

プレスリリース

2019年1月24日

報道関係各位

慶應義塾大学医学部  
国立研究開発法人理化学研究所  
国立研究開発法人日本医療研究開発機構

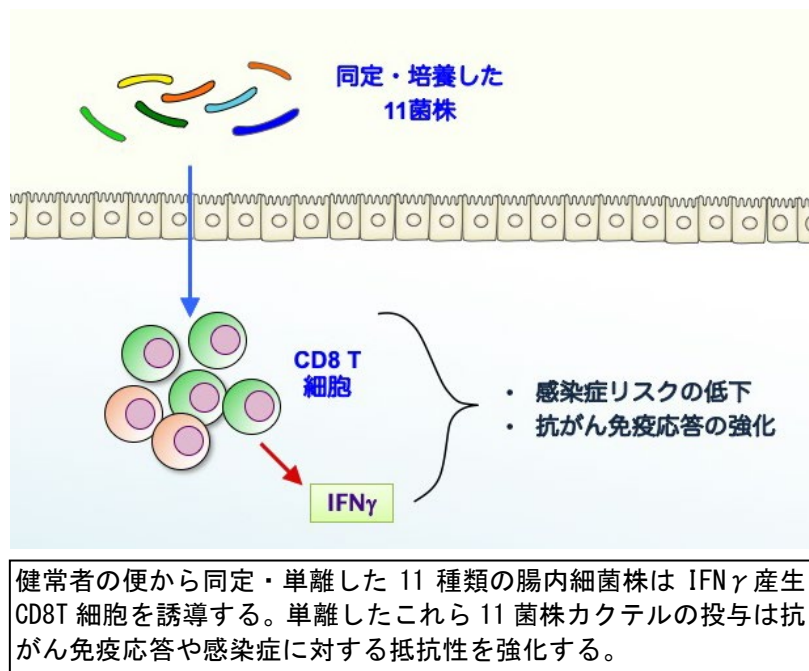
### 健常者から単離 感染抵抗性や抗腫瘍効果を高める腸内細菌株

慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室の本田賢也教授（理化学研究所生命医科学研究センター消化管恒常性研究チーム チームリーダー兼任）を中心とする共同研究グループは、健常者の便中から、CD8T 細胞と呼ばれる免疫細胞を活性化させる 11 種類の腸内細菌（11 菌株）を同定・単離しました。この 11 菌株をマウスに投与したところ、病原性細菌に対する感染抵抗性や抗がん免疫応答が強まることが明らかになりました（下図）。

今回の成果は、ヒトにおける感染症やがんに対する予防・治療法の開発につながることで期待されます。

本研究成果は、国際学術雑誌『Nature』2019年1月24日（木）（日本時間）オンライン版に掲載されました。

#### 発表概要



## 1. 背景

消化管には多様な常在細菌が存在し、ヒトの免疫系や生理機能に強い影響を与えることが知られています。そのため、消化管常在菌はさまざまな疾患に対する新しい治療法・予防法の標的として注目されています。しかしながら、宿主の免疫系を調節するヒト由来腸内細菌株はわずかしき同定・単離されていません。なかでも、CD8 陽性 T 細胞(以下、CD8T 細胞<sup>※1</sup>)と腸内細菌の関係はほとんど明らかになっていませんでした。

そこで共同研究グループは、病原性微生物の排除や腫瘍免疫の中心を担うことが知られている CD8T 細胞の活性化させる腸内細菌株の同定・単離を目指して研究を行いました。

## 2. 内容

本研究をスタートしたきっかけは、腸内や皮膚に常在細菌が存在する SPF(specific pathogen-free) マウス<sup>※2</sup> と無菌マウス<sup>※3</sup>を比較した実験でした。この実験で、SPF マウスの消化管にはインターフェロンガンマ (以下、IFN $\gamma$ ) を産生する CD8T 細胞が多く局在するのに対し、無菌マウスではその細胞数が著しく少ないということがわかりました。CD8T 細胞は活性化すると IFN $\gamma$  を産生します。実験の結果から、マウスの腸内常在菌が CD8T 細胞を活性化させ、IFN $\gamma$  産生を誘導しているのではないかと推測し、本研究を開始しました。

まず、ヒト腸管に IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞を誘導する腸内細菌がいるかどうかを調べました。健常者の便サンプルを無菌マウスに投与し、IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞が誘導されるかをフローサイトメトリー<sup>※4</sup>により解析しました。A~F の 6 名の健常ボランティア (ドナー) の便を別々の無菌マウスに投与し IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞数を調べたところ、投与した便によって誘導される IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞数に大きな違いがある事がわかりました。なかでもドナー B の便サンプルを投与したマウスで、最も強い誘導が見られました。そこで、便中に含まれ、IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞の誘導に働く細菌を絞り込むために、B 便投与マウスのなかでも最も強い誘導を示した個体 (以下、=B#5 マウス) の腸管内容物を回収し、別の無菌マウスに投与したところ、B#5 マウスの場合と同様に IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞が強く誘導されました。興味深いことに、B#5 マウスの腸管内容物を投与し、さらにアンピシリンという抗生剤を飲ませて細菌叢をより絞り込んだマウスでは、より強力な IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞の誘導を認めました。そこで IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞の誘導に中心的に働く責任細菌株を単離するために、そのマウスの盲腸内容物を腸内環境と同様、嫌気条件下にてシャーレ上で培養し、最終的に 26 種類の細菌株を単離しました。次いで IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞を誘導する細菌を同定するために、その 26 種類のうち、関係性が低い 5 種類を除いた 21 種類の細菌株カクテルを無菌マウスに投与したところ、強力な IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞の誘導が見られました。さらに 21 種類のうち、IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞と正の相関を示す 11 菌株を選抜し、それら 11 細菌株のカクテルを無菌マウスに投与したところ、IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞が強く誘導されました。この結果から、ドナー B 便の腸内細菌叢から単離したこれらの 11 菌株が IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞の誘導に中心的な役割を担うと考えられました。

これら 11 菌株は、バクテロイダーレス目の細菌 7 株(バクテロイデス属、パラバクテロイデス属、アリスタイペス属およびパラプレボテラ属)と非バクテロイダーレス目の細菌 4 株(フソバクテリウム属、ユーバクテリウム属、ルミノコッカシアエ科、ファスコラクトバクテリウム属)に分けられます。誘導に関係する菌がどちらかの分類群に偏っている可能性も考えられましたが、7 菌株もしくは 4 菌株だけの投与では、十分な IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞誘導が認められませんでした。この結果から、11 菌株は協調的に働くことで IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞を強く誘導することが示唆されました。また詳細な解析により、少なくとも一部の IFN $\gamma$  産生 CD8T

細胞は、11 菌株に由来する抗原を認識することがわかりました。さらに、ある特定の腸管樹状細胞<sup>※6</sup>サブセットが IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞 の誘導に関わること、そして MHC Class Ia と呼ばれる分子を介して菌由来抗原が CD8T 細胞に提示されて IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞が分化誘導されることなど、CD8T 細胞活性化の一部のメカニズムも明らかとなりました。

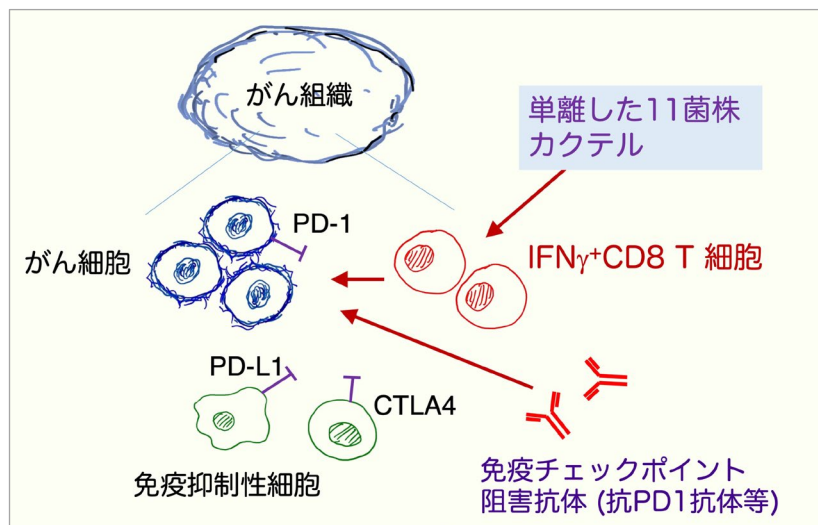
IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞は、病原性細菌による感染症や抗腫瘍免疫応答において中心的な役割を果たす免疫細胞です。そこで、単離した 11 菌株カクテルをマウスに投与し、これらの菌が感染症やがん に及ぼす影響を調べました。

食中毒などの原因となる病原性細菌リステリア・モノサイトゲネス<sup>※6</sup> をマウスに感染させる前に、11 菌株のカクテルを経口投与しておく と、投与をしないマウスに比べ体重減少や組織病変などの症状が軽減される事がわかりました。この結果は、ヒトにおいても 11 菌株の投与が感染症の予防・治療に有効である可能性があることを示します。

また、腫瘍に及ぼす影響を調べるために、皮下腫瘍モデルマウスに対して現存治療薬の抗 PD-1 抗体<sup>※7</sup> 注射に加えて 11 菌株のカクテルを経口投与すると、抗 PD-1 抗体のみを注射した群に比べ腫瘍の増殖が著しく抑制されました。この結果は、ヒトにおいても 11 菌株の経口投与が抗 PD-1 療法の奏効を高める可能性を示しています。また、そのマウスの腫瘍には、たくさんの IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞が集積していました。さらに、CD8T 細胞を除去した条件で同じ実験を行うと、抗腫瘍効果が見られなくなりました。このことから、11 菌株は IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞の誘導を介して、これらの予防・治療効果を発揮することが示唆されました。加えて、11 菌株単独の投与でも一定の抗腫瘍効果が観察されました。以上のことから、11 菌株の投与は腫瘍部への IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞の集積を介することで抗腫瘍効果を発揮すると考えられました(図 1)。

さらに腸管と腫瘍部で誘導される IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞を比較したところ、さまざまな特徴が異なっていました。たとえば、腸管の IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞が 11 菌株由来の抗原を認識するのに対し、腫瘍部の IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞は 11 菌株由来抗原を認識せず、がん抗原を認識します。このことから、腸管で誘導された IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞が直接腫瘍へ遊走するのではなく、別のメカニズム、たとえば 11 菌株由来の代謝産物が腸管で吸収され血流に乗って全身を巡り、腫瘍部の CD8T 細胞を活性化するなどの仕組みを介して腫瘍部に集積しているのではないかと考えられます。

最後に、11 菌株が健常者の腸内細菌叢に、どの程度棲息しているかを調べました。公開されているメタゲノムデータベースを照会したところ、これら 11 菌株は極めて稀な細菌株である事がわかりました。今回単離した 11 菌株は、宿主の生理機能調節に応用可能な、非常に



**図 1 単離した 11 菌株は抗腫瘍効果を高める**  
 本研究で単離された腸内細菌 11 菌株のカクテルをマウスに経口投与すると、IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞が がん組織へ集積し、免疫チェックポイント阻害抗体の抗腫瘍効果を増強した。また、このカクテル単独でも一定の抗腫瘍効果が得られた。

貴重な細菌株であると期待されます。

### 3. 今後の展開

本研究では、IFN $\gamma$  産生 CD8T 細胞を強力に誘導する 11 菌株を単離し、それらの投与が感染症や腫瘍増大を抑制することを、マウスを用いて示しました。これらの 11 菌株は感染症やがんに対する新たな予防・治療シーズとなり得ます。

### 4. 特記事項

今回の研究の一部は、下記に示す国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の革新的先端研究開発支援事業（LEAP および PRIME）における研究開発の一環として行われました。

#### 1) 革新的先端研究開発支援事業インキュベータータイプ（LEAP）

研究開発課題名：「腸内細菌株カクテルを用いた新規医薬品の創出」

#### 2) 革新的先端研究開発支援事業ソロタイプ（PRIME）

研究開発課題名：「ヒト腸内細菌種による免疫細胞誘導機構とがん免疫への寄与の解明」

### 5. 論文

タイトル：“A defined commensal consortium elicits CD8T cells and anti-cancer immunity”

(CD8T 細胞および抗がん免疫を誘導する特定の常在細菌コンソーシアム)

著者名：田之上大、森田覚、Damian R. Plichta、Ashwin N. Skelly、須田亙、杉浦悠毅、成島聖子、Hera Vlamakis、元尾伊織、杉田香代子、塩田淳、竹下梢、安間恵子、Dieter Riethmacher、改正恒康、Jason M. Norman、Daniel Mucida、末松誠、谷口智憲、Vanni Bucci、井上貴史、河上裕、Bernat Olle、Bruce Roberts、服部正平、Ramnik J. Xavier、新幸二、本田賢也

掲載誌：『Nature』 2019 年 1 月 24 日 オンライン版

#### <用語解説>

##### ※1 CD8T 細胞

CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞を指し、活性化するとインターフェロンガンマ（IFN $\gamma$ ）などのサイトカインと呼ばれる物質を産生します。IFN $\gamma$  はマクロファージを活性化し、その殺菌作用を強化します。CD8T 細胞は主に細胞内寄生細菌の感染防御や抗腫瘍免疫応答に重要な役割を担っています。

##### ※2 SPF マウス

研究で用いられるマウス飼育施設の基準を満たした清潔な環境で飼育され、病気を引き起こす病原体（specific pathogen）がない（free）マウス。腸内や皮膚には常在細菌が存在しています。

##### ※3 無菌マウス

無菌状態で飼育できる特殊な環境（アイソレーター）内で飼育したマウスで、腸内細菌や皮膚などの常在細菌を含め、検出可能な微生物をまったく持たないマウス。常在細菌をもたないため、生理学的、免疫学的にいくつかの異常がみられますが、健康な状態を維持しています。

#### ※4 フローサイトメトリー

一つの細胞にある複数の分子（主にタンパク質）を同時かつ高速に測定し、複数種類の細胞の分布を解析する装置。細胞表面または内部の分子を蛍光物質で標識した後、細胞一つずつに一定波長のレーザー光を当てた時に生じる蛍光波長を検出することにより、その細胞が何の分子を持っているかを分析します。ある部位に存在する細胞集団の増減や機能分子の発現量の増減を解析するために利用されています。

#### ※5 樹状細胞

さまざまな抗原を細胞内に取り込み、これらに由来する抗原ペプチドを細胞表面のMHC分子上に提示する。この様式で樹状細胞上に提示された抗原ペプチドをT細胞が認識し獲得免疫と呼ばれる応答が起こります。腸管には複数の樹状細胞集団が局在します。

#### ※6 リステリア・モノサイトゲネス

通性嫌気性のグラム陽性の病原性細菌。免疫系の第一線であるマクロファージに貪食されても、それによる殺菌機構から免れてその中で増殖できる細胞内寄生細菌です。ヒトに感染すると、食中毒・敗血症・脳脊髄炎・流産などを起こすことがあります。

#### ※7 抗PD-1抗体

免疫チェックポイント阻害剤のひとつ。活性化T細胞上に発現するPD-1は、がん細胞上に発現するPD-L1やPD-L2と結合すると、T細胞活性化が抑制されがん免疫応答を弱めます(がん細胞の免疫逃避)。抗PD-1抗体はPD-1に結合してPD-L1やPD-L2による結合をブロックし、T細胞活性化を維持することでがん免疫応答を持続させます。

#### 共同研究グループ：

慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室（本田賢也、田之上大、森田覚、Ashwin N. Skelly、杉田香代子、塩田淳、竹下梢、安間恵子、新幸二）

理化学研究所生命医科学研究センター（本田賢也、田之上大、成島聖子、元尾伊織、新幸二、服部正平、須田互）

JSR・慶應義塾大学 医学化学イノベーションセンター（本田賢也、田之上大、塩田淳、新幸二）

慶應義塾大学医学部先端医科学研究所 細胞情報研究部門（河上裕、谷口智慧）

慶應義塾大学医学部医化学教室（末松誠\*、杉浦悠毅）

東京大学大学院新領域創成科学研究科（服部正平、須田互）

和歌山県立医科大学 学生体調節機構研究部（改正恒康）

実験中央研究所（井上貴史）

米国 Broad Institute of MIT and Harvard (Ramnik J. Xavier, Damian R. Plichta, Hera Vlamakis)

米国 Vedanta Biosciences (Bernat Olle, Bruce Roberts, Jason M. Norman)

米国 The Rockefeller University (Daniel Mucida)

米国 University of Massachusetts Dartmouth, North Dartmouth (Vanni Bucci)

カザフスタン Nazarbayev University School of Medicine (Dieter Riethmacher)

\*：慶應義塾大学の末松誠客員教授は、LEAP、PRIMEの研究費を受給していません。

(この件に関するお問い合わせ先)

<研究内容について>

慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室  
教授 本田 賢也 (ほんだ けんや)  
TEL : 03-5363-3769; FAX : 03-5361-7658  
E-mail : kenya@keio.jp

<報道について>

慶應義塾大学信濃町キャンパス 総務課  
〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 番地  
TEL : 03-5363-3611; FAX : 03-5363-3612  
E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当  
〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1  
TEL : 048-467-9272; FAX : 048-462-4715  
E-mail : ex-press@riken.jp

<事業に関すること>

(革新的先端研究開発支援事業)  
国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)  
基盤研究事業部 研究企画課  
TEL : 03-6870-2224  
E-mail : kenkyuk-ask@amed.go.jp