や尿路感染症との関連が知られている（図2）。BVは細菌叢中の*Lactobacillus*が減少し、様々な偏性嫌気性菌や通性嫌気性菌が主体の細菌叢に置き換わる病態であり、腔スワブのグラム染色に基づいたNugentスコアで診断されるが、診断の客観性については議論の余地がある。米国NIHが推進するマイクロバイーム関連疾患Integrative Human Microbiome Project (iHMP) のテーマは、炎症性腸疾患と二型糖尿病のそして早産であるが、早産と生殖器のdysbiosisは前二者に比べて不明な点が多い。妊孕性のある女性と不妊患者の比較では*Lactobacillus*属特に*L. crispatus*が優位な腔内細菌である場合には着床率、妊娠率、継続妊娠率、および生産率が高く、体外受精の成功率も高い。妊娠中後期では早産女性の腔細菌叢で*L. crispatus*が有意に少なく、*G. vaginalis*と*L. iners*が早産と関連している可能性が報告されている。早産の他にも、流産、死産、絨毛膜羊膜炎、前期破水、妊娠高血圧腎症、および子宮内発育不全の発症率と関連があるという。早産例では腔に加えて腸内細菌叢の関与を示唆する報告もあり、今後の課題である。我々は胎盤絨毛細胞と細菌の共培養系で、歯周病菌*Polyphyllomonas gingivalis*が絨毛細胞の間質浸潤を強く抑制する^{3, 4)} 一方、*L. crispatus*が浸潤を促進することを明

らかにした⁵⁾。不十分な絨毛浸潤は胎児発育遅延や妊娠高血圧症候群の原因となることから歯周病がこれらの原因となるという疫学的事実に裏付けを与える一方、健全な膣—子宮内細菌叢が胎児の発育を促進する可能性を示唆する。

Lactobacillus属とヒトとの共進化の可能性

細菌叢と宿主は共に進化する。霊長類の中で、膣内細菌叢が*Lactobacillus*優位なのはヒトのみであり、他は多くても全体の数%しか存在しない。膣内のpHが乳酸によって低く保たれているのも人特有である。先に述べたように、ヒトの胎盤絨毛は*L. crispatus*によってより深く浸潤して胎盤血流を担保する。ヒトの大きな脳は、胎盤形成における*L. crispatus*の共存が可能にしたのかもしれない。

図1

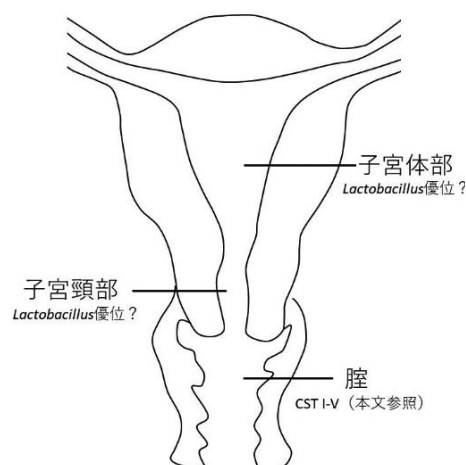
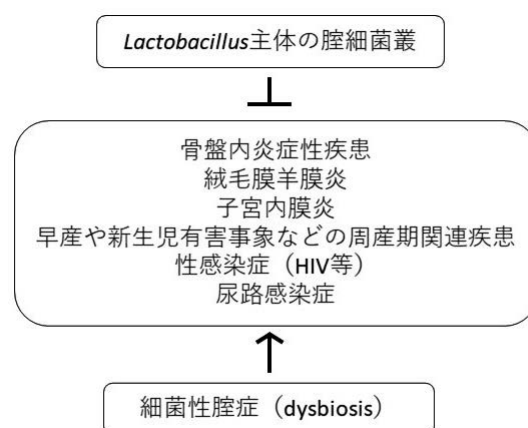


図2



参考文献

- 1) Takada K, Komine-Aizawa S, Tsuji N, Hayakawa S. Chapter 20. Interactions between the epithelial barrier and the microbiota in the reproductive tract. *Reproductive Immunology: Basic Concepts Academic Press*. 2021:In press.
- 2) Takada K, Komine-Aizawa S, Kuramochi T, Ito S, Trinh QD, Pham NTK, Sasano M, Hayakawa S. *Lactobacillus crispatus* accelerates re-epithelialization in vaginal epithelial cell line MS74. *Am J Reprod Immunol*. 2018 Sep;80 (3) :e13027.
- 3) Komine-Aizawa S, Hirohata N, Aizawa S, Abiko Y, Hayakawa S. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide inhibits trophoblast invasion in the presence of nicotine. *Placenta*. 2015 Jan;36 (1) :27-33.

- 4) Hirohata N, Komine-Aizawa S, Tamura M, Ochiai K, Sugitani M, Hayakawa S. *Porphyromonas gingivalis* Suppresses Trophoblast Invasion by Soluble Factors. J Periodontol. 2017 Dec;88 (12) :1366-1373.
- 5) Yoshida T, Takada K, Komine-Aizawa S, Kamei Y, Ishihara O, Hayakawa S. Trophoblast invasion is promoted by the vaginal lactic acid bacteria *Lactobacillus crispatus*. Submitted.

The microbiota of intestinal and female genital tracts: with the neighbors.

Satoshi Hayakawa, Kazuhide Takada,
Chika Takano and Shihoko Komine-Aizawa
Division of Microbiology, Department of Pathology and Microbiology
Nihon University School of Medicine

Brief curriculum vitae :

Born in Gifu, 1958. Graduated from Nihon University School of Medicine in 1983. Completed Doctor course of Nihon University in 1987. Post-doctoral fellow at the Beckman Institute of the City of Hope from 1985-86. Associate Professor of Obstetrics, Gynecology and Infectious Disease Control at Nihon University School of Medicine. Visiting scholar at National Institute of the Infectious diseases from 2004. Professor and Chair, Department of Pathology and Microbiology from 2007. Major research fields: Reproductive Immunology and Clinical immunology of female genital tract and transplacental infections.

Abstract :

Inner female genital organs consist with Fallopian tube, uterine corpus, uterine cervix and vagina. The mucosal surface of these organs is covered with their own flora which is involved in their health as well as the fetus and newborn. Histologically, uterine cervix and the vaginal walls are covered with squamous epithelia which produce glycogen under estrogen control.

Mucosal immune response is partially suppressed in lower female genital tracts to permit entry of sperm and coexistence of bacterial flora. In contrast, the upper part of the genital tract including uterine cavity possesses a stricter innate and adaptive immune response to prevent ascending infection but permit survival of fetal allograft. Importantly, the amounts of commensal bacteria are dramatically reduced in uterine cavity compared to the vaginal area.

Though bacterial components are constantly supplied from intestine to vagina, they have quite different bio-spectrums. In contrast to the gut microbiota, that of the genital tract is dominated by a few species including *Lactobacillus* spp. In general understanding, the vaginal microbiota of healthy women of reproductive age has at least five different community state types (CST) , including *Lactobacillus crispatus*-dominant CST- I , *Lactobacillus gasseri*-dominant CST- II , *Lactobacillus iners*-dominant CST- III , *Lactobacilli*

deficient CST-IV, which is associated with increased prevalence of anaerobes including *Gardnerella*, *Prevotella*, *Atopobium* and *Mobiluncus* and *Lactobacillus jensenii*-dominant CST-V. Estrogens promote the production of glycogen in the vaginal epithelium, which is metabolized into lactic acid by *Lactobacilli*. They also produce bacteriocin and H₂O₂ to keep vaginal cavities in acidic conditions to prevent dysbiosis and/or local infection. Clinically, the previously mentioned vaginal flora of *L. crispatus*, *L. gasseri*, and *L. jensenii*-dominated CST- I , II , and V are considered to be "healthy" conditions while *L. iners*, rich CST-III and dysbiotic CSTIV are at the risk of sexually transmitted infections including Chlamydia,HPV and HIV. We have reported promotion of vagina tissue repair by *L. crispatus* with a co-culture system of vaginal epithelia.

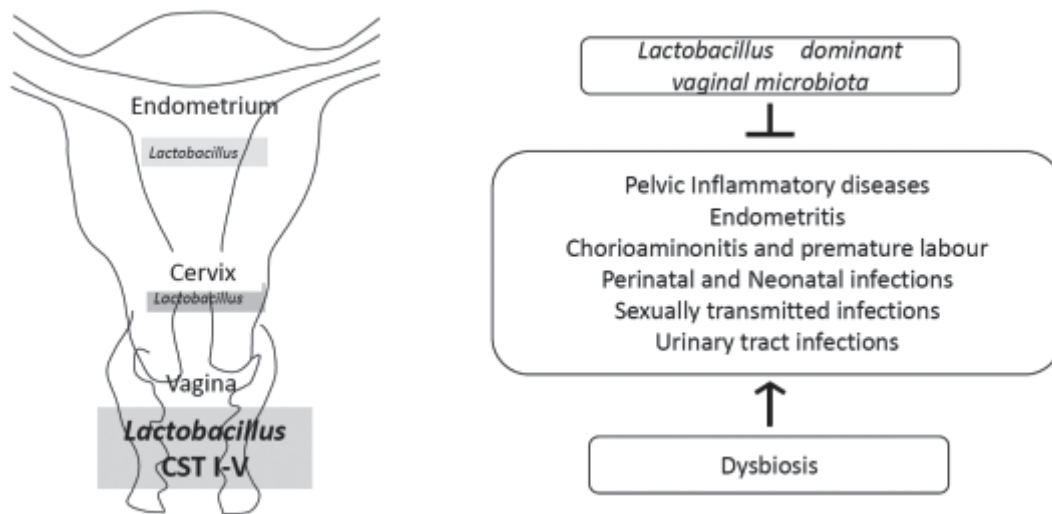
Bacterial flora and perinatal disorders

Dysbiosis in the vaginal flora, such as BV, is often associated with pelvic inflammatory disease, endometritis. Especially in pregnant women, chorioamnionitis is a major cause of preterm birth and neonatal infections. Integrative Human Microbiome Project (iHMP) proposed by NIH categorized premature labor as one of three microbiome-associated diseases with inflammatory bowel disease and type 2 diabetes. However, little is known about premature labour compared with other two diseases. In *L. crispatus* rich vaginal microbiota, higher rates of IVF success and less frequent rates of miscarriage, premature labour, gestational diabetes and preeclampsia have been reported. We have reported that the periodontal pathogen *Polyphyllomonas gingivalis* strongly inhibited the myometrial invasion of trophoblastic cells in a co-culture system of placental trophoblasts and bacteria, whereas *L. crispatus* promoted the invasion. Inadequate trophoblastic infiltration could cause intra uterine fetal growth retardation and preeclampsia due to inadequate trophoblastic invasion. We speculate indispensable roles of endometrial *Lactobacilli* in placental formation and fetal well-being.

Possible co-evolution of genital *Lactobacilli* with humans

Bacterial flora and hosts evolve under strong interactions. Among primates, only humans have a *Lactobacillus*-dominant vaginal flora. It is also unique to humans that the vaginal pH is kept low by lactic acid. As mentioned above, human trophoblasts infiltrate more deeply into myometrium possibly accelerated with *L. crispatus* to ensure placental blood flow. The development

of large human brain might be enabled by the coexistence of *L. crispatus* in female genital organs.



References

- 1) Takada K, Komine-Aizawa S, Tsuji N, Hayakawa S. Chapter 22. Interactions between the epithelial barrier and the microbiota in the reproductive tract. *Reproductive Immunology: Basic Concepts Academic Press*. 2020:In press.
- 2) Takada K, Komine-Aizawa S, Kuramochi T, Ito S, Trinh QD, Pham NTK, Sasano M, Hayakawa S. *Lactobacillus crispatus* accelerates re-epithelialization in vaginal epithelial cell line MS74. *Am J Reprod Immunol*. 2018 Sep;80 (3) :e13027.
- 3) Komine-Aizawa S, Hirohata N, Aizawa S, Abiko Y, Hayakawa S. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide inhibits trophoblast invasion in the presence of nicotine. *Placenta*. 2015 Jan;36 (1) :27-33.
- 4) Hirohata N, Komine-Aizawa S, Tamura M, Ochiai K, Sugitani M, Hayakawa S. *Porphyromonas gingivalis* Suppresses Trophoblast Invasion by Soluble Factors. *J Periodontol*. 2017 Dec;88 (12) :1366-1373.
- 5) Yoshida T, Takada K, Komine-Aizawa S, Kamei Y, Ishihara O, Hayakawa S. Trophoblast invasion is promoted by the vaginal lactic acid bacteria *Lactobacillus crispatus*. Submitted.

腸肺相関

福永興壺

慶應義塾大学医学部内科学（呼吸器）

職歴及び研究歴

出生地：

東京、日本

最終学歴：

1994年慶應義塾大学医学部卒、2002年同大学大学院医学博士取得

職歴：

2002年—2005年 米国ハーバード大学医学部Brigham and Women's Hospital留学
(Bruce D. Levy 博士)

2007年 埼玉社会保険病院（現埼玉メディカルセンター）内科医長

2015年 慶應義塾大学医学部内科学（呼吸器）専任講師

2018年 同准教授

2019年 同教授、病院長補佐（兼任）

主な研究テーマ：

難治性喘息に関する病態解明

要約

近年、腸内細菌叢が他の遠隔臓器にどのような影響を与えるかが注目されている。肺疾患すなわちアレルギー、喘息、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肺癌と腸との関係についても盛んに研究が行われるようになり、腸内細菌叢と肺の間には、腸—肺軸として知られる重要なクロストークが存在することがわかってきた。現在のところ、腸内細菌の乱れと肺疾患との因果関係が完全には解明されていないが、腸内微生物種や代謝物の変化が免疫反応や炎症の変化にも関連し肺の疾患発症に関与している可能性が示唆されている。

腸管内においては約 10^{14} 個の細菌がコロニー化しており、哺乳類マイクロバイオームは最大かつ最も多様なコミュニティとして最も広範囲に研究されている。そして腸内マイクロバイオームの腸内細菌叢の異常が、様々な局所のおよび遠隔的な慢性疾患と関連していることが明らかになってきている。肺と腸に関しても腸内微生物叢は、腸—肺軸と呼ばれる腸内微生物叢と肺との間の重要なクロストークを介して肺の免疫に影響を与えることが示されている。これは肺と腸相互にエンドトキシン、微生物代謝物、サイトカイン、ホルモンが血流によって影響を与えている結果であると考えられている。

実際に腸内微生物種や代謝物の変化が、肺における免疫応答や炎症の変化にも関連していることを示す研究が盛んに行われている。例えば、抗生物質に起因する腸内細菌叢の変化により、早期にアレルギー性気道疾患を発症するリスクが増加したことから腸内細菌叢への曝露と気道アレルギーとの関連性についての理解が進んだ。

本講演では、様々な肺疾患における腸―肺軸の役割についてまとめ、腸内マイクロバイオーームを標的とした治療戦略について概説したい。

The cross-talk between gut microbiota and lungs

Koichi Fukunaga M.D, PhD

Pulmonary Division of Medicine, Depart of Medicine
Keio University School of Medicine

Short curriculum vitae:

BRITH:

Tokyo, Japan

EDUCATION:

M. D. 1994 Keio University School of Medicine

Ph. D. 2002 Keio University Graduate School of Medicine, Tokyo, Japan

POST-DOCTORAL FELLOW:

2002~2005 Pulmonary & Critical Care Medicine, Brigham and Women's
Hospital, Harvard Medical School, USA Bruce D. Levy Laboratory

CAREER:

2015 Assistant professor Pulmonary Division of Medicine, Depart of Medicine,
Keio University School of Medicine in Japan

2018 Associate professor

2019 Professor and Medical Director in Keio University Hospital

RESEARCH THMES:

Elucidation of mechanism in severe asthma

Abstract :

In recent years, there has been much interest in how the gut microbiota affects other distant organs. The relationship between pulmonary disease such as asthma, chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis, and lung cancer, and the gut has been extensively studied, and an important crosstalk between the gut microbiota and the lungs, known as the gut-lung axis, has been identified.

At present, the causal relationship between gut microbial disruption and lung disease is not fully understood, but it has been suggested that changes in gut microbial species and metabolites may also be involved in the development of lung disease through changes in immune response and inflammation.

Approximately 10^{14} bacteria are colonized in the gut, making the mammalian microbiome the largest and most diverse community and the most extensively

studied. And abnormalities in the gut microbiota gut flora have been found the association with a variety of local and distant chronic diseases. With respect to the lung and the gut, the gut microbiota has also been shown to influence lung immunity through an important crosstalk between the gut microbiota and the lung, called the gut-lung axis. This is the result of endotoxins, microbial metabolites, cytokines, and hormones interacting with the lungs and gut via bloodstream.

In fact, there is a growing body of research showing that changes in gut microbiome and metabolites are also associated with changes in immune responses and inflammation in the lung. For example, antibiotic-induced changes in the gut microbiota were shown to increase the risk of developing allergic airway disease at an early age, improving our understanding of the link between exposure to the gut microbiota and airway allergy.

In this talk, I will summarize the role of the gut-lung axis in various pulmonary diseases and outline therapeutic strategies that target the gut microbiome.

MEMO