

大阪科学・大学記者クラブ 御中
(同時資料提供先：科学記者会、文部科学記者会)

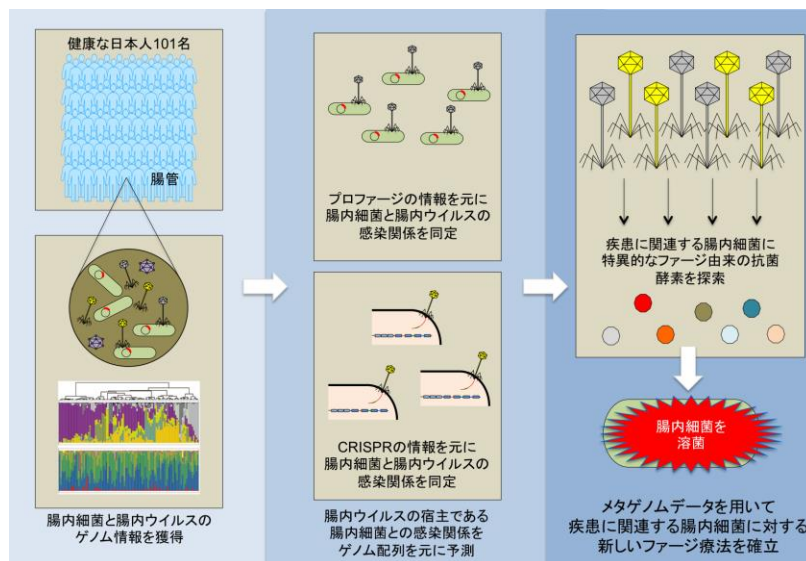
2020年7月8日
大阪市立大学
東京大学

大規模データから新規抗菌物質を同定

腸内ウイルスのビッグデータを使った新しい治療法を開発
～腸内ファージのデータベースを構築～

<本研究のポイント>

- ◇ 腸内ウイルス叢の大規模な全ゲノム情報の解析手法を独自に開発し、世界で初めてヒト腸内ウイルス叢と細菌叢のメタゲノムデータベースを作成した。
- ◇ 腸内細菌と腸内ファージの感染関係を網羅的に調べることができた。
- ◇ 偽膜性腸炎の原因菌 (*Clostridioides difficile*) に特異的に感染するファージを同定し、そのゲノム情報から *C. difficile* を殺傷する抗菌物質も同定できた。
- ◇ 今後、腸内細菌を標的とした全く新たな予防法・治療法となるファージ療法の確立において、非常に有益なビッグデータの基盤を構築した。



<概要>

大阪市立大学大学院医学研究科 ゲノム免疫学の植松智教授（東京大学医科学研究所附属ヒトゲノム解析センター メタゲノム医学分野 特任教授、附属国際粘膜ワクチン開発研究センター 自然免疫制御分野 特任教授を兼務）、藤本康介助教（東京大学医科学研究所附属ヒトゲノム解析センター メタゲノム医学分野 特任助教、附属国際粘膜ワクチン開発研究センター 自然免疫制御分野 特任助教を兼務）、東京大学医科学研究所附属ヒトゲノム解析センター 健康医療インテリジェンス分野の井元清哉教授らの国際共同研究グループは、腸内細菌ゲノムと腸内ウイルスゲノムを網羅的に解析することで疾患特異的な腸内細菌の制御を可能とする新規抗菌物質の同定に成功しました。

近年では、腸内微生物ゲノム解析研究が進み、さまざまな疾患と腸内細菌叢の乱れとの関連性

や、疾患の発症に直接的に関わる病原常在腸内細菌（共生病原菌、Pathobiont）が次々と発見されています。一方、腸管内には腸内細菌だけでなく腸内ウイルスが大量に存在し、腸管の恒常性の維持に寄与していると考えられていますが、腸内ウイルスの解析は非常に難しく、これまで腸内ウイルス叢の詳細は明らかにされていませんでした。

本研究グループは、腸内ウイルスゲノムの解析パイプラインを独自に作成することで、これまでウイルス暗黒物質（viral dark matter^{※1}）として解析が困難であったウイルスゲノムの詳細な分類が可能となり、日本人健康者の腸内ウイルス叢の全容が明らかとなりました。腸内細菌の大半を占める腸内ファージゲノムと腸内細菌ゲノムを組み合わせて解析することで、腸内ファージの宿主が特定でき、その情報を元に難病を引き起こす腸内常在細菌の一つである *Clostridioides difficile* に対するファージ由来の新しい抗菌物質を複数同定しました。

本研究成果は2020年7月11日（土）0時（日本時間）に国際科学雑誌『Cell Host & Microbe』（IF=15.923）にオンライン掲載されました。

※1 viral dark matter…腸管内に大量にあるはずのウイルスゲノムの解析が非常に困難であることを例えて、腸管内に暗黒物質があるとこれまで言われてきた（Elife. 2015 22:4:e08490., Cell Host Microbe. 2019 11:26:764-778.e5.）。

■掲載誌情報

発表雑誌：Cell Host & Microbe (IF=15.923)

論文名：Metagenome Data on Intestinal Phage–Bacteria Associations Aids the Development of Phage Therapy Against Pathobionts

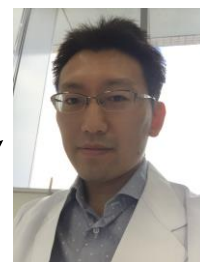
掲載 URL：[https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128\(20\)30344-9](https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128(20)30344-9)

(DOI：10.1016/j.chom.2020.06.005)

著者：最終ページご参照

研究者からのひとこと

これまで解析が困難であった腸内ウイルスの解析パイプラインを独自に開発し、腸内ウイルス叢の全容を明らかにしたことで、腸内細菌と腸内ウイルスの多様な感染関係を把握することができました。この大規模データは、疾患特異的な腸内細菌を制御するツールとしての臨床応用が強く期待されます。



藤本 康介助教

<研究の背景>

消化管内には細菌やウイルスをはじめとした常在微生物叢が存在し、私たちの健康に大きな影響を与えています。次世代シーケンサー^{※2}をはじめとしたゲノム解析技術の進歩に伴い、常在微生物叢解析が盛んに行われるようになりました。特に、腸内細菌叢の乱れと疾患（肥満、糖尿病、関節リウマチ、炎症性腸疾患など）の関係性が明らかとなっただけでなく、疾患の発症と直接的に関わる Pathobiont も発見され、疾患の発症予防のために除菌が期待されています。しかしながら、抗生物質の使用は、有益菌も殺傷し、腸内細菌の乱れを助長する可能性があるため、Pathobiont だけを特異的に排除できる方法が求められています。

また一方で、腸管内には細菌よりはるかに多数のウイルスが存在しています。常在腸内ウイルスはインフルエンザウイルスのように私たちに感染するウイルスではなく、腸内細菌を宿主とするバクテリオファージ（ファージ）が主となります。したがって、腸内ウイルスを解析することで Pathobiont に感染可能なファージが同定され、その情報を基盤として新しい Pathobiont の

制御法が見出される可能性があります。

しかし、腸内ウイルスの網羅的な解析をするためには、全ゲノムシーケンスが必要であること、これまで腸内ウイルスの大規模なデータベースが存在していないためゲノム配列を取得してもレファレンスが非常に乏しく解析が難しいこと、さらにファージ学が元々ファージの形態を基盤として発展してきた学問であるためゲノムによるファージ分類法がきちんと確立されていないことなどから、腸内ウイルス叢の全容はこれまでほとんど明らかになっていませんでした。

※2 次世代シーケンサー…遺伝子の配列を高速に読み出せる装置で、圧倒的に短時間かつ低コストでゲノム解析をすることが可能。

<研究の内容>

本研究では、101名の日本人健常者の糞便サンプルから腸内細菌ゲノムと腸内ウイルスゲノムを抽出し、それぞれ全ゲノム解析を行いました。これまで腸内ウイルス叢のゲノム解析手法が確立されていなかったため、東京大学医科学研究所のスーパーコンピュータ上でゲノムアセンブリを行い、擬似クローニングをすることで確度の高い腸内ウイルス解析パイプラインを構築しました。その解析パイプラインを用いて健常者の腸内ウイルス叢を解析したところ、健常者の腸内ウイルス叢は個々人で非常にユニークな構成をしていることが明らかとなりました（図1）。

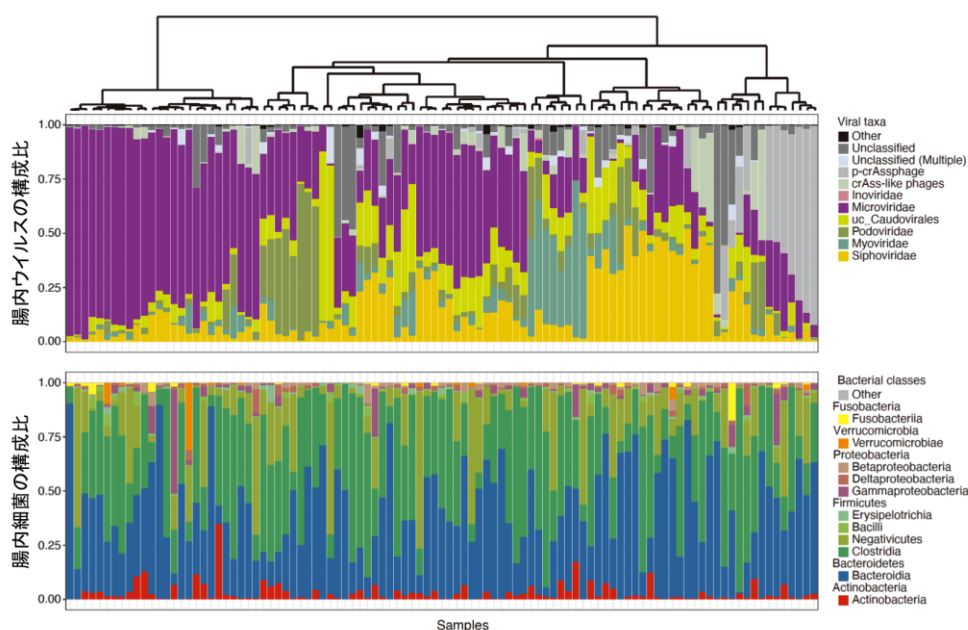


図1：101名の腸内ウイルス叢（上段）と細菌叢（下段）の構成比

腸内ウイルスの主となるファージは溶菌性ファージと溶原性ファージの2種類に大別され、それぞれ異なる生活環を呈します。溶菌性ファージは宿主細菌に吸着して感染した後、自身のゲノムを細菌に注入・複製し、溶菌することで娘ファージを菌体外に放出します。この時、細菌ゲノム内にCRISPR配列が挿入されることで、感染履歴が記憶されます（細菌の防御応答）。

一方、溶原性ファージは宿主細菌に感染し自身のゲノムを注入した後、宿主細菌のゲノムに自らのゲノムを組み込むことができます。この状態はプロファージと呼ばれ、宿主細菌と共に増殖することが可能となるだけでなく、宿主細菌が老化した場合などは溶菌性ファージと同様に菌体外へと放出されます。

本研究では、得られたゲノム情報を利用して、腸内細菌と腸内ウイルスのプロファージ配列に着目した感染関係とCRISPR配列に着目した感染関係を同定する解析パイプラインを構築しました。

さらに今回得られた健常者のシークエンスデータおよびこれまで臨床分離株として単離されている*Clostridioides difficile*（偽膜性腸炎の起因菌として知られている菌）の17菌株のシークエンスデータを用いて、*C. difficile*特異的なプロファージ配列を抽出しました。そのプロファージ配列から、ファージが菌体内で増殖した後に菌体外に放出される際に使用される溶菌酵素として知られるエンドライシンの配列を探索し、新規配列を複数同定しました。それらのエンドライシンを合成し、*in vitro*で溶菌活性を有することを示しただけでなく、*C. difficile*感染マウスモデルにおいて今回新しく同定したエンドライシンが効果を示すことを明らかとしました（図2）。本研究により、健常者の同一糞便における腸内ウイルス叢と細菌叢のメタゲノムデータベースを世界に先駆けて作成することができました。

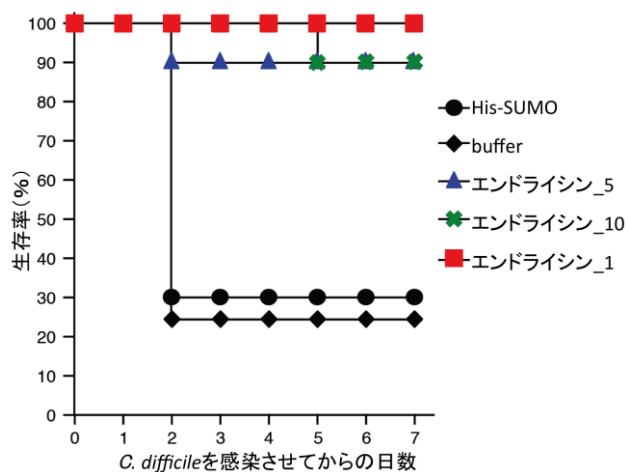


図2：新しく同定したエンドライシンは致死性*C. difficile*感染症マウスモデルの生存率を著明に改善する

<期待される効果>

これまで解析が困難であった腸内細菌と腸内ファージの感染関係を明らかにすることで、*C. difficile*に対する新しい溶菌酵素を同定することができました。この手法を疾患特異的な腸内細菌を標的として応用することで、新しい溶菌酵素の同定につながり、これまで制御できなかった腸内細菌叢の乱れに関連するさまざまな難治性の疾患に対する新たな治療アプローチとして使える可能性が期待されます。

<資金・特許等について>

本研究は、武田科学振興財団研究助成、キャノン財団研究助成、JST COI STREAM東京大学V1拠点「自分で守る健康社会」、HPCI戦略プログラム 分野1「予測する生命科学・医療および創薬基盤」の一環として行われました。

東京大学医科学研究所システム免疫学社会連携研究部門に対して、株式会社医学生物学研究所の支援を受けました。



【研究内容に関する問合せ先】

大阪市立大学大学院医学研究科 ゲノム免疫学
担当：助教 藤本 康介

TEL：06-6645-3926

E-mail：fujimoto.kosuke@med.osaka-cu.ac.jp

(東京大学医科学研究所附属ヒトゲノム解析センター メタゲノム医学分野 特任助教、附属国際粘膜ワクチン開発研究センター 自然免疫制御分野 特任助教兼務)

TEL：03-6409-2163

E-mail：kfuji@ims.u-tokyo.ac.jp

【ご取材に関する問合せ先】

大阪市立大学 広報課

担当：上嶋 (かみしま)

TEL：06-6605-3411

E-mail：t-koho@ado.osaka-cu.ac.jp

東京大学医科学研究所
国際学術連携室 (広報)

担当：清水

TEL：090-9832-9760

E-mail：koho@ims.u-tokyo.ac.jp



【著者一覧】

Kosuke Fujimoto^{1,2,3}, Yasumasa Kimura⁴, Masaki Shimohigoshi¹, Takeshi Satoh⁴, Shintaro Sato^{1,5}, Georg Tremmel⁶, Miho Uematsu¹, Yunosuke Kawaguchi¹, Yuki Usui⁴, Yoshiko Nakano¹, Tetsuya Hayashi¹, Koji Kashima⁷, Yoshikazu Yuki⁷, Kiyoshi Yamaguchi⁸, Yoichi Furukawa⁸, Masanori Kakuta⁶, Yutaka Akiyama⁹, Rui Yamaguchi⁶, Sheila E. Crowe¹⁰, Peter B. Ernst^{11,12,13}, Satoru Miyano⁶, Hiroshi Kiyono^{11,12,14,15}, Seiya Imoto^{16,17*}, Satoshi Uematsu^{1,2,3,17,18*} (*責任著者)

【所属】

¹Department of Immunology and Genomics, Osaka City University Graduate School of Medicine, Osaka 545-8585, Japan

²Division of Metagenome Medicine, Human Genome Center, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

³Division of Innate Immune Regulation, International Research and Development Center for Mucosal Vaccines, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

⁴Division of Systems Immunology, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

⁵Mucosal Vaccine Project, BIKEN Innovative Vaccine Research Alliance Laboratories, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka 565-0871, Japan

⁶Laboratory of DNA Information Analysis, Human Genome Center, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

⁷Division of Mucosal Immunology, Department of Microbiology and Immunology, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

⁸Division of Clinical Genome Research, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

⁹Department of Computer Science, Tokyo Institute of Technology, Tokyo 152-8550, Japan

¹⁰Department of Medicine, University of California San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

¹¹Division of Gastroenterology, Department of Medicine, CU-UCSD Center for Mucosal Immunology, Allergy and Vaccines, University of California San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

¹²Division of Comparative Pathology and Medicine, Department of Pathology, University of California San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

¹³Center for Veterinary Sciences and Comparative Medicine, University of California San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

¹⁴Department of Mucosal Immunology, IMSUT Distinguished Professor Unit, The Institute of Medical



Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

¹⁵International Research and Development Center for Mucosal Vaccines, The Institute of Medical Science,
The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

¹⁶Division of Health Medical Data Science, Health Intelligence Center, The Institute of Medical Science, The
University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

¹⁷Collaborative Research Institute for Innovative Microbiology, The University of Tokyo, Tokyo 113-8657,
Japan

¹⁸Lead contact