

ISSN 2436-7362

**JOURNAL
OF
GERMFREE LIFE
AND
GNOTOBIOLOGY**
無菌生物

Vol. 53

No. 1

2023

無 菌 生 物

J. germfree life gnotobiol.

日本無菌生物ノートバイオロジー学会

JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

無菌生物

Vol. 53, No. 1 Sept. 1 2023

編集委員会

神谷 茂
白川 仁
大崎 敬子

印刷所
事務所

共立印刷株式会社
日本無菌生物ノートバイオロジー学会
〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-12
公益財団法人実験動物中央研究所内
小倉 智幸 (おぐら ともゆき)
TEL (044)201-8520 内線1325
FAX (044)201-8521

発行所

杏林大学医学部感染症学講座
大崎 敬子 (おおさき たかこ)

JOURNAL OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

Vol. 53, No. 1 Sept. 1 2023

Editorial and Publications Committee

SHIGERU KAMIYA MD PhD

HITOSHI SHIRAKAWA PhD

TAKAKO OSAKI PhD

Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology

c/o Tomoyuki Ogura

Central Institute for Experimental Animals

3-25-12 Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki, 210-0821 Japan

TEL +81-44-201-8520extension1325

FAX +81-44-201-8521

E-mail jagg@ciea.or.jp

Department of Infectious Diseases
Kyorin University School of Medicine
Dr Takako Osaki

第56回 日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会

The Fifty-sixth Annual Meeting of
The Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology

January 21-22, 2023

Isehara

President *Makoto Onizuka*

会 長 鬼 塚 真 仁
会 期 2023年（令和5年）1月21日（土）・22日（日）
会 場 東海大学・松前記念講堂・オンライン開催併用

第56回日本無菌生物オートバイオロジー学会総会開催報告

第56回日本無菌生物オートバイオロジー学会総会
会長 鬼塚 真仁(東海大学医学部血液腫瘍内科学准教授)

令和5年(2023)1月21日(土)、および22日(日)の2日間にわたり、第56回日本無菌生物オートバイオロジー学会総会が、東海大学医学部附属病院 松前記念講堂およびオンライン(Microsoft Teams)での、ハイブリッドにて開催されました。非会員の参加も受け付け、会員・非会員合わせて50名以上の先生方にご参加いただきました。神奈川県伊勢原市という必ずしも交通の便が良くない本学での開催にもかかわらず、多くの先生方にご参加いただきましたことを感謝申し上げます。当日は、懇親会も準備しておりましたが、新型コロナウイルス感染症における学内の規制により、残念ながら中止することとなり、ご参加の先生方との交流を行うことが叶いませんでした。

また、当日の運営において、スムーズに進められなかった点など、ご不便をお掛けしたことをこの誌面を通じて、お詫び申し上げます。

本総会では、腸内細菌叢と疾患に焦点を当て、シンポジウムIでは、2名のシンポジストから「常在細菌と宿主免疫の新たな展開」をテーマに、シンポジウムIIでは、3名のシンポジストから「がん治療における腸内環境の役割と今後の展望」をテーマに、いずれの先生方からも最先端の意義のあるご講演を賜りました。ご参加の先生方の新たな知見や今後の研究活動に大いに役立つ内容であったことと存じます。

また、イブニングセミナーでは、東海大学 加藤俊

一氏による「無菌生物学の臨床応用から始まった造血幹細胞移植の発展と今後の展望」を講演いただきました。私自身も造血幹細胞移植に携わって参りましたが、本邦における移植医療の黎明期での様々な困難に立ち向かい解決なさってきたお話には、自然と背筋が伸びる思いで拝聴いたしました。今後の無菌生物学と造血幹細胞移植のさらなる進歩を願う力強いメッセージでありました。

さらに、一般演題も、例年と同様に10演題の発表があり、クオリティーの高いご発表を拝聴することができました。いずれも、真摯に討論がなされ、本領域の奥深さをあらためて感じることができた2日間でありました。

慎重な選考審査のもと2023年度「佐々木正五賞」には、東海大学医学部 今井仁氏が受賞されました。ご発表いただいた「炎症性腸疾患における病原性共生菌へのIgA応答と臨床応用」は、若い研究者の独創的な研究開発であり、まさに佐々木正五賞にふさわしいテーマでありました。同時に、多くのご発表が受賞の価値ある貴重なご発表であったことを付記いたします。今後の皆様方の研究活動が順風でありますことを願っております。

最後に、本総会の開催にあたり、一部開催を補助いただきました。東海大学総合研究機構へ厚く御礼申し上げます。



第56回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会 会長 鬼塚真仁
2023年1月21日 伊勢原 東海大学医学部附属病院 松前記念講堂

参加者集合写真（敬称略）

- 4段目左から 米澤英雄 上林幸拓 松田正史 細野 朗 高橋利一
3段目左から 大西拓人 井上貴史 中村嘉彦 杉本達哉 石井さなえ 大崎雄介 平山和宏 山田裕貴 工藤逸美
2段目左から 吉村美和 津田真人 大竹正剛 小倉智幸 安藤 潔 石倉知征 浅野妃南 富山香代 高橋志達
岡 健太郎 大崎敬子
1段目左から 久保允人 國澤 純 大谷直子 鬼塚真仁 神谷 茂 加藤俊一 駒井三千夫 伊藤 守 白川 仁

第56回日本無菌生物ノートバイオロジー学会プログラム

シンポジウム I

「常在細菌と宿主免疫の新たな展開」

座長 久保 允 人

(東京理科大学総研機構生命医科学研究所)

1. 免疫制御における腸内環境の重要性と可能性…………… 7
 國澤 純
 (医薬基盤・健康・栄養研究所ヘルス・メディカル連携研究センター&ワクチン・アジュバント研究センター)
2. 腸内細菌叢と肥満関連肝がん～ Leaky gut による腸内細菌関連物質の肝移行の関与～…………… 9
 大谷直子
 (大阪公立大学大学院医学研究科病態生理学)

イブニングセミナー

座長 鬼塚 真 仁

(東海大学医学部血液腫瘍内科学)

- 無菌生物学の臨床応用から始まった造血幹細胞移植の発展と今後の展望…………… 11
 加藤俊一
 (東海大学医学部)

シンポジウム II

「がん治療における腸内環境の役割と今後の展望」

座長 安藤 潔

(東海大学医学部血液腫瘍内科学)

1. がん治療領域における CBM588をはじめとする有用菌種併用のエビデンスと今後の展望 …………… 12
岡 健太郎, 高橋志達
(ミヤリサン製薬株式会社研究開発本部)
2. 発がん過程を制御する腸内共生細菌と宿主の生物界間シグナル…………… 14
津川 仁
(東海大学医学部生体防御学領域)
3. 腸がキレイになると, 治療もうまくいく? ~腸内細菌叢とがん治療, そして造血細胞移植~ …………… 16
福島健太郎
(大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学)

一般演題 セッション I

座長 高橋志達

(ミヤリサン製薬株式会社)

1. 陽圧完全密閉式個別換気ラックを使用した無菌マウスの飼育…………… 00
石倉知征, 松田正史
(国立研究開発法人理化学研究所生命医科学研究センター (IMS))
2. 新生仔の鼻腔炎症が腸内細菌叢に及ぼす影響…………… 00
浅野妃南*, 三島由祐子**, 大崎敬子***, 石井さなえ**
(*杏林大学大学院保健学研究科, **杏林大学保健学部臨床検査技術学科, ***杏林大学医学部感染症学)
3. 発酵小麦ふすまの摂取は糞便中の短鎖脂肪酸を増加させ DSS 誘発性大腸炎の改善する …………… 00
Afifah Zahra Agista, 大崎雄介, 駒井三千夫, 白川 仁
(東北大学大学院農学研究科栄養学分野)
4. 造影 X 線検査による無菌コモンマーマセットの盲腸の形態評価 …………… 00
井上貴史
(実験動物中央研究所マーマセット医学生物学研究部)
5. 新しいブタ用アイソレーターの特長と Germ-Free マイクロミニピッグの解剖学的評価 …………… 00
大竹正剛
(静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター)

一般演題 セッションII

座長 鬼塚真仁

(東海大学医学部血液腫瘍内科学)

6. 炎症性腸疾患における病原性共生菌へのIgA応答と臨床応用…………… 00
 今井 仁^{***}, 穂積勝人^{***}
 (*東海大学医学部健康管理学, **東海大学医学部消化器内科学, ***東海大学医学部生体防御学)
7. 腸内細菌叢の攪乱による攻撃行動特性の比較…………… 00
 花輪球太^{*}, 渡邊己弦^{**}, 三上克央^{**}
 (*東海大学医学部医学研究科先端医科学, **東海大学医学部総合診療系精神科学)
8. 異なる脂肪酸の摂取条件が食品抗原を介した免疫応答に与える影響…………… 00
 吉村美和, 津田真人, 細野 朗
 (日本大学生物資源科学部食品生命機能学研究室)
9. 薬剤耐性プラスミドの接合伝達に対するフラボフォスフォリポールの活性評価…………… 00
 工藤逸美^{***}, 岡 健太郎^{**}, 高橋志達^{**}
 (*酪農学園大学獣医学群食品衛生学ユニット, **ミヤリサン製薬株式会社研究開発本部研究部)
10. 酪酸によるT細胞を介した抗腫瘍免疫応答の誘導 …………… 00
 山田裕貴, 丹羽みずほ, 北原秀悟, 岡 健太郎, 林 篤史, 高橋志達
 (ミヤリサン製薬株式会社研究開発本部)

免疫制御における腸内環境の重要性と可能性

國澤 純

(医薬基盤・健康・栄養研究所ヘルス・メディカル連携研究センター&ワクチン・アジュバント研究センター)

近年、「腸内環境」を対象にした健康増進が注目を集めています。腸は食べ物の消化や吸収をつかさどる組織ですが、同時に多くの免疫細胞が存在する免疫システムの一端も担っています。一方、腸管の管腔では、食事を介して摂取した成分が消化・吸収され私たちの体の一部となるだけでなく、腸内細菌の餌となり、腸内細菌の機能や構成に影響を与えます。さらに、腸内細菌は摂取した食品成分を餌とするだけでなく、少し形を変えた「代謝物」として排出し、その代謝物が腸から吸収され、免疫を始めとする生体機能に影響を与えています。これらの背景をもとに、「食品」「腸内

細菌」「腸管免疫」により構成される腸内環境を理解することの重要性、そして健康維持・増進のための可能性が注目されています。

本講演では食事や腸内細菌と生体機能、特に免疫との関わりについて、私たちが進めている基礎研究と人を対象とした研究から得られたビッグデータ解析との融合研究と、創薬や機能を有する食品の開発研究、さらには腸内環境から考える個別化／層別化栄養の可能性や健康社会実現に向けた社会実装について最新の知見を交え紹介したいと思います。

Importance and potential of the intestinal environment in the control of host immunity

JUN KUNISAWA

Collaborative Research Center for Health and Medicine & Center for Vaccine & Adjuvant Research, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition (NIBIOHN), Ibaraki

Health promotion with the keyword "intestinal environment" has attracted much attention. The intestine is a tissue responsible for digestion and absorption of diets, but it is also an organ where many immune cells reside. Their functions are affected through interactions with intestinal bacteria and dietary components. Furthermore, dietary components affect the function and composition of intestinal bacteria, while the intestinal bacteria expel and alter the ingested dietary components as "metabolites", which are then absorbed through the intestines and affect the immune system and other biological functions. Therefore, intestinal environment, which is composed of "diet," "intestinal bacteria," and "intestinal immunity," is considered to play an important role in the maintenance and promotion of healthy condition. In this talk, I would like to introduce the relationship between diet, intestinal bacteria, and health, especially immunity, by integrating basic research and human big data analysis for the drug discovery, development of functional foods, and the possibility of precision nutrition.

腸内細菌叢と肥満関連肝がん ～ Leaky gut による腸内細菌関連物質の肝移行の関与～

大谷 直子

(大阪公立大学大学院医学研究科 病態生理学)

I. 目的, 背景等

肥満は糖尿病や心血管性疾患だけでなく、様々な種類のがんを促進することが指摘されている。しかし、どのようなメカニズムで肥満ががんを促進するのかその詳細は十分にはわかっていない。近年、腸内細菌叢が関わる様々な病態変化が明らかになってきている。本研究では肥満で変化する腸内細菌叢に着目し、腸肝軸を介した肝臓微小環境への影響が肝がん発症を促進する可能性を考え、それを検証することを目的とした。

II. 材料と方法

私たちはDMBAを生後4、5日のマウスの背中に1回だけ塗布し、その後、高脂肪食を30週間摂取させる全身性の化学発癌マウスモデルを用いた。高脂肪食摂取により肥満したマウスにおいて肝がんの発症が著しく促進され、このプロトコルを用いた。

III. 結果, 考察, 結論

詳細な解析の結果、二次胆汁酸であるデオキシコール酸を産生するグラム陽性腸内細菌が高脂肪食摂取により増加することがわかった。腸肝循環により肝臓に運ばれたデオキシコール酸は、肝臓の間質に存在する肝星細胞に作用し、肝星細胞では細胞老化と細胞老化随伴分泌現象 (SASP, senescence-associated secretory phenotype) が生じ、様々な炎症性サイトカインやケ

モカイン、プロテアーゼや増殖因子等の分泌を促進することで、肝がん促進的ながん微小環境を形成することを見出した。この肥満関連肝がんモデルにおいては、腸管バリアの脆弱化により、グラム陽性細菌の細胞壁成分であるリポタイコ酸 (LTA) が肝臓に蓄積し、TLR2を介する経路によりSASP因子やシクロオキシゲナーゼ2 (COX-2) の発現を上昇させていることがわかった。その結果過剰産生されるアラキドン酸のCOX経路の代謝物、PGE2が抗腫瘍免疫を抑制し、肝がんの進展に寄与することが明らかになった。さらに最近私たちは、肝臓に蓄積したLTAが、TLR2依存性にガスターミンDのN端で形成される小孔を形成し肝星細胞上の小孔からSASP因子を放出させる機構を見出した。この小孔から、IL-1 β やIL-33が放出され、IL-33のレセプターであるST2陽性制御性T細胞を活性化させ、抗腫瘍免疫を抑制し、その結果、肝がんが進展していくことを明らかにした。これらの一連の研究により、腸内細菌由来で肝臓に移行したLTAが、様々な自然免疫系の炎症を惹起し、肝がんに促進的に作用することが明らかになり、肝がん形成における腸管バリアの重要性が示された。この機能は腫瘍部に脂質の蓄積が多いタイプのヒトのNASH関連肝がんにおいても認められ、このメカニズムがヒトにおいても生じている可能性が示された。

Gut microbiota and obesity-associated liver cancer by hepatic translocation of gut microbial factors via leaky gut

NAOKO OHTANI

Department of Pathophysiology, Osaka Metropolitan University, Graduate School of Medicine, Osaka

Obesity is known to be a risk factor for several types of cancer including hepatocellular carcinoma (HCC). We previously identified that the enterohepatic circulation of the obesity-induced gut microbiota metabolite, deoxycholic acid (DCA) induced the cellular senescence and senescence-associated secretory phenotype (SASP) of hepatic stellate cells, a phenotype that senescent cells secrete inflammatory cytokines, chemokines, growth factors, proteases and so on. The SASP factors are associated with creating a cancer promoting tumor microenvironment, suggesting that DCA is one of the crucial factors to accelerate obesity associated liver cancer. We found that the hepatic translocation of obesity induced lipoteichoic acid (LTA), a Gram positive gut microbial component, promotes HCC development by enhancing SASP factor expression of hepatic stellate cells through Toll like receptor 2 collaboratively with DCA. IL-33 was highly induced in senescent hepatic stellate cells (HSCs) in an IL-1 β -dependent manner in the tumor microenvironment. The release of both IL-33 and IL-1 β was triggered by LTA, and the release of these factors was mediated through cell membrane pores formed by the gasdermin D (GSDMD) N-terminus, which was cleaved by LTA-induced caspase-11. We demonstrated that IL-33 release from HSCs promoted HCC development via the activation of ST2-positive Treg cells in the liver tumor microenvironment. The accumulation of GSDMD N-terminus was also detected in HSCs of human NASH-associated HCC patients, suggesting that similar mechanism could be involved in a certain type of human NASH-associated HCC.

無菌生物学の臨床応用から始まった造血幹細胞移植の発展と今後の展望

加藤 俊一
(東海大学医学部)

本学会は1968年に宮川正澄先生や佐々木正五先生などによって創設され、初期の10年ほどは無菌生物を用いた基礎研究が主体であったが、1970年代後半になると臨床応用に関する研究発表が増加し始め、その中心は骨髄移植時の諸問題であった。

第二次世界大戦最中の米国の原子爆弾開発のマンハッタン計画の研究の中で、Jacobsonらはマウスの「造血幹細胞」を発見した。彼らは、致死量の放射線照射を受けたマウスにおいて脾臓遮蔽を行えば放射線による造血障害を回避できることを見だし、この発見が大戦後のヒトにおける骨髄移植の開発研究へと発展していった。

1960年代から1970年代にかけてシアトルのThomasらを中心として「近代的骨髄移植」の原理（HLAの適合、移植前処置、GVHD予防）が確立されたが、移植前後の無造血期を乗り切るためには無菌室治療が不可欠と考えられ、無菌室の開発と常在細菌叢の無菌化の技術が進歩した。

1970年代のわが国においては、金沢大学の服部絢一教授、大阪府立成人病センターの正岡徹部長などが中心となり、白血病の化学療法に無菌室治療を導入し、

本格的な骨髄移植の開発に関する研究が始められ、本学会においても多数の研究が発表された。

1980年代から90年代には、移植細胞の多様化（末梢血幹細胞、臍帯血幹細胞）、ドナーの拡大（骨髄バンク、臍帯血バンク）、移植適応疾患の拡大（白血病、再生不良性貧血、先天性免疫不全症、先天代謝異常など）、免疫抑制療法の進歩（カルシニューリン阻害剤、T細胞除去、CD34細胞純化など）、前処置法の多様化（骨髄非破壊的前処置）、支持療法の発展（抗菌剤、抗ウイルス剤、G-CSFなど）などにより骨髄移植は実験的治療から標準的治療として普及が進み、名称も「造血（幹）細胞移植」と改められた。このような進歩の中で無菌室治療は初期の「完全無菌室」から「簡易型無菌室」へと変化し、腸内殺菌などの無菌化は行われなくなった。

2000年代になり、腸内細菌研究の新たな展開があり、重症GVHDの治療や諸種の免疫異常を伴う難病に健常人からの糞便移植が試みられ、一定の効果が認められるようになってきている。

本講演では、東海大学での経験を中心にしながら造血幹細胞移植の進歩の歴史を振り返りながら、今後のさらなる発展について展望してみたい。

がん治療領域における CBM588をはじめとする 有用菌種併用のエビデンスと今後の展望

岡 健太郎 高橋 志達
(ミヤリサン製薬株式会社 研究開発本部)

免疫チェックポイント阻害剤 (ICI: Immune-checkpoint inhibitor) として抗 CTLA 抗体イピリムマブが2011年に米国で、抗 PD-1抗体ニボルマブが2014年に日本で承認されて以降、がんの新たな治療法としてがん免疫療法が注目されている。これら ICI には従来のがん治療を上回る有効性が認められている一方でその奏効は限定的であり、奏功予測バイオマーカーや奏効率に影響を与える因子の探索が進められている。

ヒトの腸内には多数の細菌が共生的に定着し常在細菌叢を形成しているが、近年の次世代シーケンサーの汎用化やメタボローム解析を始めとしたオミクス解析技術の進歩により、ヒトマイクロバイオーームと様々な疾患との関連性が解明され、腸内細菌叢が腸管関連疾患だけでなく糖尿病や動脈硬化症、うつ病など全身の疾患の発症や進行に関連することが明らかとなってきた。さらに最近では、特定の腸内細菌が ICI の奏効率に影響を与えることが報告されるようになり、腸内細菌由来有用菌の探索と Live Biotherapeutic Products (LBP) としての開発が世界中で進められている。

Clostridium butyricum は芽胞形成性の偏性嫌気性グラム陽性桿菌であり、主要な代謝物として酪酸 (butyric acid) を産生することからその名前が付けられた。10

～20% のヒトの糞便からも分離される常在菌の一種で、なかでも MIYAIRI588 株 (CBM588) は日本、韓国、中国、台湾を中心としたアジアでは古くからプロバイオティクスとして用いられている。

CBM588 の病原性細菌に対する抑制作用は古くから知られており、主に下痢や便秘の改善を目的とした整腸剤として使用されているが、近年では小児の抗菌薬関連下痢症に対する予防及び治療効果や、制御性 T 細胞の誘導能及び炎症時の粘膜における IL-10 産生性マクロファージの誘導能による腸炎抑制効果などが報告されている。がん領域においては、富田らが進行非小細胞肺癌患者を対照としたレトロスペクティブ試験により、CBM588 が ICI の奏効率を有意に増強することを報告している^{1,2}。さらに、Dizman らによる米国での医師主導治験成績では、CBM588 の併用が転移性腎細胞がんに対する ICI の治療奏効率を有意に上昇させることが報告され³、CBM588 のがん領域における LBP としての開発も進められている。

本シンポジウムでは、がん治療領域における CBM588をはじめとする有用菌種併用のエビデンスについて、CBM588 を中心に概説するとともに、がん免疫療法の併用療法としての LBP の今後の展望について紹介したい。

Evidence and future prospects for combination treatment with beneficial bacteria including CBM588 in cancer immunotherapy

KENTARO OKA and MOTOMICHI TAKAHASHI

R&D Division, Miyarisan Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama

Since approvals of anti-CTLA antibody ipilimumab and anti-PD-1 antibody nivolumab as immune-checkpoint inhibitors (ICI), cancer immunotherapy has attracted attention as a new cancer treatment. Although ICIs have been shown to be more effective, their effects are limited, and further research for seeking biomarkers or response factors on ICI treatment are ongoing.

The recent progress in multi-omics analysis have elucidated the relationship between microbiome and various diseases. Recently, it has been reported that some intestinal bacteria affect the response rate of ICI, and the development as Live Biotherapeutic Products (LBPs) are being promoted worldwide.

Clostridium butyricum is a spore-forming, Gram-positive obligate anaerobe and known as one of probiotics. *C. butyricum* MIYAIRI strain, which was discovered in 1933 by Dr. Chikaharu Miyairi, and used for over 80 years as pharmaceuticals and feed additives. *C. butyricum* MIYAIRI 588 (CBM588), which was isolated from soil in Nagano Prefecture in 1963, are currently used.

Recently, Tomita et al. reported that CBM588 significantly enhanced the response rate of ICI in a retrospective study on non-small cell lung cancer^{1,2}. In addition, Phase I clinical trial conducted by Dr. Dizman et al. reported that the combination of CBM588 significantly increased the response rate of ICI treatment for metastatic renal cell carcinoma³.

In our presentation, we would like to outline the evidence for combinational effects of beneficial bacteria, especially CBM588, and introduce the future prospects of LBP for cancer immunotherapy.

References

1. TOMITA, Y., IKEDA, T., SAKATA, S., SARUWATARI, K., SATO, R., IYAMA, S., JODAI, T., AKAIKE, K., IZHIZUKA, S., SAEKI, S. & SAKAGAMI, T.: Association of Probiotic *Clostridium butyricum* Therapy with Survival and Response to Immune Checkpoint Blockade in Patients with Lung Cancer. *Cancer Immunol. Res.*, **8**(10):1236-1242, doi: 10.1158/2326-6066., 2020.
2. TOMITA, Y., GOTO, Y., SAKATA, S., IMAMURA, K., MINEMURA, A., OKA, K., HAYASHI, A., JODAI, T., AKAIKE, K., ANAI, M., HAMADA, S., IYAMA, S., SARUWATARI, K., SAEKI, S., TAKAHASHI, M., IKETA, T. & SAKAGAMI, T.: *Clostridium butyricum* therapy restores the decreased efficacy of immune checkpoint blockade in lung cancer patients receiving proton pump inhibitors. *Oncoimmunology*, **11**(1):2081010, doi: 10.1080/2162402X.2022.2081010., 2022.
3. DIZMAN, N., MEZA, L., BERGEROT, P., ALCANTARA, M., DORFF, T., LYOU, Y., FRANKEL P., CUI, Y., MIRA, V., LLAMAS, M., HSU, J., ZENGIN, Z., SALGIA, N., SALGIA, S., MALHOTRA, J., CHAWLA, N., CHEHRAZI-RAFFLE, A., MUDDASANI, R., GILLECE, J., REINING L., TRENT, J., TAKAHASHI, M., OKA, K., HIGASHI, S., KORTYLEWSKI, M., HIGHLANDER S.K. & PAL, S.K.: Nivolumab plus ipilimumab with or without live bacterial supplementation in metastatic renal cell carcinoma: a randomized phase 1 trial. *Nat. Med.*, **28**(4):704-712, doi: 10.1038/s41591-022-01694-6., 2022.

発がん過程を制御する腸内共生細菌と 宿主の生物界間シグナル

津川 仁

(東海大学医学部 生体防御学領域)

消化管内に共生する細菌は胃を含む消化管内全体にコロニーを形成し、その数はヒト細胞数をはるかに上回る。これらの共生細菌はヒトの臓器機能に不可欠な要素であり、生体の恒常性は自身の細胞と腸内細菌の協調により1つのシステム「超個体」として維持されている。それ故、腸内細菌は疾患の発症にも関与する。The Cancer Genome Atlas (TCGA) のデータベースは消化器がんでは腫瘍組織内に細菌由来の DNA が検出されることを示し、加えて、大腸がんや胃がんではがん患者と非がん患者で共生細菌叢に差異が見られることも分かっている。これらの知見から、消化器がんの発生・進展過程に特異的な消化管内共生細菌が関与することは間違いないとされる。しかし、どの様な細菌がどの様にがんの発生・進展過程を制御するのか明らかではない。本演題では、我々の研究室で行っている胃発がんに関与する胃内共生細菌の特定に向けた戦略と大腸発がんへの関与が疑われる消化管内共生細菌を紹介し、これら細菌による発がん制御シグナルについて議論する。

Transkingdom interactions between gut-commensal bacteria and host cell in regulating oncogenic process

HITOSHI TSUGAWA

Transkingdom Signaling Research Unit, Division of Host Defense Mechanism, TOKAI University School of Medicine, Isehara

The number of gut commensal bacteria are much more than that of human cells. These commensal bacteria play a pivotal role for maintenance of human homeostasis. Therefore, gut commensal bacteria are also known to be strongly involved in the development of several human disease. The Cancer Genome Atlas (TCGA) database indicates that bacterial DNA is detected in tumor tissue in gastrointestinal cancers. In addition, there are also reported to be differences in the composition of gut microbiota between colorectal- and gastric-cancer patients and non-cancer patients. These findings indicate that gut commensal bacteria are related to development of gastrointestinal cancer. However, it is uncertain what kind of bacteria regulates the development and process of gastrointestinal cancer. This presentation will focus oncogenic signaling of gastric cancer and colorectal cancer regulated by gut commensal bacteria.

腸がキレイになると、治療もうまくいく？ ～腸内細菌叢とがん治療，そして造血細胞移植～

福島 健太郎

(大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学)

私たちの腸内には約40兆個もの最近が生息し、腸の動きをコントロールし消化・吸収を促進したり、免疫機能を促進したりしている。すなわち、我々ヒトは多数の生きた細菌と共存し、「もちつもたれつ」の関係を築いているといえる。

17世紀に微生物の父と呼ばれるレーウェンフックが顕微鏡を用いて便中から微生物を発見して以来400年が経過し、現在では培養を介することなく直接抽出したDNAに対して網羅的な配列決定が可能になった。すなわち、次世代シーケンシング、とりわけ16S rRNA遺伝子解析により飛躍的に活発化してきた。その中で、腸内細菌叢の乱れは各種疾患の発症や進展に影響を及ぼしている報告があいついでいる。血液悪性疾患の治療においても、合併症や治療と腸内細菌叢の関連性が報告されてきた。

血液悪性疾患においては、同種造血幹細胞移植が唯一の根治的治療法であり、近年その適応症例はHLA不一致移植や、移植後シクロホスファミド投与方法等の開発によってその適応は拡大傾向にある。また、これらの移植前処置の進歩や、感染症予防や治療など支持療法の発展に伴い予後の向上は著しい。しかし、細菌・真菌・ウイルス感染症や急性GVHDなどの移植後早期合併症と同様、慢性GVHD、二次発癌、性腺機能の低下等の生命を脅かす移植関連合併症が10%以上にみとめられ、移植成績の向上を妨げる原因となっている。またこれらの治療は高度の免疫抑制状態をきたすため、

支持療法が依然として重要である。その際に用いられる広域抗生物質による腸内殺菌は汎用されているものの、腸内環境に焦点を当て、全菌叢抑制状態を改善することにより予後の改善を目指した研究はいまだ発展途上である。近年、腸内細菌叢の異常と移植合併症との関連性が複数の研究で報告され、その改善を目指し治療介入が複数検討されている。例えば糞便移植（腸内細菌叢移植）はクロストリジオイデス・ディフィシル感染症の治療に使用されるが、GVHDの治療について複数の報告がある。その一方で糞便移植由来の敗血症も報告されており、安全性が十分に担保されているとはいえず、改善の余地がある。プロバイオティクスやその他の特定の細菌群を加える方法も試みられており、今後の発展が期待される分野であることは間違いないものと考えられる。

われわれは造血幹細胞移植患者の便を16S rRNA解析により評価し、移植後腸内細菌叢の安定性が生存と関連していること（Kusakabe, 2019）、移植後1か月目の腸内細菌叢に占める腸球菌の割合が移植後生存と関連することを報告した（Kusakabe, 2020）。さらに、共同研究グループは移植後1か月目の腸内細菌叢と慢性GVHD発症の関連に関して報告した（Konishi, 2021）。本シンポジウムでは我々の研究結果を踏まえ、がん治療における腸内細菌叢研究とその臨床応用について解説したい。

Good intestines make the treatment more successful ~Gut microbiota , cancer treatment, and hematopoietic cell transplantation~

KENTARO FUKUSHIMA

Department of Hematology and Oncology, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita

Four hundred years have passed since Leeuwenhoek, the father of microorganisms used his microscope to detect microorganisms in stool in the 17th century. Currently, there are as many as 40 trillion bacteria in the intestine; they are known to regulate intestinal motility, promote digestion and absorption, and promote immune function. It has also been reported that abnormalities in intestinal flora affect the onset and progression of various diseases. They allow comprehensive sequencing of DNA extracted directly without culture; research by next-generation sequencing (NGS), primarily 16S rRNA gene analysis, has been instrumental.

Also, intestinal flora has been associated with the disease and treatment of leukemia and other hematologic malignancies. Allogeneic stem cell transplantation is the only curative treatment for hematologic malignancies; its indications are being expanded by the development of HLA-mismatched transplantation and post-transplantation cyclophosphamide regimens. Advances in transplantation preparation and supportive care, including prevention and treatment of infection, have also significantly improved prognosis. However, at least 10% of patients who undergo allogeneic stem cell transplantation develop life-threatening transplant-related complications such as chronic GVHD, secondary cancers, and hypogonadism, as well as early complications such as bacterial, fungal, and viral infections and acute GVHD.

Supportive care remains important because these complications prevent improvement in transplantation outcomes and because these treatments also cause severe immunosuppression. Although broad-spectrum antibiotics are widely used in these treatments, studies are still evolving to improve prognosis by focusing on the intestinal environment.

However, many reports suggest that alterations in gut microbiota (i.e., modifications in diversity or structure) have a poor prognosis, but their role is not fully understood. Recent studies have reported an association between the abnormal gut microbiome and transplant complications, and therapeutic interventions to reverse it are being evaluated. For example, fecal transplantation (transplantation of intestinal flora) has been established to treat *C. difficile* infection, and there are also now multiple reports of treatment of GVHD. On the other hand, since sepsis due to fecal transplantation has been reported, sufficient safety cannot be ensured at present, and improvement of procedure is necessary. In addition, additional probiotics and certain other bacterial cocktails are being tried, which is a promising area for future development.

This symposium will review these findings and consider the study of the gut microbiome in cancer therapy and its clinical applications.

原稿執筆要綱

1. 一般演題の演者と共同発表者は本学会員とします。未入会の方は本学会事務所へ入会申込をしてください。無菌生物学・ノートバイオロジーに関する新しい知見を有する研究で、未発表のものに限ります。本誌への掲載の可否は編集委員会の審査を経て決定します。編集委員会は加除修正を行うことがあります。掲載論文等の著作権は、本学会に帰属し、当該論文の全部または一部を本学会が認めたネットワーク媒体、その他の媒体において、任意の言語で、掲載、出版（電子出版を含む）できるものとします。
2. 原著・総説については英文 Guideline for Authors B をご参照ください。

注1 電子データを下記アドレス宛にお送りください。

日本無菌生物ノートバイオロジー学会事務所

jagg@ciea.or.jp

注2 略語 (abbreviation) は初出のところに「略さない語」 full term をお示しください。

例)

1. 演題 気管支喘息への肺炎マイコプラズマ感染の影響
2. 発表者 蔵田 訓 田口晴彦* 大崎敬子 花輪智子 米澤英雄 神谷 茂
3. 所属 (杏林大学医学部感染症学講座, *同保健学部免疫学)
4. 和文要旨 (400字)
肺炎マイコプラズマ感染は気管支喘息の増悪因子の……
5. キーワード (5項目)
気管支喘息, 肺炎マイコプラズマ, 無菌マウス, 動物モデル, ……
6. 和文抄録 (2000字)
 - I. 目的 (はじめに, 背景, ……)
Mycoplasma pneumoniae (*M. pneumoniae*) は学童から青年……
 - II. 材料 (対象)
実験動物として BALB/c マウス (雄, 5週齢) と IQI 系……
 - III. 方法
感作初日に *M. pneumoniae* M129株を超音波により……
 - IV. 結果
BALB/c マウスの血清中 OVA 特異的 IgE 濃度は……
 - V. 考察
M. pneumoniae 菌体抗原による感作は……
 - VI. 結論
M. pneumoniae ノートバイオオート肺炎モデルの肺内サイトカインの検討より……
 - VII. 謝辞
7. 表, 図・写真 (5点以内) Table 1. Figure 1. ……とし, 本文中に入る場所を示してください。タイトル, 説明および表・図中の文字は英語にしてください。図・写真は, 中の文字をふくめ, そのままオフセット印刷できる原図にしてください。カラー印刷も可。
8. 英文演題 The effect of *Mycoplasma pneumoniae* infection on asthma model in mice
9. 英文発表者 (フルネーム, 大文字) SATOSHI KURATA, HARUHIKO TAGUCHI*, TAKAKO OSAKI, TOMOKO HANAWA, HIDEO YONEZAWA and SHIGERU KAMIYA
10. 英文所属 Department of Infectious Diseases, Kyorin University School of Medicine, Mitaka
*Department of Immunology, Faculty of Health Sciences, Kyorin University, Hachioji
11. 英文抄録 (250 words)
Mycoplasma pneumoniae infection is known as one of the factors deteriorating asthma.……
12. 英文キーワード (5項目)
Keywords: asthma, *Mycoplasma pneumoniae*, germfree mouse, animal model...

13. 引用文献 *References* は引用順に番号をつけ、本文の引用場所に右肩付けとする。著者（全著者名、大文字）、表題、雑誌・図書の名称（イタリック）、巻数（太字）、頁数（最初と最後）、年の順に記載する。
1. TAGUCHI, H., TAKAHASHI, M., YAMAGUCHI, H., OSAKI, T., KOMATSU, A., FUJIOKA, Y. & KAMIYA, S.: Experimental infection of germfree mice with hyper-toxigenic enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7, strain 6. *J. Med. Microbiol.*, **51**, 336-343, 2002.
 2. LINDAHL, G., HEDEN, L-O. & STENBERG, L. : Streptococcal IgA receptors. In: *Molecular recognition in host-parasite interactions*, Edited by KORHONEN, T. K., MAKELA, P. H. & HOVI, T. New York, Plenum Press, pp.77-83, 1992.
 3. SAKAGAMI, T., FUKUDA, Y., TAMURA, K., TANIDA, N. & SHIMOYAMA, T.: Does *Helicobacter pylori* promote gastric carcinogenesis? *J. germfree life gnotobiol.*, **31**, 25-26, 2001. (in Japanese)
14. 連絡先 〒181-8611 東京都三鷹市…… 蔵田 訓
15. TEL (0422) 47-…… 内線……
16. FAX (0422) 44-……
17. E-mail kurata@……

3. 倫理指針：ヒトを対象とした研究は「ヘルシンキ宣言」（World Medical Assembly, 1964年, 2013年追加）、人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針に従って行われ、動物を用いた研究は「実験動物の飼養および保管ならびに苦痛の軽減に関する基準」（平成18年環境省告示第88号）に従って行われ、倫理委員会等で承認されたものでなければならない。

Guideline for Authors

A. Annual meeting proceedings

I. Proceeding manuscripts (oral presentations)

1. Authors and all co-authors must be members of the Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology (JAGG). Papers submitted for review must convey new unpublished findings from studies in germfree research or gnotobiology. Manuscripts are accepted for publication following review by the Editorial and Publications Committee. Please prepare manuscripts according to the instructions below, with reference to the printing sample available through our website.
2. Manuscripts are accepted in both English and Japanese. However, in the case of Japanese papers, the information carried in the title page, abstract, and key words must also be duplicated in English. All titles and legends to tables, figures, and photos, as well as the reference list must be prepared in English regardless of whether the papers are prepared in English or Japanese.
The title page of the manuscript should carry manuscript title, name of authors and affiliations, postal address, zip code, phone, fax, and e-mail address of the corresponding author.
Begin the manuscript on page two, starting with abstract (within 250 words), five key words, and text (2000 words), in the order of: I) Objective (or Introduction), II) Materials (or Subjects), III) Methods, IV) Results, V) Discussion, VI) Conclusion, VII) Acknowledgments (if any), References, and a maximum of 5 figures, tables, or photos in total.
3. An electronic copy in MS-Word format, tables and figures may be incorporated into the Word file, submitted as separate Excel or PowerPoint files, or as jpg, pct, eps, or tif images adjusted to actual printing size. Tables and figures should each be numbered consecutively in Arabic numerals (Table 1, Figure 1), with a title for tables and descriptive legends for figures. The location of tables and figures in the text should be indicated in the margin of the typescript. Each table and figure should be printed on a separate sheet of paper. The manuscripts in the journal are generally printed in black and white. However, if the authors prefer color printing of figure (s) in the manuscript, additional page charge will be added.
4. Abbreviations must be preceded by the full term at first mention. Use standard units of measure such as: m, cm, mm, μm , nm, l, ml, μl , kg, g, mg, μg , ng, pg.
5. References should be cited in the text using superscript Arabic numbers, in order of appearance. In the reference list, the references should be numbered, followed by authors (all authors in full, all capitals), title, journal name (italicized, abbreviated according to Index Medicus), volume (boldface), page numbers (first and last), and year of publication.

Example:

1. TAGUCHI, H., TAKAHASHI, M., YAMAGUCHI, H., OSAKI, T., KOMATSU, A., FUJIOKA, Y. & KAMIYA, S.: Experimental infection of germfree mice with hyper-toxigenic enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7, strain 6. *J. Med. Microbiol.*, , 336-343, 2002.
 2. LINDAHL, G., HEDEN, L-O. & STENBERG, L. : Streptococcal IgA receptors. In: *Molecular recognition in host-parasite interactions*, Edited by KORHONEN, T. K., MAKELA, P. H. & HOVI, T. New York, Plenum Press, pp.77-83, 1992.
 3. SAKAGAMI, T., FUKUDA, Y., TAMURA, K., TANIDA, N. & SHIMOYAMA, T.: Does *Helicobacter pylori* promote gastric carcinogenesis? *J. germfree life gnotobiol.*, , 25-26, 2001. (in Japanese)
6. Manuscripts should be sent by E-mail to jagg@ciea.or.jp.
 7. Copyright of manuscripts accepted for publication will become the property of the Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology (JAGG).
 8. The JAGG retains the right to publish accepted manuscripts in part or full in any network or other media recognized by the Association, in any language (including electronic publishing).

B. Original articles and reviews

I. Original articles

1. Submission of manuscripts to this journal is limited to members of the Japanese Association of Germfree Life and Gnotobiology (JAGG) or the International Association for Gnotobiology (IAG), based on material presented at the annual meeting of the JAGG or International Symposium for Gnotobiology.
2. Papers submitted as original articles must convey unpublished findings and conclusions of note from innovative studies capable of contributing to the development of germfree research or gnotobiology.
3. Acceptance of manuscripts for publication will be judged by the Editorial and Publications Committee and referees.
4. Original articles must be prepared in English throughout, in accordance with the instructions for proceeding manuscripts above, with the exception that there is no limitation in word count or number of tables, figures and photos.

II. Reviews

1. Reviews are accepted in either English or Japanese as invited papers as a rule, to be prepared in accordance with instructions for oral presentation manuscripts.

C. Ethical guidelines

Study protocol must have obtained approval by an appropriate institutional Ethics Committee. Studies on human subject must also conform to the provisions of the Declaration of Helsinki (as revised in Brazil 2013, Ethical Guidelines for Clinical Research 2015 Ministry of Health, Labour and Welfare Public Notice 415), and the Ethical Guidelines for Epidemiological Research. Animal studies must conform to the Standards for the Rearing, Housing, and Alleviation of Pain of Experimental Animals (2006 Ministry of the Environment Public Notice 88). Compliance with these guidelines must be stated within the text of original articles.

CONTENTS

REPORT ON THE FIFTY-SIXTH ANNUAL MEETING OF THE JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

<i>Makoto Onizuka</i>	2
-----------------------------	---

PROGRAMS OF THE FIFTY-SIXTH ANNUAL MEETING OF THE JAPANESE ASSOCIATION OF GERMFREE LIFE AND GNOTOBIOLOGY

Importance and Potential of the Intestinal Environment in the Control of Host Immunity <i>Jun Kunisawa</i>	7
Gut microbiota and obesity-associated liver cancer by hepatic translocation of gut microbial factors via leaky gut <i>Naoko Ohtani</i>	9
Development and future prospects of hematopoietic stem cell transplantation that began with clinical application of gnotobiology <i>Shunichi Kato</i>	11
Evidence and Future Prospects for Combination Treatment with Beneficial Bacteria including CBM588 in Cancer Immunotherapy <i>Kentaro Oka and Motomichi Takahashi</i>	12
Transkingdom interactions between gut-commensal bacteria and host cell in regulating oncogenic process <i>Hitoshi Tsugawa</i>	14
Good intestines make the treatment more successful~Gut microbiota , cancer treatment, and hematopoietic cell transplantation~ <i>Kentaro Fukushima</i>	16