

令和 4 年 4 月 29 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17932

研究課題名（和文）腸内細菌を標的としたヒト肥満ワクチンの開発研究

研究課題名（英文）Development of mucosal vaccine against obesity-associated intestinal bacteria

研究代表者

藤本 康介（Fujimoto, Kosuke）

大阪市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：30802805

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：肥満や糖尿病と関連が報告されているClostridium ramosumに対する粘膜ワクチン開発を行い、粘膜ワクチンの投与によって肥満や糖尿病の病態が改善することを示した。また、ヒトへの臨床応用を目指して、ワクチンの基剤の改変を行った。water-in-oil-in-water型エマルジョンを基剤とした粘膜ワクチンの安全性および有効性を動物モデルで示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

さまざまな疾患と関連する腸内共生病原菌を特異的に制御する方法が強く求められている。新しく開発した粘膜ワクチンを肥満や糖尿病に関わる腸内共生病原菌Clostridium ramosumに応用したところ、効率的な粘膜免疫応答が誘導とともに、Clostridium ramosumが引き起こす肥満や糖尿病の病態を著しく改善させることができた。腸内共生病原菌が関連する疾患に対する新たな予防・治療アプローチとなる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We developed mucosal vaccines against Clostridium ramosum, which have been reported to be associated with obesity and diabetes in human, and showed that administration of the mucosal vaccines improve the pathophysiology of obesity and diabetes. In addition, the base of the vaccines were modified to use for humans. Using Animal models, we showed the safety and efficacy of the mucosal vaccines based on a water-in-oil-in-water emulsion.

研究分野：免疫学、ゲノム微生物学

キーワード：腸内細菌 粘膜ワクチン Clostridium ramosum IgA

1. 研究開始当初の背景

近年では、次世代シーケンサーによるゲノム解析技術の向上と相まって、特に dysbiosis が肥満、糖尿病などの代謝疾患だけでなく、炎症性腸疾患や関節リウマチなどの自己免疫疾患にも関連することが多数報告されている。このように dysbiosis にさまざまな疾患が関連していることは数多く報告されているが、dysbiosis の原因菌を特異的に制御し病態改善に寄与する治療法は乏しい。

これまで小腸粘膜固有層に存在する樹状細胞として代表的な Toll-like receptor (TLR) 5 陽性小腸樹状細胞 (CD11c^{hi}CD11b^{hi} 樹状細胞) と CD103 陽性小腸樹状細胞 (CD11c^{hi}CD11b^{lo} 樹状細胞) の機能解析を行い、腸管粘膜の IgA 誘導機構における粘膜樹状細胞の役割を明らかにしてきた。この粘膜樹状細胞の機能解析を基盤として、TLR リガンドの CpG DNA と Dectin-1 のリガンドである curdlan に卵白アルブミン(OVA)を抗原として加え、不完全フロイントアジュバント (IFA) と共に混合したものをワクチンとして筋注すると、末梢組織で CD11c^{hi}CD11b^{hi} 樹状細胞と機能的に類似した IgA 産生能を有する樹状細胞が誘導できることを見出した。さらにこのワクチンは、腸管だけでなく全身の粘膜で抗原特異的な IgA を誘導することだけでなく、抗原特異的な Th1 や Th17 応答にも寄与していることが明らかとなった。しかし、ワクチンアジュバントとして用いた IFA は、安全性の面からヒトのワクチンアジュバントとして使用できず、臨床応用への大きな課題であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、これまでマウスモデルで培ってきた新規粘膜ワクチンの手法を用いて dysbiosis 関連疾患 (主に肥満者) の原因菌の探索ならびにその制御を行うためにより効果的な抗原を同定すること、またヒトへの臨床応用が可能な基剤を同定することである。

3. 研究の方法

肥満者の糞便サンプルを用いたメタゲノム解析から、肥満に特徴的な腸内共生病原菌の探索を行った。ヒトへの臨床応用のため IFA に代わる基剤の探索として、water-in-oil-in-water 型エマルジョン製剤を用いた検討を行った。

4. 研究成果

日本人肥満者の糞便を用いてメタゲノム解析を行い、健常者のメタゲノムデータと比較した。BMI>30 の肥満者では、肥満や糖尿病患者の腸内共生病原菌の一つとして知られる *Clostridium ramosum* の割合が上昇していることを示した。*C. ramosum* が粘膜ワクチンの良い標的になるのではないかと考えた。

そこで、CpG DNA と curdlan を用いた新規粘膜ワクチンの手法を腸内細菌制御に応用することを試みた。*C. ramosum* に対するワクチンを作製し、肥満者の糞便を定着させたノトバイオマウスに接種すると、*C. ramosum* 特異的な血清 IgG および糞便 IgA が誘導された (図1)。また、ワクチン接種によって、腸管粘膜に存在する *C. ramosum* 数が著明に減少する (図2) と共に、高脂肪食誘導性肥満モデルの著明な改善を認めた (図3)。次に、IFA に代わる基剤の改良に取り組んだ。water-in-oil-in-water 型エマルジョン製剤について検討したところ、IFA と同等の免疫誘導能を有することが明らかとなった。腸内共生病原菌に対する新しい予防法・治療法の可能性が示唆された。

図1: 新規粘膜ワクチンによって *C. ramosum* 特異的な血清IgGおよび糞便IgAが誘導される

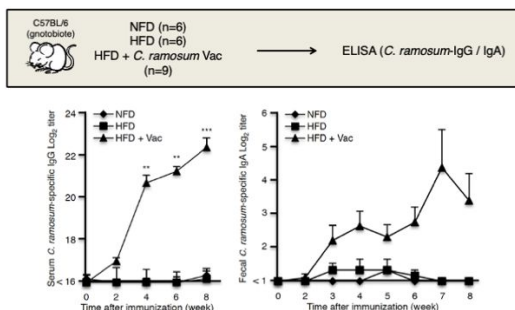


図2:新規粘膜ワクチンによって腸管粘膜の *C. ramosum* 数は減少する

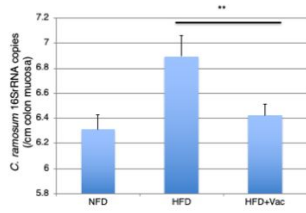
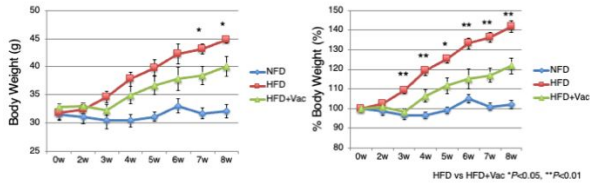


図3:新規粘膜ワクチンによって高脂肪食接種後の体重増加が軽減する



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 5件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takashima Shingo, Tanaka Fumio, Kawaguchi Yunosuke, Usui Yuki, Fujimoto Kosuke, Nadatani Yuji, Otani Koji, Hosomi Shuhei, Nagami Yasuaki, Kamata Noriko, Taira Koichi, Tanigawa Tetsuya, Watanabe Toshio, Imoto Seiya, Uematsu Satoshi, Fujiwara Yasuhiro	4. 巻 32
2. 論文標題 Proton pump inhibitors enhance intestinal permeability via dysbiosis of gut microbiota under stressed conditions in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurogastroenterology & Motility	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nmo.13841	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujimoto Kosuke, Uematsu Satoshi	4. 巻 26
2. 論文標題 Vaccine therapy for dysbiosis-related diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 2758 ~ 2767
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v26.i21.2758	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fujimoto K., Kimura Y., Shimohigoshi M., Satoh T., Sato S., Tremmel G., Uematsu M., Kawaguchi Y., Usui Y., Nakano Y., Hayashi T., Kashima K., Yuki Y., Yamaguchi K., Furukawa Y., Kakuta M., Akiyama Y., Yamaguchi R., Crowe SE., Ernst PB., Miyano S., Kiyono H., Imoto S., Uematsu S.	4. 巻 28
2. 論文標題 Metagenome Data on Intestinal Phage-Bacteria Associations Aids the Development of Phage Therapy against Pathobionts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Host & Microbe	6. 最初と最後の頁 380 ~ 389.e9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chom.2020.06.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Fujimoto K, Kimura Y, Allegretti JR, Yamamoto M, Zhang YZ, Katayama K, Tremmel G, Kawaguchi Y, Shimohigoshi M, Hayashi T, Uematsu M, Yamaguchi K, Furukawa Y, Akiyama Y, Yamaguchi R, Crowe SE, Ernst PB, Miyano S, Kiyono H, Imoto S, Uematsu S.	4. 巻 -
2. 論文標題 Functional Restoration of Bacteriomes and Viromes by Fecal Microbiota Transplantation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2021.02.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 藤本康介, 植松智	4. 巻 Vol73(5)
2. 論文標題 腸内細菌と肥満ワクチン	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床免疫・アレルギー科	6. 最初と最後の頁 526-533
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤本康介, 植松智	4. 巻 Vol75(4)
2. 論文標題 IgA誘導型新規粘膜ワクチン	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床免疫・アレルギー科	6. 最初と最後の頁 477-485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto Kosuke, Kawaguchi Yunosuke, Shimohigoshi Masaki, Gotoh Yoshiyuki, Nakano Yoshiko, Usui Yuki, Hayashi Tetsuya, Kimura Yasumasa, Uematsu Miho, Yamamoto Takuya, Akeda Yukihiro, Rhee Joon Haeng, Yuki Yoshikazu, Ishii Ken J., Crowe Sheila E., Ernst Peter B., Kiyono Hiroshi, Uematsu Satoshi	4. 巻 157
2. 論文標題 Antigen-Specific Mucosal Immunity Regulates Development of Intestinal Bacteria-Mediated Diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1530 ~ 1543.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2019.08.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujimoto Kosuke, Uematsu Satoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Development of prime?boost-type next-generation mucosal vaccines	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morita Takayoshi, Shima Yoshihito, Fujimoto Kosuke, Tsuboi Hideki, Saeki Yukihiko, Narazaki Masashi, Ogata Atsushi, Kumanogoh Atsushi	4. 巻 31
2. 論文標題 Anti-receptor activator of nuclear factor B ligand antibody treatment increases osteoclastogenesis-promoting IL-8 in patients with rheumatoid arthritis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 277 ~ 285
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lee Eunyoung, Miedzybrodzka Emily L., Zhang Xilin, Hatano Ryo, Miyamoto Junki, Kimura Ikuo, Fujimoto Kosuke, Uematsu Satoshi, Rodriguez-Cuenca Sergio, Vidal-Puig Antonio, Gribble Fiona M., Reimann Frank, Miki Takashi	4. 巻 20
2. 論文標題 Diet-Induced Obese Mice and Leptin-Deficient Lepob/ob Mice Exhibit Increased Circulating GIP Levels Produced by Different Mechanisms	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4448 ~ 4448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20184448	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sugimura Naoki, Otani Koji, Watanabe Toshio, Nakatsu Geicho, Shimada Sunao, Fujimoto Kosuke, Nadatani Yuji, Hosomi Shuhei, Tanaka Fumio, Kamata Noriko, Taira Koichi, Nagami Yasuaki, Tanigawa Tetsuya, Uematsu Satoshi, Fujiwara Yasuhiro	4. 巻 9
2. 論文標題 High-fat diet-mediated dysbiosis exacerbates NSAID-induced small intestinal damage through the induction of interleukin-17A	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-52980-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Pareek Siddhika, Kurakawa Takashi, Das Bhabatosh, Motooka Daisuke, Nakaya Shuuichi, Rongsen-Chandola Tamsunaro, Goyal Nidhi, Kayama Hisako, Dodd Dylan, Okumura Ryu, Maeda Yuichi, Fujimoto Kosuke, Nii Takuro, Ogawa Takao, Iida Tetsuya, Bhandari Nita, Kida Toshiyuki, Nakamura Shota, Nair G. Balakrish, Takeda Kiyoshi	4. 巻 5
2. 論文標題 Comparison of Japanese and Indian intestinal microbiota shows diet-dependent interaction between bacteria and fungi	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 npj Biofilms and Microbiomes	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41522-019-0110-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 藤本康介、植松 智	4. 巻 Vol.17 No.1
2. 論文標題 腸内細菌叢（腸内フローラ）とは	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 糖尿病ケア	6. 最初と最後の頁 9-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤本康介、植松 智	4. 巻 Vol.17 No.1
2. 論文標題 腸内細菌が乱れる原因と体に及ぼす影響	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 糖尿病ケア	6. 最初と最後の頁 11-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤本康介、植松 智	4. 巻 Vol.40 No.3
2. 論文標題 糖尿病と腸内細菌	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PROGRESS IN MEDICINE	6. 最初と最後の頁 39-47
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤本康介、植松智
2. 発表標題 抗原特異的な粘膜免疫応答を介した腸内細菌関連疾患の制御
3. 学会等名 第117回日本内科学会講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤本康介, 植松智
2. 発表標題 ヒト腸内ファージ解析を基盤とした新規溶菌酵素の同定と疾患への応用
3. 学会等名 第41回日本炎症・再生医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤本康介
2. 発表標題 ヒト腸内ウイルス叢解析を基盤としたpathobiontの制御
3. 学会等名 第48回日本臨床免疫学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤本康介, 植松智
2. 発表標題 ヒト腸内ウイルス叢解析を基盤とした腸内共生病原菌の制御法の開発
3. 学会等名 第94回日本細菌学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤本康介、植松 智
2. 発表標題 ヒト腸内ウイルス叢解析とそのデータベース構築
3. 学会等名 第56回日本消化器免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本康介、川口雄之亮、下吹越正紀、植松 智
2. 発表標題 新規粘膜ワクチンを用いた腸内細菌制御法の開発
3. 学会等名 第47回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本康介、川口雄之亮、下吹越正紀、植松 智
2. 発表標題 新規粘膜ワクチンを用いた肥満関連腸内細菌の制御
3. 学会等名 第47回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kosuke Fujimoto, Yunosuke Kawaguchi, Satoshi Uematsu
2. 発表標題 Regulation of intestinal bacteria-mediated diseases by induction of antigen-specific mucosal immunity
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------