

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：72611

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18407

研究課題名(和文)自然発症疾患コモンマーモセットを用いた糞便微生物叢移植(FMT)療法の検証

研究課題名(英文)Assessment of fecal microbiota transplantation therapy using spontaneous disease models of common marmosets

研究代表者

井上 貴史(INOUE, Takashi)

公益財団法人実験動物中央研究所・マーモセット研究部・室長

研究者番号：60465937

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：糞便微生物叢移植(FMT)療法の霊長類モデルでの検証を目的として、本研究ではコモンマーモセットを用いて腸疾患に対するFMTの有効性を検討した。炎症性の腸疾患が疑われる慢性下痢症での検討では、FMT後に便性状の改善、体重の増加、低アルブミン血症および貧血の改善を示す個体が認められた。また、再発性Clostridium difficile 感染症(CDI)での検討では、FMTによりCDIの再発が抑制される傾向が認められた。16SrRNA遺伝子による糞便細菌叢解析ではFMT前後でマーモセットの菌叢構成に変化が認められており、FMTにより腸疾患に関連したdysbiosisが改善されたことが推察された。

研究成果の概要(英文)：Therapeutic effect of fecal microbiota transplantation (FMT) was assessed using common marmosets as a nonhuman primate model. FMT therapy resulted in ameliorating diarrhea, weight loss, hypoalbuminemia and anemia in some chronic diarrhea cases of marmosets. FMT also tended to cure recurrent Clostridium difficile infection in marmosets. Analysis of fecal bacterial flora based on the 16S rRNA gene showed shifts of bacterial composition in the animals after FMT, implying that FMT therapy cured dysbiosis related to these intestinal diseases.

研究分野：実験動物学、獣医学

キーワード：マーモセット FMT 腸内細菌 Clostridium difficile

1. 研究開始当初の背景

腸内細菌叢のバランス異常 (dysbiosis) は、腸管局所のみならず、全身の免疫系や代謝系に異常を引き起こすことで種々の疾患に関連することが報告されている。このことから、dysbiosis の改善による疾患の治療法が試みられており、近年、健康者の糞便を患者の腸内に注入する糞便微生物叢移植 (Fecal microbiota transplantation, FMT) 療法が注目されている。FMT 療法は、再発性 *Clostridium difficile* 感染症 (CDI) に対する治療効果が報告され、炎症性腸疾患やメタボリックシンドロームなどに対しても有効性が示唆されている。FMT 療法の適応疾患の拡大とその有効性の機序解明のためには、動物モデルでの検証が不可欠であり、なかでも、腸内環境や疾患の病態がヒトに類似する霊長類モデルが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、FMT 療法の前臨床研究に有用な霊長類モデルの確立をめざして、コモンマーモセットを用いて FMT 療法による腸疾患の改善効果の検証を行うことを目的とした。コモンマーモセット (マーモセット) は、霊長類としてヒトと類似した生体機能を持ちながら、小型で取り扱い容易で繁殖効率が高いという利点がある。これまでに、マーモセットにおいて、CDI や炎症性の腸疾患の自然発症を見出しており、これらの腸疾患に対して FMT 療法を実施し、改善効果と腸内細菌叢の変化について検討を行った。

3. 研究の方法

1) マーモセットの慢性下痢症に対する FMT 療法の検討

マーモセットでは進行性の消瘦を主徴とする原因不明の wasting marmoset syndrome (WMS) と呼ばれる消耗性疾患が認められている。WMS の臨床徴候としては下痢症を伴うことが多く、病理解析からは WMS の主病変として慢性リンパ球性腸炎が示唆されている。このマーモセットの慢性腸炎と dysbiosis との関連が疑われることから、断続的な下痢症と消瘦を呈するマーモセットに対して FMT 療法による回復効果を検証した。

2) マーモセットにおける *Clostridium difficile* 感染症 (CDI) に対する FMT 療法の検討

C. difficile はヒトや多種の哺乳類の腸管内や環境中に棲息する細菌種であり、抗菌薬投与などによる dysbiosis に関連して宿主の腸管内で異常増殖と毒素産生することで大腸炎など (CDI) を引き起こす。近年の調査により、本細菌がマーモセットにおいて下痢症や偽膜性大腸炎などのヒトと類似した病態を示すことが認められている。CDI の治療

は感受性の抗菌薬 (メトロニダゾール、バンコマイシン) の投与が有効であるが、投薬終了後の再発が問題となっている。ヒトにおいてはこの再発性 CDI に対して FMT 療法の著効が報告されていることから、この検証を目的として、マーモセットの再発性 CDI に対する FMT 療法の検討を行った。

4. 研究成果

1) マーモセットの慢性下痢症に対する FMT 療法の検討

慢性下痢と消瘦を呈したマーモセット個体を対象に FMT 療法を検討した。断続的な下痢便に伴って 15% 以上の体重減少が観察され、病原性細菌 (*Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia pseudotuberculosis*, EPEC, *Clostridium difficile*) の検査陰性の 3 頭 (雌 2 雄 1, 7-9 歳齢) を被験個体として選定した。FMT のドナー糞便としては、同様の病原性細菌の検査陰性で一般状態に異常が認められない 5 頭の健康マーモセットの糞便を混合、凍結保存したものをを用いた。被験個体への FMT は 4 種 (アンピシリン、ネオマイシン、バンコマイシン、メトロニダゾール) の抗菌薬投与を 3 日間施した後、ドナー糞便を生理食塩水に懸濁して胃内投与することにより行った。その結果、2 頭において FMT 後に体重増加、便性状の改善、低アルブミン血症および貧血の改善が観察された (図 1, 2)。被験個体とドナー糞便の糞便細菌叢について T-RFLP 法による 16S rRNA 遺伝子解析を行ったところ、状態改善が観察された 2 頭では菌叢構成が FMT 後にドナー便に近づく傾向が

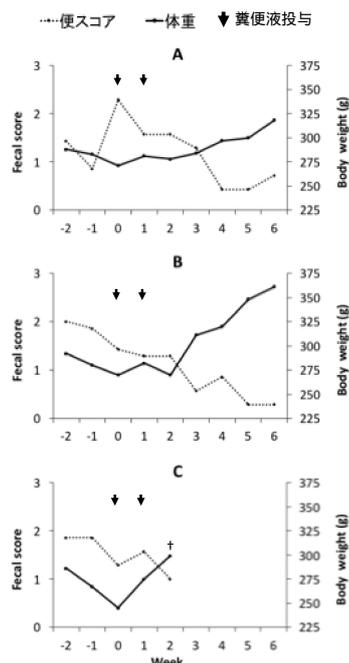


図1. FMTを施した慢性下痢症マーモセットの体重と便スコアの推移

3頭(A-C)のうち、2頭(A,B)では初回糞便投与2週後以降に体重増加と便性状の改善が観察された。1頭(C)では初回糞便投与2週後に著しい衰弱が認められたため安楽死させた。

認められた (図 3)。

以上の結果から、慢性腸炎が疑われる慢性下痢・衰弱を呈したマーモセットにおいて FMT 療法による改善効果の可能性が示唆され

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 貴史 (INOUE, Takashi)
実験動物中央研究所・マーモセット研究部
疾患モデル研究室・室長
研究者番号：60465937

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

野津 量子 (NOZU, Ryoko)
佐藤 賢哉 (SATO, Kenya)
佐々木 絵美 (SASAKI, Emi)