

NewsLetter Vol.26 No.3

奨励賞受賞 | 第62回日本消化器免疫学会総会 (2025年7月31日・8月1日 SHIROYAMA HOTEL Kagoshima (城山ホテル鹿児島))

グルテン不耐症の臨床的特徴と抗グリアジンIgG抗体の有用性に関する検討

本山 美久仁 山田 恒 松永 寿人

兵庫医科大学 精神科神経科学講座 / グルテン専門外来

背景：本研究では、グルテン関連疾患のひとつであるグルテン不耐症（非セリアックグルテン感受性とも呼ばれる）の臨床的特徴と抗グリアジンIgG抗体（Anti-gliadin antibody, IgG class；AGA IgG）の有用性について検討した。グルテンとは、小麦粉に水を加えてこねることで形成されるグリアジンとグルテニンからなるタンパク質であり、その弾力や粘着力は小麦加工品を作る上で重要な役割を果たしている。グルテン不耐症は、グルテン摂取による腹痛、下痢、頭痛、倦怠感、易疲労感などの身体症状、不安、抑うつ、不眠などの精神症状を特徴とし、小麦食品の除去によってこれらの症状は改善する。セリアック病などの自己免疫疾患や小麦アレルギーとは機序が異なると考えられているが、診断基準は未だ確立されておらず、実態も解明されていない。IgGが関与し、グルテン関連抗体であるAGA IgGがバイオマーカーといわれているが、有用性はこれまで検証されていない。さらに、症状が多岐にわたり、個人差も大きいことから、疾患としての位置づけについても統一した見解が得られていないのが現状である。兵庫医科大学病院精神科ではグルテン専門外来を開設しており、症状の内容にかかわらず、グルテン不耐症の診療と研究を行ってきた。今回、グルテン専門外来受診患者のAGA IgGを測定するとともに、臨床的特徴を調べた。

方法：2020年から2024年に兵庫医科大学病院グルテン専門外来を受診したグルテン不耐症患者45名と、年齢と性別を合わせた健常対照者83名を対象とした。血液中のAGA IgGをELISA法で測定し、さらに身体症状、不安症状、抑うつ症状などを尺度を用いて評価した。セリアック病に特異的な抗組織トランスグルタミナーゼIgA抗体を測定し、陽性の者は除外した。また、長期間の厳格なグルテンフリーを行っている者、重度の肝機能障害など抗体産生に影響がある者、小麦アレルギー患者も除外した。

結果：グルテン不耐症群の33.3%がAGA IgG陽性であり、健常群の13.3%と比べて、陽性率が有意に高かった ($p=7.0 \times 10^{-3}$) (表

1)。グルテン不耐症のマーカーとしてのAGA IgGの感度は33.3%、特異度は86.7%であった。グルテン不耐症群の75.6%、健常群の38.6%が小麦以外のアレルギーを有しており、グルテン不耐症群では何らかのアレルギーを有している割合が高かった。また、グルテン不耐症群では健常群に比べて、身体症状、不安症状、抑うつ症状の発現率がいずれも有意に高かった。一方で回帰分析では、AGA IgG陽性に関連性が高いグルテン不耐症の特異的な身体症状は明らかにならなかった。

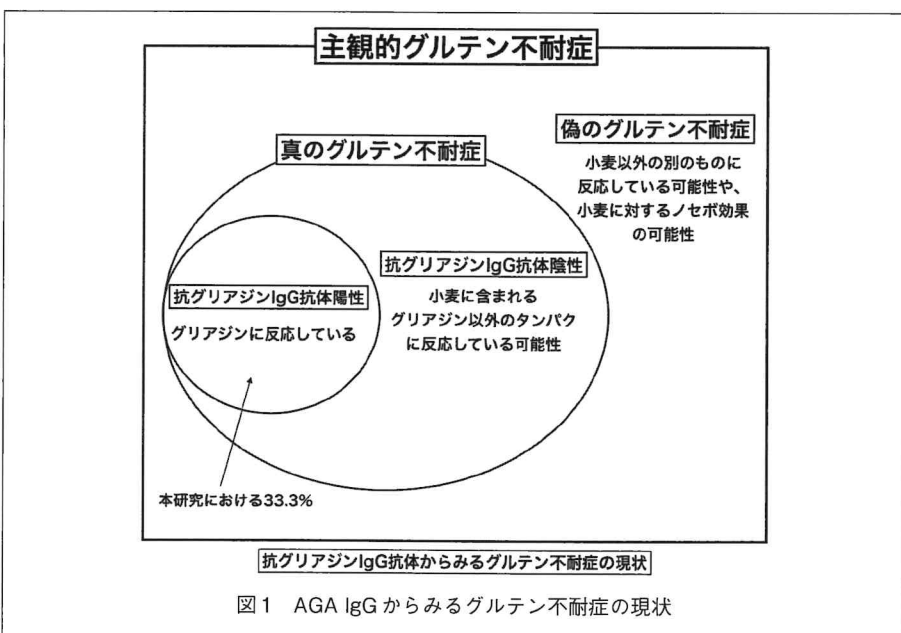
考察：グルテン不耐症の特異的な身体症状とAGA IgG陽性との関連は明らかにはならなかったが、グルテン不耐症は身体的・精神的健康に大きな影響を及ぼしており、多様な病態が存在する可能性が示唆された。

我々は過去の研究で、グルテン制限によりAGA IgG抗体価が低下することを報告しており、本研究では厳格なグルテンフリーを実践している者は除外したが、それでも健常群に比べてグルテンの摂取量が少なく、抗体価が低く出ている者が含まれている可能性がある。

今回の研究結果では、グルテン不耐症に対するAGA IgGの感度は33.3%であり、グルテン不耐症のバイオマーカーとしてAGA IgGのみを用いても診断には十分ではないと考えられる。我々は、AGA IgGの観点からみたグルテン不耐症の現状を図1のように考えている。小麦摂取により何らかの症状の出現や増悪を自覚し、グルテン専門外来を受診する患者は図1における「主観的グルテン不耐症」に相当する。本研究においてAGA IgG陽性を示した33.3%

表 1

	グルテン不耐症群 (45名)	健常対照群 (83名)
AGA IgG陽性	15名 (33.3%)	11名 (13.3%)
AGA IgG陰性	30名 (66.7%)	72名 (86.7%)



の患者は、グルテン不耐症の中でもグリアジンに反応している群に限られる。小麦にはグリアジン以外にグルテニンやアミラーゼ・トリプシン阻害物質などのタンパク質が含まれており、AGA IgG陰性のグルテン不耐症患者の一部は、これらの成分に反応している可能性がある（図1：真のグルテン不耐症における抗グリアジンIgG抗体陰性）。さらに、小麦摂取により症状の出現や増悪を自覚している場合でも、実際には小麦食品とともに摂取された他の食品由来タンパク質などに反応している可能性も否定できない（図1：偽のグルテン不耐症）。

したがって、AGA IgGはグルテン不耐症の一部の患者において有用であるが、真のグルテン不耐症を判別するためには、AGA IgGだけでなく、他のタンパク質へ

の抗体をマーカーとして組み入れるなど、AGA IgGを含む複数の免疫学的マーカーを組み合わせることが望ましいと考えられる。

このたびは、第62回日本消化器免疫学会において奨励賞をいただき、大変光栄に存じます。日々の研究の積み重ねがこのように形で評価いただけたことに、喜びと同時に大きな励みを感じております。グルテン不耐症は依然として未解明な部分が多く、診断や治療には多くの課題が残されています。今回の受賞を新たな原動力として、グルテン不耐症の病態解明に挑み、臨床に還元できる成果を目指して研究をさらに続けてまいります。最後に、日頃よりご指導いただいております先生方に心から感謝申し上げます。今後も本学会での発表を続けてまいりたいと思っておりますので、ご指導のほどよろしくお願い申し上げます。（本山美久仁）



奨励賞受賞 | 第62回日本消化器免疫学会総会（2025年7月31日・8月1日 SHIROYAMA HOTEL Kagoshima（城山ホテル鹿児島））

腸管上皮細胞のケトン体合成酵素HMGCS2の腸管炎症に対する機能解析

横田 佳大¹ 水野 凌¹ 今井 隆行¹ 大野 将司¹ 久米 真司² 西田 淳史¹

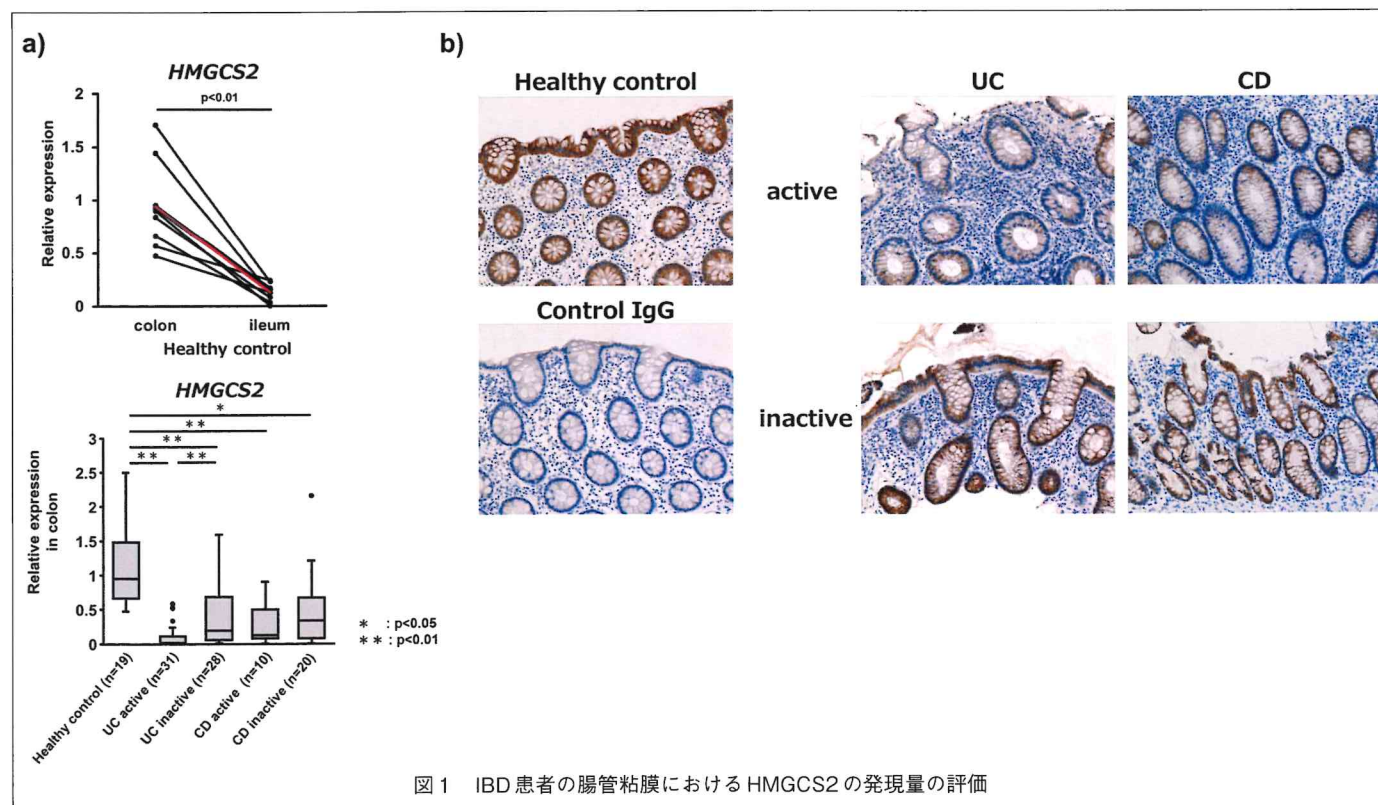
¹滋賀医科大学 消化器内科, ²滋賀医科大学 糖尿病内分泌・腎臓内科

背景・目的：3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 2 (HMGCS2) は、ケトン体合成経路の律速酵素である。ケトン体は主に肝臓で合成され、飢餓時を中心に他臓器でエネルギー源として利用されるが、近年、大腸や腎臓などの肝臓以外の臓器でもHMGCS2の発現が確認され、局所的にケトン体が合成されることが明らかとなっている。シングルセルRNA シークエンス解析により、HMGCS2は潰瘍性大腸炎活動期の大腸上皮細胞で発現低下を認める遺伝子であることも報告されており、炎症性腸疾患 (IBD) の病態形成に関与する可能性が示唆される。また、ケトン体合成を亢進さ

せるケトン食は腸内細菌叢の構成に影響を与えることが知られており、ケトン体合成能の変化は腸内細菌叢へ影響を与える可能性が考えられる。今回、我々はIBD患者の大腸粘膜におけるHMGCS2発現を評価するとともに、腸管上皮細胞特異的HMGCS2欠損マウス (HMGCS2^{ΔIEC}) を用いて、腸管上皮細胞のHMGCS2欠損が腸内細菌叢および腸炎感受性に及ぼす影響を検討した。

方法・結果：まず、IBD患者および健康者から得られた生検検体をを用い、腸管粘膜におけるHMGCS2の発現を確認した。real-time PCRによるmRNA発現の解析では、健康者の大腸と小腸のHMGCS2の発

現を比較したところ、大腸で著明に高発現を認めた。そこで、IBD患者と健康者の大腸粘膜におけるHMGCS2の発現量を比較検討したところ、IBD患者ではHMGCS2の有意な発現低下を認め、特に活動期IBDでは寛解期IBDよりも顕著な発現低下を示した（図1a）。免疫組織化学染色では、健康者では腸管上皮細胞に局限してHMGCS2が発現していたが、活動期IBD患者では腸管上皮細胞のHMGCS2の発現低下を認めた（図1b）。活動期IBD患者の腸管上皮細胞ではHMGCS2の発現が低下しており、IBDの病態形成に関与する可能性が示唆された。次に、腸管上皮細胞にお



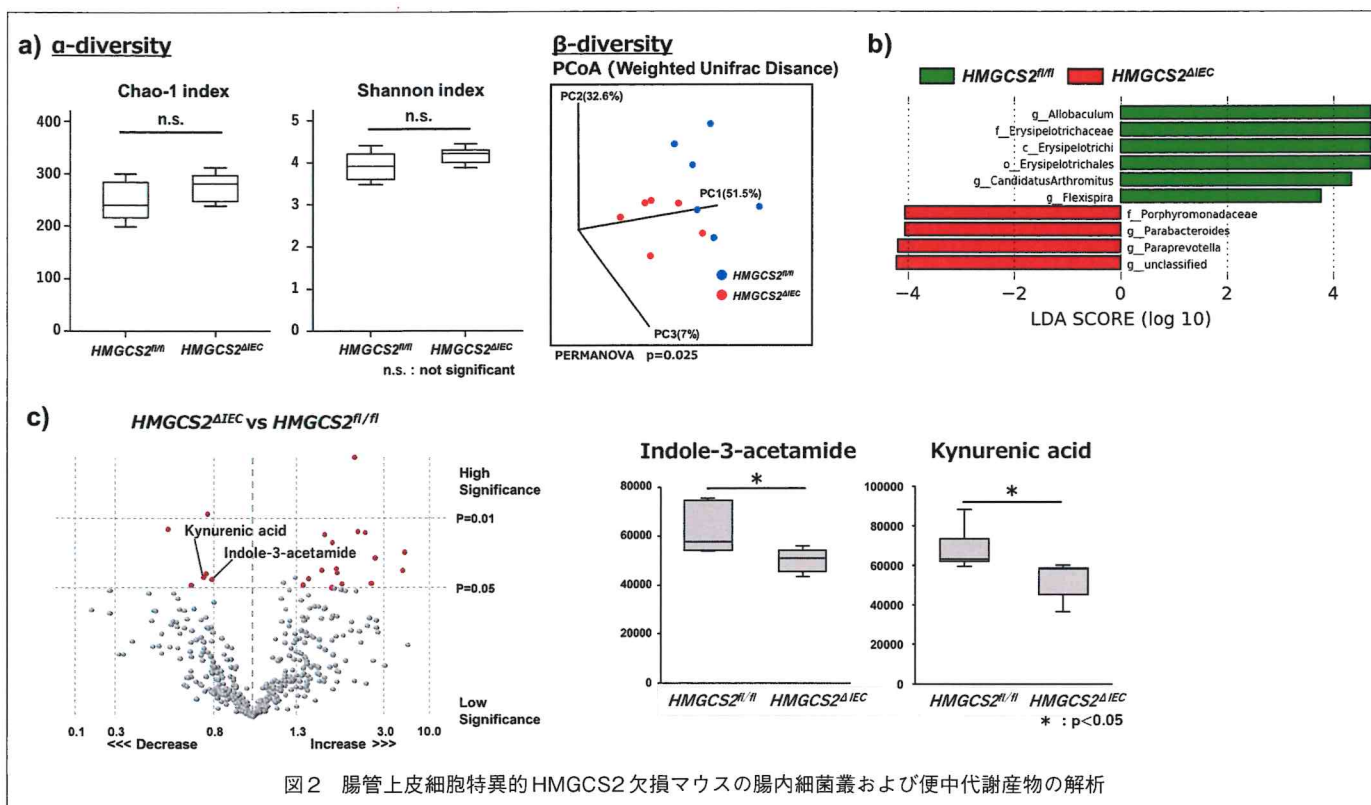


図2 腸管上皮細胞特異的HMGS2欠損マウスの腸内細菌叢および便中代謝産物の解析

けるHMGS2の機能を明らかにするために、HMGS2 floxedマウスとVillin-Creマウスを交配し、HMGS2^{ΔIEC}を作製した。12週齢のHMGS2^{ΔIEC}マウスおよび対照群から便を採取し、16S rRNA シークエンスによる腸内細菌叢解析を実施した。 α 多様性 (Chao-1 index, Shannon index) には有意差を認めなかったが、 β 多様性解析 (Weighted Unifrac Distanceを用いた主座標解析) ではHMGS2^{ΔIEC}群で有意な腸内細菌叢構成の変化を認めた (PERMANOVA p=0.025) (図2a)。門レベルの解析では、HMGS2^{ΔIEC}群で有意にBacteroidetes門の増加とFirmicutes門の減少を認めた (p<0.05)。属レベルでは、HMGS2^{ΔIEC}群でParaprevotella属の増加およびAllobaculum属の減少を認めた (図2b)。Paraprevotella属はコハク酸産生菌であり、Allobaculum属はトリプトファン代謝に関与する菌であることが知られている。そこで、HMGS2欠損による便中代謝産物の変化を評価するため、LC/MSを用いた便中メタボローム解析を行った。その結果、複数の代謝産物に変動を認め

HMGS2^{ΔIEC}群ではトリプトファン代謝物であるIndole-3-acetamideおよびKynurenic acidの有意な減少を認めた (図2c)。これらの結果から、腸管上皮特異的HMGS2欠損が腸内細菌叢の構成を変化させ、便中代謝物にも影響を与えることが示唆された。さらに、腸管上皮特異的HMGS2欠損が腸炎感受性に与える影響を評価するために、HMGS2^{ΔIEC}マウスにデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を用いて腸炎を誘導し、腸炎の重症度を評価した。HMGS2^{ΔIEC}マウスでは対照群と比較して、DSS腸炎による体重減少が著明であり、Disease activity indexおよび組織学的炎症スコア (Histological score) も有意に高値となった。腸管上皮特異的HMGS2欠損により、DSS腸炎は悪化を認めた。

考察・結論： HMGS2は大腸では腸管上皮細胞に強く発現しており、IBD活動期ではその発現が著明に低下していた。腸管上皮特異的HMGS2欠損マウスでは腸内細菌叢の構成が変化し、便中のトリプトファン代謝物の減少を認めた。トリプト

ファン代謝物はaryl hydrocarbon receptor (AhR) のリガンドとして知られており、AhRはILC3やIL-22の亢進、IL-10レセプターの発現誘導、タイトジャンクションの調整などの機能が報告されている。今回の結果から、腸管上皮細胞のHMGS2の発現低下は、トリプトファン代謝菌であるAllobaculum属を減少させ、トリプトファン代謝物の産生低下を介して腸炎増悪に寄与する可能性が考えられる。今後、HMGS2発現低下が腸管炎症を増悪させる詳細な機序について検討が必要である。

この度は第62回日本消化器免疫学会において奨励賞を賜り、誠に光栄に存じます。ご指導をいただきました研究室の先生方に厚く感謝申し上げます。今後ともご指導ご鞭撻のほどよろしくお願い申し上げます。

(横田佳大)

2025年度「若手学術賞」

An enterococcal phage-derived enzyme suppresses graft-versus-host disease

藤本 康介 (大阪大学微生物病研究所 微生物制御学分野)

移植片対宿主病 (GVHD: graft-versus-host disease) は、同種造血幹細胞移植 (allo-HSCT) 後に、移植片中のドナー由来リンパ球が宿主の正常細胞を異物と認識

して攻撃することで生じる重篤な合併症であり、発症時期により移植後100日以内の急性GVHDと100日以降の慢性GVHDに分類される。移植前処置として抗がん剤や

全身放射線照射が行われるため、感染予防目的で広域抗菌薬の投与が必要となるが、その結果、腸内細菌叢の乱れ (dysbiosis) が生じる。近年、次世代シーケンサーに



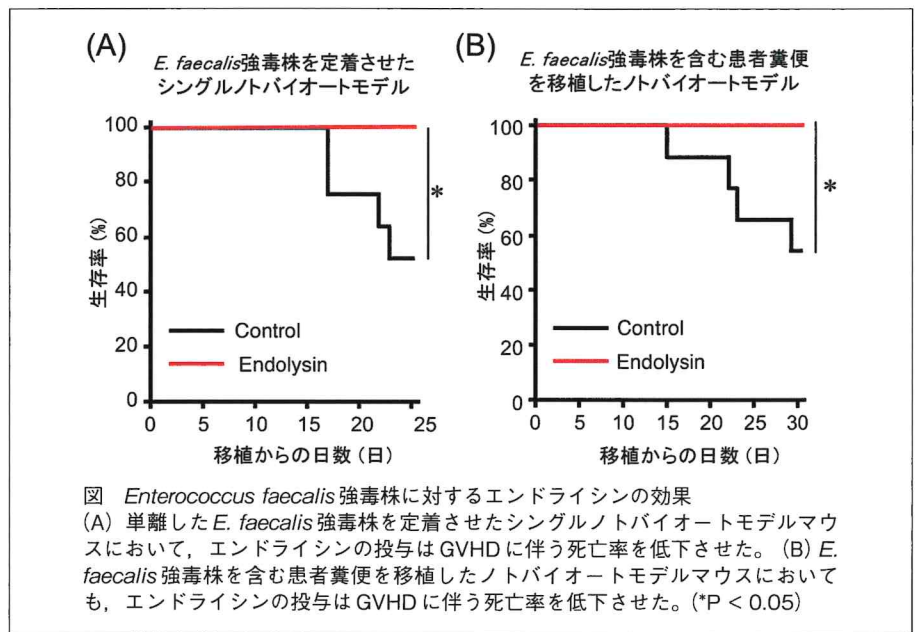
よる解析技術の進展により、さまざまな疾患で dysbiosis の関与が報告され、腸内環境の制御が疾患の予防や改善に寄与することが示唆されている。1970年代から allo-HSCT 患者の腸内細菌叢と GVHD との関係が注目されており、プロバイオティクスや糞便微生物移植などが試みられてきたが、いずれも効果は限定的で有用な治療法には至っていない。2019年、Stein-Thoeringerらは *Enterococcus* 属の増加が GVHD 関連死亡率を上昇させることを報告し、とくに *E. faecalis* が GVHD の増悪因子として注目された。

本研究では、大阪公立大学医学部附属病院に入院した46名の allo-HSCT 患者の腸内マイクロバイオームを経時的に解析した。その結果、30例で *Enterococcus* 属の増加が認められ、特に急性白血病患者で顕著であった。単離株の多くがサイトライシン陽性 *E. faecalis* であり、GVHD 発症と有意に関連していた。薬剤感受性試験では耐性化は認められず、メタゲノム解析ではバイオフィーム形成関連遺伝子の存在が確認された。これにより、*E. faecalis* が腸管内でバイオフィームを形成し、抗菌薬から逃れて増殖していることが示唆された。

E. faecalis はヒト腸内常在菌の一種で、通常は病原性を示さないが、免疫低下時には感染症の原因となる。筆者らはサイトライシン陽性 *E. faecalis* を定着させたノトバイオートマウスを用いて GVHD を誘導したところ、サイトライシン陰性株や *E. faecium* に比べ生存率が有意に低下した。これにより、毒性 *E. faecalis* が GVHD を悪化させることが実験的に確認された。抗菌薬は他の腸内細菌も除去してしまうため、*E. faecalis* を選択的に排除する治療法の開発が求められる。

腸内ファージは培養困難な細菌を宿主とするため、従来の単離培養による解析は難しかった。しかし、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析により、培養を経ずにゲノム情報からファージを同定する手法が確立されつつある。私たちの研究グループは、ショットガンシーケンシングにより得られたウイルスゲノムをアセンブリし、ORF 解析を活用してファージを分類した。その結果、従来1%未満しか分類できなかった腸内ファージの約90%を同定することに成功した。さらに、細菌とファージの宿主寄生関係を同定するため、① プロファージ領域の同定による溶原性ファージ解析、② CRISPR 配列とファージゲノムの相同性解析による溶菌性ファージ解析の二手法を確立した。これにより、細菌とファージを培養せずに宿主感染関係を効率的に特定できるようになった。

前述した解析手法を用いて、ファージが宿主細菌から放出される際に利用する溶菌酵素（エンドライシン）を用いた新しい



ファージ療法の開発に取り組んだ。エンドライシンは酵素活性を持ったファージタンパク質で、細菌のペプチドグリカンの糖鎖結合を加水分解する。エンドライシンは酵素活性ドメインと細胞壁結合ドメインで構成され、主に3つの構造が知られている。エンドライシンはファージが感染後に増幅して粒子を作り、細菌から出芽するときに用いる酵素である。グラム陽性菌の場合は、細胞膜の外側がペプチドグリカン層なので、エンドライシンの外側からの投与で十分溶菌効果が期待できると考えられている。細胞壁結合ドメインを有していることで、エンドライシンの菌特異性が非常に高まる。*E. faecalis* のメタゲノムデータから、*E. faecalis* を宿主とするプロファージをゲノム解析技術を用いて探索した。プロファージ配列からファージ由来の溶菌酵素（エンドライシン）配列を同定し、精製した。このエンドライシンは *E. faecalis* を溶菌するものの、*E. faecium* や大腸菌などの他の腸内細菌には溶菌活性を持たなかったことから、*E. faecalis* に特異性の高い溶菌酵素だと考えられた。さらに、*E. faecalis* のバイオフィームに対する効果を検討したところ、in vitro だけでなく、in vivo でもバイオフィームを溶解できることを明らかにした。

次に、GVHD に対する効果について、サイトライシン陽性 *E. faecalis* を定着させたノトバイオートマウスを作成して検討し

た。ノトバイオートマウスに GVHD を誘導したところ、サイトライシン陰性 *E. faecalis* や *E. faecium* を定着させたノトバイオートマウスと比較して、サイトライシン陽性 *E. faecalis* を定着させたノトバイオートマウスでは有意に生存率が悪化することが明らかとなった。また、エンドライシンを投与すると、生存率が回復した (図A)。さらに、サイトライシン陽性 *E. faecalis* を含む患者糞便を無菌マウスに移植し GVHD を誘導したところ、エンドライシンの投与とともに腸管内のサイトライシン陽性 *E. faecalis* が減少し、エンドライシンを投与した群では有意に生存率が伸びることが明らかとなった (図B)。エンドライシンの投与によって、糞便中のサイトライシン陽性 *E. faecalis* が減少するだけでなく、糞便のメタゲノム解析では、エンドライシンの投与によって著しい腸内細菌の構成異常は認めないことも明らかとなった。これらの結果から、*E. faecalis* の制御が GVHD の病態改善に寄与する可能性が強く示唆された。

多剤耐性菌の増加を背景に、ファージ療法は今後重要な感染制御手段となりうる。日本では臨床応用の基盤整備が遅れているが、海外との連携を強化し、研究体制と人材育成を進めることが急務である。*E. faecalis* 特異的ファージ療法は、GVHD に対する新しい治療戦略として期待される。

この度は若手学術賞を受賞することができ、大変嬉しく思うとともに、ご推薦いただきました細見周平先生ならびに選考委員の先生方に感謝申し上げます。ファージ療法は国内では未承認の治療法ですが、標的菌特異的であることから今後の実用化が強く期待されています。最新のメタゲノム解析技術とノトバイオート動物モデルを組み合わせることで、共生病原細菌の機能解明と、微生物叢を標的とした新たな疾患制御戦略の構築を目指します。(藤本康介)