

Microbiomeと創薬

東京医科歯科大学 生命医療情報学

東北大学 東北メディカル・メガバンク機構

田中 博



疾患環境因子としての マイクロバイオーーム

- **疾患の環境発症要因(exposome)**
 - 単一遺伝子疾患を除き、大半の疾患は **<遺伝的素因と環境要因>** の相互作用によって発症する

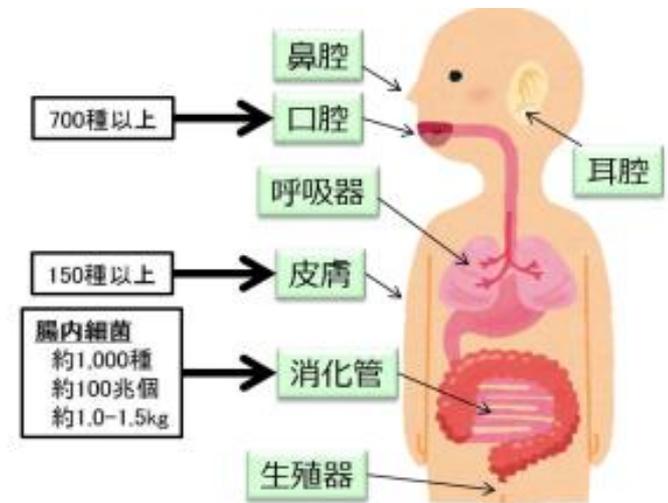
- **microbiome** : 環境要因の最大の1つ

- **微生物叢 (microbiome)**

- ヒトの上皮（口耳鼻腔、呼吸器、消化管、皮膚、生殖器など）に棲息する微生物（細菌、古細菌、真菌、ウイルス等）の集団

- **腸管微生物叢 (gut microbiome)**

- 約1000種類、100兆個、総重量1~1.5kg, 「**実質的な臓器**」
- 遺伝子数個人あたり約**50万遺伝子**、総数：数100万遺伝子
- 腸管上皮細胞群と複雑な相互作用、



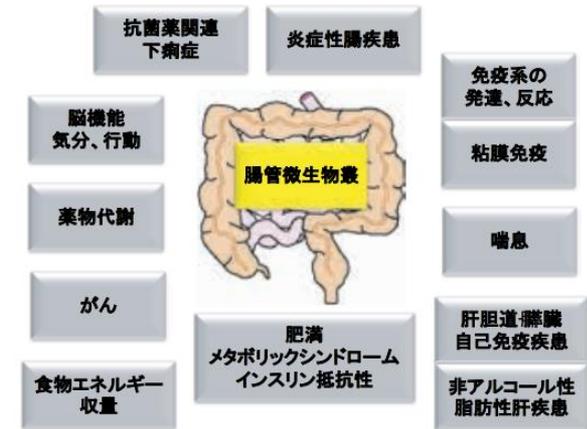
腸管微生物叢から受けるヒトの恩恵

- **栄養補給（エネルギー, ビタミン), 代謝系の調節**
 - 食物の難消化性の食物繊維：腸内細菌によって嫌氣的に代謝、酪酸、プロビオン酸などの「**短鎖脂肪酸**」を産生
 - **短鎖脂肪酸**：腸管上皮細胞の増殖、腸管上皮の粘液分泌に関与、吸収後、肝における糖新生や脂肪合成の基質としてエネルギー源となる
- **免疫系、炎症系、粘膜免疫細胞群との相互作用**
 - **短鎖脂肪酸**は腸管内を弱酸性にし、病原菌の増殖を抑制
 - **酪酸**：消化管での過剰な免疫反応を抑制するリガンド
 - 腸管上皮細胞でのムチンや抗菌ペプチドの産生を亢進、
 - **制御性T細胞(Treg)** の転写因子Foxp3の発現を促進して、大腸粘膜におけるTreg細胞を誘導し、**炎症を抑制する。**

Microbiomeの崩れ (dysbiosis)

- 腸内エコシステムの細菌菌種の多様性・バランスが崩れる (disbiosis)

- 慢性的な炎症や代謝不全
- 腸疾患：大腸がん、炎症性腸疾患など
- 全身性疾患：自己免疫疾患、代謝疾患 (2型糖尿病、非アルコール性脂肪性肝炎等)
- 自閉症スペクトラム
- 腸内エコシステムの多様性・恒常性維持が健康維持に重要、その崩壊が疾病



- 健全者のmicrobiome**

- Firmicutes門 (グラム陽性), Bacteroidetes門が多い。
- F門の主要菌類クロストリジウム属菌：酪酸を高産生、Treg細胞を分化誘導、消化管の恒常性の維持
- 腸内細菌叢形成期の攪乱：後のdysbiosisや消化管免疫機構異常へ
- しかし一度形成された腸内細菌叢は抵抗性 (resilience)を持つ

(本田2014)

- IBD患者**

- 特にクローン病：Firmicutes門の菌種 (酪酸産生菌) が減少、多様性消失、消化管の炎症や増悪の原因

- Host-microbiome interactionの分子機構の詳細はまだ明確でない。**

- 全体としてのシステムの**バランス失調**

- 特定の<細菌種の代謝産物>が腸内の免疫系・代謝系、腸内**エコシステム**に響を与える。

Microbiomeとの関係が示唆される疾患

疾患タイプ	関係が示唆される疾患(青字:臨床研究も進行中(※1))
消化器疾患	<u>偽膜性腸炎(難治性Clostridium difficile 感染)(※2)</u> 、 <u>炎症性腸疾患(IBD:潰瘍性大腸炎、クローン病)</u> 、 <u>過敏性大腸炎</u> 、セリアック病 など
皮膚疾患	アトピー、尋常性乾癬 など
口腔疾患	<u>粘膜炎(口腔内)</u> 、 <u>歯周病</u> など
呼吸器疾患	<u>喘息</u> 、 <u>ウイルス性感染症</u> など
代謝・循環器・腎疾患	<u>肥満</u> 、 <u>非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)</u> 、2型糖尿病、動脈硬化症、心不全、腎不全、IgA腎症 など
精神・神経疾患	<u>自閉症</u> など
自己免疫疾患	<u>多発性硬化症</u> 、1型糖尿病、アレルギー、リウマチ、網膜炎(Uveitis) など
がん	胃がん(<i>H. pylori</i> 感染)、大腸がん、肝臓がん、子宮体がん、免疫チェックポイント阻害治療(※3) など
周産期、小児	川崎病、早産/未熟児、流産、不妊 など
移植医療	<u>移植片対宿主病(GVHD)</u> など
感染症	<u>細菌性膣炎</u> / <u>再発性尿路感染症</u> 、エイズ、インフルエンザ、カンジダ、ノロウイルス、大腸菌(O157) など

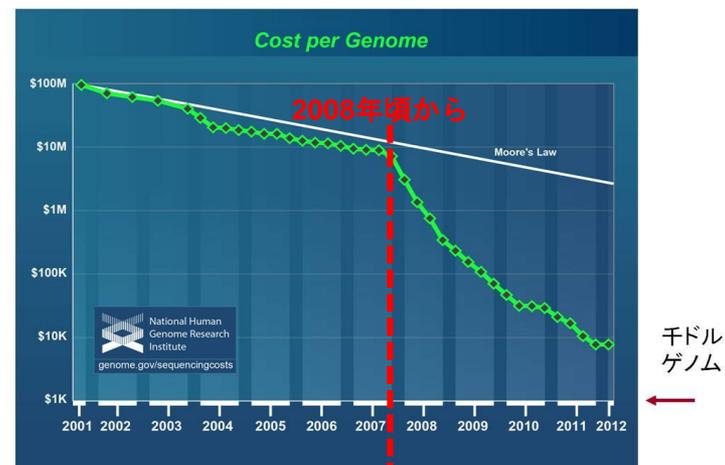
(JST : マイクロバイオーム研究の統合的推進 : 2015)

次世代シーケンサとメタゲノム

- 次世代シーケンサの急速な発展により
- 2000年代：次世代シーケンサ
 - 網羅的アプローチ, メタゲノム
 - Microbiomeのプロファイル、嫌気性菌培養困難を克服
 - 宿主の健康/疾患との相関関係、論文数急増265→2683
 - 疾患治療が目的→創薬
- 集合的ゲノム配列解析によって菌種同定
- メタゲノム解析 metagenomics
 - 16SrRNA遺伝子解析
 - 保存領域と可変領域、由来解析
 - ショットガン・シーケンシング & 相同性検
 - ショットガン・アセンブリ



	HiSeq2500		Ion Proton
本体価格	約1億円		約3500万円
モード / チップ	ハイアウトプット	ラピッドラン	Ion Proton I
解析時間	11日	27時間	2時間
リード長 (bp)	2 x 100	2 x 150	200
データ産出量 (Gb)	約600	約120	10
試薬コスト (ヒト1人全ゲノム)	数十万円		不可 エクソームのみ



DNA Sequencing Cost: the National Human Genome Research Institute

シーケンス革命 2007/8

Microbiome 研究の世界的開始

- 米国
- HMP (Human Microbiome Project)
 - 第1期 ('08~'12)
 - 基礎情報の収集
 - 50機関 (カナダを含む)、総額175M\$
 - 健常者 (300人) の細菌叢解析
 - 3000種類の微生物ゲノム解析
 - 健常な242名の4788検体 (口腔・咽頭9箇所、皮膚4箇所、鼻孔、下部消化管 (糞便9、膣3箇所) から解析結果発表(2012))
 - 第2期 ('13~'16)
 - 腸内細菌関連疾患研究 "Integrative HMP"
 - 25機関 (米国のみ)、総額25M\$
 - 2型糖尿病、炎症性腸疾患 (IBD)、妊娠早産など
 - 124名の健常者、肥満者、IBD患者の糞便の解析結果発表(2010)
 - 長期コホート研究、オミックス情報の収集
- オバマ大統領のprecision medicine initiativeの100万人コホート : microbiomeは収集項目

Microbiome 研究の世界的開始2

- **欧州**
- **MetaHIT**
 - Metagenomics of the Human Intestinal Tract: '08~'12
 - 8か国、12機関参加、総額22M€
 - 中国からBGIが参加
 - 健常者を含む細菌叢解析（500人）
- **MGPS**
 - Metagenopolis : '13~'19
 - 8か国、14機関（主にフランス）
 - 対象：炎症性腸疾患、食品関係への展開
 - メタゲノム解析、**バイオバンク構築**、社会課題へ
 - 健康・創薬産業だけでなく食品産業も
- **我が国**
 - 服部博士：2005年「日本ヒト常在細菌叢コンソーシアム」
 - 13名の腸内細菌叢メタゲノム解析（66万遺伝子）2007年発表

分子過程microbiome 創薬

腸内細菌叢由来物質を標的とした創薬

- 特定の細菌種によるhost-microbiome相互作用
 - クロストリジウム属菌が制御性T細胞（Treg）を誘導し、腸炎を抑制
 - Th17細胞が腸内細菌由来のATPや特定の腸内細菌で誘導され、IBDを発症。
 - 抗菌薬の服用によって増殖した腸内真菌が喘息を悪化
 - 肥満によって増殖する腸内細菌の代謝物であるデオキシコール酸：細胞老化関連分泌現象を介して肝臓がん発症
 - dysbiosis時に産生される腸内細菌由来の尿毒素：慢性腎臓病の悪化
 - 便秘薬による腸内環境改善：慢性腎臓病を悪化抑制
 - 腸内細菌の脂質代謝産物TMAOの血漿中の濃度：心血管イベントの予測する因子である(NEJM,2013)
- 創薬方法
 - 細菌製剤・低分子薬剤・probiotics

マクロ的方法によるmicrobiomeの改善

- 集合的な微生物カクテル
- 糞便微生物叢移植 (fecal microbiota transplant: FMT)
 - 健常者の糞便を生理食塩水で液体化して移植、重症感染症腸炎の治療に成功。
 - 再発性クロストリジウム・デフィシャル感染症（偽膜性腸炎：抗菌薬耐性菌 *C. difficile*: CDIによる）が92%完治
 - RCT：オランダ・アムステルダム大学、120名の治験、効果明白で43名で終了(NEJM 2013)
 - 米国MGH FMTが抗菌薬よりcost-effect的に優れている
 - 米国MIT糞便バンク (OpenBiome)
 - 疾患リスクや消化管/全身性疾患がない
 - 問診によるスクリーニング、17項目の感染性病原菌検査
 - 医薬品規制
 - 米国：FMTは生物製剤医薬品、新薬治験必要
 - 欧州：移植用糞便は医薬品として捉えられていない
 - 我が国：慶応大学,FMT臨床試験
 - 対象：潰瘍性大腸炎、過敏性腸症候群、再発性 *C.difficile*感染症、腸管ペーチェット病
 - 45名の被験者
- 生活習慣変更を通じたmicrobiomeの変化

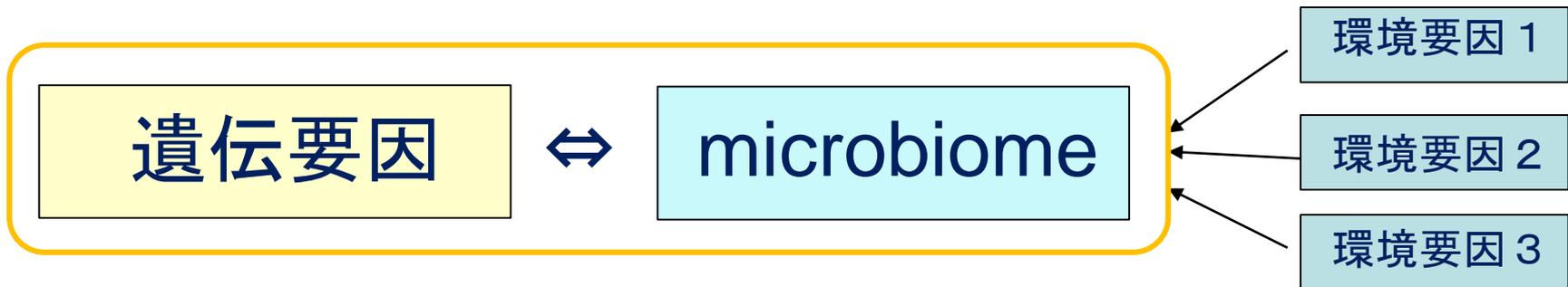
疾患の発症リスク分析における microbiome タイピング情報の必要性

- これまでの発症リスク分析

＜**遺伝子要因と環境要因の相互作用**＞

において**環境要因**が**疾病機序**に影響する主要なパスは、**腸管細菌叢**を介してである。

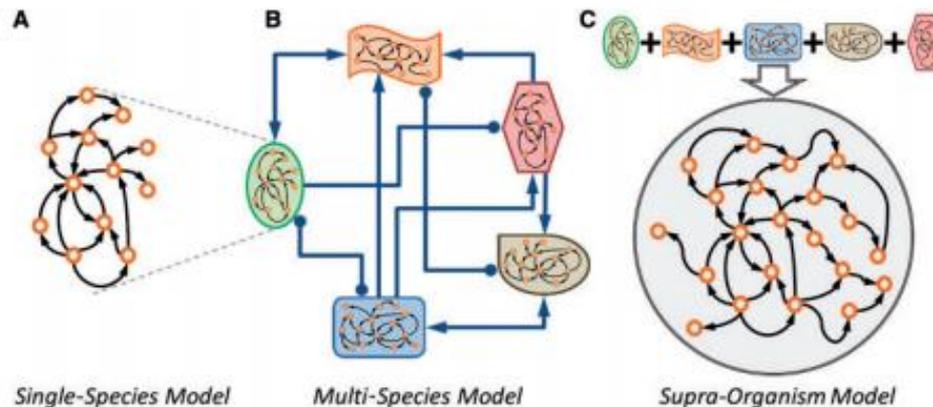
＜疾患関連腸管細菌の同定あるいはクラススの同定＞によって**環境要因**の**ホスト遺伝子**への**相互作用**に、**腸内細菌**が**関与**を**創薬過程**を考える



腸内エコシステム

次世代のシステムmicrobiome創薬

- Systems metagenomics Approach (Borenstein)
 - メタゲノム情報やメタオミックス情報
 - 超生命体モデル (supra-organization model)
 - 代謝ネットワークモデルを形成
 - 肥満やIBDなどでは、ホスト・代謝ネットワーク境界のmicrobiomeの遺伝子での活動性が高い。ネットワーク活動のトポロジーの変異
 - このようなmicrobiome supra-organizational networkの解析を基礎に
 - システム制御としての創薬



(Borenstein 2013)

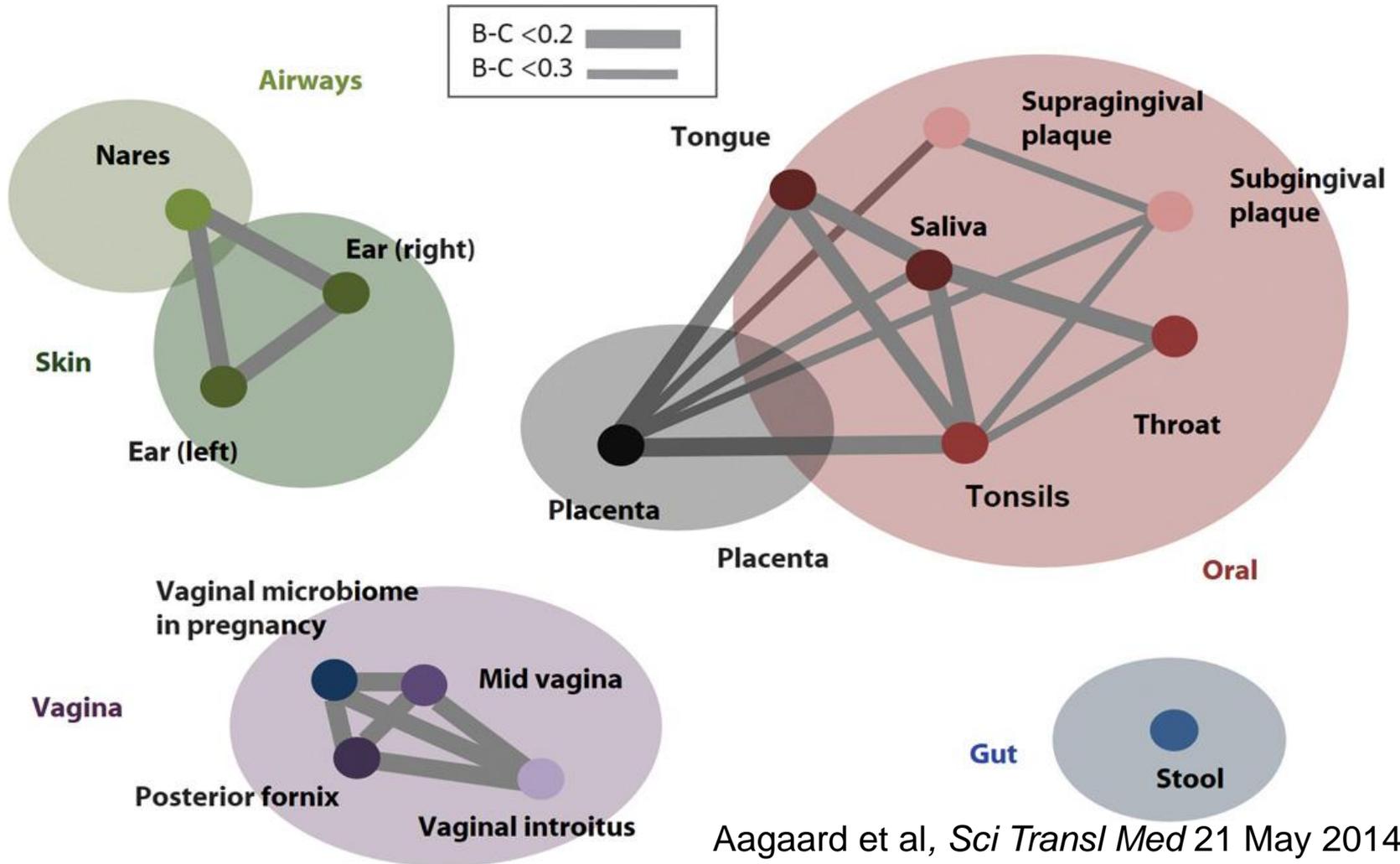
Microbiomeの時間的変化を同定する biobankでの追跡調査の必要性

- Microbiomeのdysbiosisが疾患状態の原因なのか結果なのか、1時点のメタゲノム解析では判断は難しい
- 各国の網羅的メタゲノム計画もメタゲノム・microbiomeの長期的変化を追跡するためBiobankの利用へと関心を向けている。
- 東北メディカル・メガバンク計画でも「歯垢を中心とした口腔内細菌叢解析」を行っている(山下理宇,東北メディカルメガバンク・バイオバンク部門：口腔内細菌叢)。

Biobank/ゲノムコホートへの期待

- 疾患型バイオバンク/ゲノムコホート
 - 個別化医療の層別化パターンの網羅的抽出
 - 病院ゲノム・オミックス医療DBを補う
- Population型（健常者）コホート
 - (1) 前向きコホートの長所により発症要因同定
疾患発症相対リスク 「個別化予防」
＝遺伝子要因 × 環境生活習慣要因
上記の相互作用を評価 (exposome, exptype)
 - (2) 「健康から疾患発症に至る過程」を多数収集
microbiomeの疾患発症へ至る過程の観測

口腔内細菌叢は胎盤細菌叢と近い



より多くの全身疾患に関わっている可能性を示唆

Biobank準拠の創薬・治験

- 疾患レジストリー/疾患型バイオバンク
準拠型ランダムイズ治験
 - スウェーデンのSWEDEHEART
 - Registry-based randomized clinical trial
 - 疾患レジストリーの登録患者から治験に適した治験対象者を選び
 - 選んだ集団で治験薬・対照薬をランダムイズして割付ける
 - 治験のエンドポイントは疾患レジストリーの追跡で観測される
 - 観測研究であるPopulation 型コホートでは困難か

欧米の腸内微生物ベンチャー企業

腸内微生物叢に着目した疾病治療薬の開発を目指す欧米のベンチャー企業

企業名	本社所在地 / 設立年	治療薬・治療法	特徴
Osel Inc.	Mountain View, CA / 1996年	生菌の投与	「細菌性膣炎や尿路感染症を治療するための生きた乳酸菌 <i>Lactobacillus</i> の接種」および「抗生物質投与に伴う下痢や <i>Clostridium difficile</i> 感染症に対する <i>Clostridium butyricum</i> の経口投与による治療」などの開発を進めている。
Ritter Pharmaceuticals, Inc.	Los Angeles, CA / 2004年	腸内の善玉菌の増加を促す薬剤	乳糖不耐症を緩和するサプリメントLactagen(乳酸菌やフラクトオリゴ糖などを含有する)を販売していたが、本製品の薬理効果が腸内微生物叢の調整によるものであることがわかり、乳糖不耐症の治療薬としての開発を進めている。なお、治療薬開発を進めるにあたり、Lactagenのサプリメントとしての販売を停止している。
AvidBiotics Corp.	South San Francisco, CA / 2005年	改良型抗菌性タンパク質	細菌類が産生する抗菌性タンパク質であるバクテリオシン(Bacteriocin)に着目し、疾病発症に関与する病原菌を殺す活性が発現するようにバクテリオシンを改良して、感染症を治すことを目指している。
OxThera AB	Stockholm, Sweden / 2005年	生菌の投与	腸内の内生シユウ酸塩を除去できる細菌 <i>Oxalobacter formigenes</i> に着目し、その凍結乾燥物を経口投与することにより、高シユウ酸尿症を治療することを旨としている。
ActoGeniX (Intrexon Corpに買収された)	Ghent, Belgium / 2006年	治療用タンパク質生産乳酸菌の投与	ベルギーのベンチャー企業であるActoGeniXは、サイトカイン、酵素、ホルモンなどを分泌生産できるように改良した乳酸菌の開発を進めてきたが、2015年に上場企業Intrexon Corpにより買収された。Intrexon Corpがこの乳酸菌製剤の開発を継続している。
GT Biologics (4D Pharma Plcに買収された)	Aberdeen, UK / 2008年	生菌の投与	GT Biologicsは生きた <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 菌をクローン病に罹患した若年患者に投与し、治療することを旨としている。その他、炎症性腸疾患(IBD)の治療用細菌製剤の開発も進めている。4D Pharma PlcがGT Biologicsを2015年に買収し、これらの細菌製剤の開発を継続している。
Second Genome, Inc.	San Francisco, CA / 2009年	低分子化合物	腸内微生物叢が関与する現象に着目して、炎症性腸疾患(IBD)の炎症と痛みを緩和する低分子治療薬を発見し、臨床試験に向けた開発を進めている。また、潰瘍性大腸炎の治療薬の開発でJanssen Biotechと提携している。
Enterologics, Inc.	St. Paul, MN / 2009年	生菌の投与	慢性回腸炎の治療に役立つ細菌として <i>Escherichia coli</i> M1を発見し、プロバイオティクス(人体に良い影響を与える微生物:善玉菌)の製剤としてFDAの認可を得るべく、開発を進めている。その他、腸内細菌を用いて炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、クロストリジウム・デフィシル菌感染症などの腸疾患を治療することを目指している。
Seres Therapeutics, Inc. (旧Seres Health, Inc.)	Cambridge, MA / 2010年	細菌胞子の投与	<i>Clostridium difficile</i> 感染症の治療に用いる細菌胞子を含むカプセル薬SER-109の開発を進めている。SER-109はフェーズ3試験に入っており、開発ステージが最も進んでいるベンチャー企業といえる。昨年(2015年)にNASDAQに株式上場を果たしている。

(ジナリス・オミックス調査)

VIThera Pharmaceuticals, Inc.	Cambridge, MA / 2010年	治療用タンパク質生産乳酸菌の投与	炎症性腸疾患の治療に効果があるタンパク質を発見する乳酸菌を創製し、このプロバイオティクスの臨床試験入りを狙っている。
Vedanta Biosciences Inc.	Boston, MA / 2010年	免疫細胞に影響を与える生菌の投与	制御性T細胞に影響を与える細菌群やTh17細胞(ヘルパーT細胞の一種)を活性化する細菌群を特定し、これら細菌群を産や感染症の治療やワクチン設計に活かすことを目指している。
Elcelyx Therapeutics, Inc.	San Diego, CA / 2010年	メトフォルミンの徐放性製剤	メトフォルミンは2型糖尿病の治療薬として用いられているが、Elcelyx Therapeuticsはメトフォルミンの徐放性製剤の開発を進めている。メトフォルミンは、腸内微生物叢に影響を与えて、疾病治療にプラスの効果をもたらす可能性が示唆されていることから、最近腸内微生物叢に影響を与えることで注目されている。
Evolve BioSystems, Inc.	San Francisco, CA / 2011年	生菌の経口投与	健康な新生児の健康維持に関わっている腸内微生物叢に着目したプロバイオティクスの開発を推進している。
Rebiotix Inc.	Rockville, MN / 2011年	腸内微生物叢製剤の経口投与	腸内微生物叢製剤に対して、健康人の糞便を患者の肛門から移植する治療が有効を示すことが明らかになった。この現象に基づき、健康人由来の腸内微生物叢の製剤を再発性クロストリジウム感染症の治療薬候補として開発し、現在フェーズ2の臨床試験を行っている。
Optibiotix Health plc	York, UK / 2012年	生菌の経口投与または低分子化合物	腸内微生物叢との相互作用により代謝系に影響を与え、疾病治療を促す微生物を特定するプラットフォーム技術(Optiscreen)および腸内微生物叢を調整する新規薬物を探索するプラットフォーム技術(OptiBiologics)を保有している。これらの技術を活用して、脂質・コレステロールのレベル、エネルギー獲得または食欲抑制に影響を与えるマイケルロバイーム調整薬(生菌または低分子医薬品)の開発を推進している。
OmiBiome, Inc.	San Diego, CA / 2012年	治療薬(詳細は不明)の投与	母親と乳児に関わる疾病の治療に関して、産、乳前および口腔の細菌叢が全身に及ぼす影響を考慮した診断法と治療薬の開発を推進している。
CIPAC Limited	Minnesota州, USA / 2012年	腸内微生物叢製剤の経口投与	再発性クロストリジウム感染症を治療するための生きた腸内細菌製剤をミネソタ大学が開発した。この製剤について治療薬としての認可を得るために、CIPAC Limitedが設立され、開発が続けられている。
Symbeiox, Inc.	Durham, NC / 2012年	低分子化合物の経口投与	ある種の抗がん剤の毒性が腸内細菌の酵素によって生じる代謝物に由来するケースが知られることに着目している。この代謝産物を低分子化合物により阻害することにより、抗がん剤の副作用を軽減することを目指している。
Symbiotic Health, Inc.	New York, NY / 2013年	生菌の経口投与	生菌や細菌のタンパク質を利用して、薬物を腸内の目的の部位に運ぶ技術を開発した。まず、この技術を利用して再発性クロストリジウム感染症を治療することを目指している。
Symbiotix Biotherapies, Inc.	Boston, MA / 2013年	微生物由来の分子に基づく新規治療薬の経口投与	腸内微生物叢から由来する分子に基づいて新規医薬品の開発を目指している。具体的な医薬品の候補としては、経口投与可能な新規多量糖である。この多量糖は炎症部位でサイトカインIL-10を分泌する制御性T細胞の生産を促す作用を有しており、この多量糖製剤を免疫疾患治療薬としての開発を進めている。
EpBiome, Inc.	South San Francisco, CA / 2013年	バクテリオファージの投与	ヒト感染症や農業における植物の病原菌感染に対して、従来の抗生物質でなく、細菌を消滅させるバクテリオファージの投与により、これら感染症を治療することを目指している。
Synlogic, Inc.	Cambridge, MA / 2013年	改良型生菌の経口投与	腸内細菌をもとに疾病に伴う代謝異常を修復する機能を発揮するように改良した改良型細菌の開発を進めている。
MicroBiome Therapeutics, LLC	Broomfield, CO / 2013年	メトフォルミンの剤形改良薬	上記のElcelyx Therapeutics, Inc.と同様に、2型糖尿病治療薬メトフォルミンの剤形を改良した医薬品MM-505の開発を進めている。
Alma Bio Therapeutics SAS	Lyon, RA, France / 2013年	新しい薬物?	免疫系細胞ネットワークに働きかけて、炎症性腸疾患などの自己免疫疾患を治療するための新しい薬物の開発を進めている。
Eligo Bioscience SAS	Paris, France / 2014年	改良型バクテリオファージの投与	ゲノム編集技術を用いて病原菌を消滅させるバクテリオファージを改良し、感染症を治療することを目指している。
Elevo Biosciences	Cambridge, MA / 2015年	生菌の経口投与	癌の微生物叢に着目して、細菌による免疫活性化を促す治療法を開発している。
Mimics Bio-Therapeutics LLC	New York, NY / 不明	生菌の経口投与?	上記のVedanta Bioscience Inc.と同様に、Th17細胞(ヘルパーT細胞の一種)の活性を抑制して、関節炎リウマチを治療することを目指している。

ご清聴ありがとうございました

