

Title	バクテリオファージを用いた肝臓免疫難病に対する新規治療法の開発
Sub Title	Development of a novel therapy for primary sclerosing cholangitis using bacteriophages.
Author	中本, 伸宏(Nakamoto, Nobuhiro)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2024
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	原発性硬化性胆管炎(Primary sclerosing cholangitis: PSC)は大胆管周囲の炎症浸潤、胆管狭窄による胆汁鬱滞をきたし肝硬変や肝不全に至る疾患であり、肝移植以外に根本的な治療法が存在しない。高率に炎症性腸疾患(Inflammatory bowel disease: IBD)を合併することから、要因の一つとして腸内細菌の関与が注目されている。私達はIBDを合併したPSC患者便を無菌マウスに移植したヒトフローラ化マウスを用いた検討を行い、マウスの腸間膜リンパ節からKlebsiella pneumoniae (Kp)、Enterococcus gallinarum (Eg), Proteus mirabilisの3菌を分離同定した。これらの3菌はPSC患者の便中に高率に検出されること、特にKpは大腸上皮傷害能を有しbacterial translocationを介した肝臓Th17免疫応答に寄与することを報告した。本研究において、当院通院中のPSC患者45名の腸内細菌を解析したところ、KpとEgの両菌を保菌する患者は保菌しない患者と比較して血清ALPが有意に高く、さらに診断時を起点としたtransplant-free survivalが劣っており、本菌が予後予測バイオマーカー、および治療標的として有用性である可能性が示された。国際共同研究のもと、自然環境に存在するKpを標的とするファージを複数組み合わせることにより、in vitro環境下で長期間PSC患者由来Kpの増殖を抑制し続けるファージカクテルの作製に成功した。次にKpを定着させたマウスへのファージカクテルの投与により、便中のKp量は劇的に減少し、その効果が28日目まで持続することを確認した。さらに、Kpを定着させた後に肝線維化を惹起したPSCモデルマウスへのファージカクテルの投与により、Kpにより誘導された肝臓内TH17細胞数、および肝線維化の程度が50%程度改善することが確認された。以上の結果から、Kpを選択的に排除するファージカクテルがPSCに対する有効な新規治療法となる可能性が示され、今後の臨床応用への展開が期待される。 Primary sclerosing cholangitis (PSC) is an idiopathic chronic cholestatic liver disease characterized by the development of large bile duct strictures and the destruction of biliary trees that lead to end-stage liver cirrhosis. To date, there remains no definitive medical treatment for this condition other than liver transplantation. Since a high percentage of patients suffer from Inflammatory bowel disease (IBD), the involvement of intestinal bacteria has attracted attention as one of the factors. We have isolated and identified Klebsiella pneumoniae (Kp), Enterococcus gallinarum (Eg), and Proteus mirabilis from the mesenteric lymph nodes (MLN) of mice inoculated with human fecal samples derived from a patient with PSC. We found that these three bacteria were frequently detected in the fecal samples of patients with PSC, and that Kp directly damage colonic epithelial cells and contributes to liver Th17 immune responses via translocation to MLN. In this study, we analyzed the intestinal bacteria of 45 patients with PSC attending our hospital, and found that patients harboring both Kp and Eg had significantly higher disease activity and poorer transplant-free survival than those without Kp and Eg, suggesting that these bacteria are useful as prognostic biomarkers and therapeutic targets for PSC. In an international collaborative study, we succeeded in creating a phage cocktail that can suppress the proliferation of Kp derived from patients with PSC for a long period of time in vitro. We confirmed that administration of the phage cocktail to Kp-colonized mice dramatically reduced the amount of Kp in their feces, and the effect was sustained for 28 days. Furthermore, administration of the phage cocktail to PSC model mice, in which liver fibrosis was induced by Kp inoculation, improved the number of TH17 cells in the liver and the severity of liver inflammation and fibrosis by about 50%. These results indicate that a phage cocktail that selectively eliminates Kp may be an effective new treatment for PSC and is expected to be used for clinical application in the future.
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20230001-0033

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2023年度 福澤基金研究補助研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	准教授	補助額	1,500千円
	氏名	中本 伸宏	氏名（英語）	Nobuhiro Nakamoto		
研究課題（日本語）						
バクテリオファージを用いた肝臓免疫難病に対する新規治療法の開発						
研究課題（英訳）						
Development of a novel therapy for primary sclerosing cholangitis using bacteriophages.						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
市川 将隆（Masataka Ichikawa）		内科学（消化器）				
1. 研究成果実績の概要						
原発性硬化性胆管炎(Primary sclerosing cholangitis: PSC)は大胆管周囲の炎症浸潤、胆管狭窄による胆汁鬱滞をきたし肝硬変や肝不全に至る疾患であり、肝移植以外に根本的な治療法が存在しない。高率に炎症性腸疾患(Inflammatory bowel disease: IBD)を合併することから、要因の一つとして腸内細菌の関与が注目されている。私達はIBDを合併したPSC患者便を無菌マウスに移植したヒトフローラ化マウスを用いた検討を行い、マウスの腸間膜リンパ節からKlebsiella pneumoniae (Kp)、Enterococcus gallinarum (Eg), Proteus mirabilisの3菌を分離同定した。これらの3菌はPSC患者の便中に高率に検出されること、特にKpは大腸上皮傷害能を有しbacterial translocationを介した肝臓Th17免疫応答に寄与することを報告した。本研究において、当院通院中のPSC患者45名の腸内細菌を解析したところ、KpとEgの両菌を保菌する患者は保菌しない患者と比較して血清ALPが有意に高く、さらに診断時を起点としたtransplant-free survivalが劣っており、本菌が予後予測バイオマーカー、および治療標的として有用性である可能性が示された。国際共同研究のもと、自然環境に存在するKpを標的とするファージを複数組み合わせることにより、in vitro 環境下で長期間PSC患者由来Kpの増殖を抑制し続けるファージカクテルの作製に成功した。次にKpを定着させたマウスへのファージカクテルの投与により、便中のKp量は劇的に減少し、その効果が 28 日目まで持続することを確認した。さらに、Kpを定着させた後に肝線維化を惹起したPSCモデルマウスへのファージカクテルの投与により、Kpにより誘導された肝臓内 TH17 細胞数、および肝線維化の程度が 50%程度改善することが確認された。以上の結果から、Kpを選択的に排除するファージカクテルが PSC に対する有効な新規治療法となる可能性が示され、今後の臨床応用への展開が期待される。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
Primary sclerosing cholangitis (PSC) is an idiopathic chronic cholestatic liver disease characterized by the development of large bile duct strictures and the destruction of biliary trees that lead to end-stage liver cirrhosis. To date, there remains no definitive medical treatment for this condition other than liver transplantation. Since a high percentage of patients suffer from Inflammatory bowel disease (IBD), the involvement of intestinal bacteria has attracted attention as one of the factors. We have isolated and identified Klebsiella pneumoniae (Kp), Enterococcus gallinarum (Eg), and Proteus mirabilis from the mesenteric lymph nodes (MLN) of mice inoculated with human fecal samples derived from a patient with PSC. We found that these three bacteria were frequently detected in the fecal samples of patients with PSC, and that Kp directly damage colonic epithelial cells and contributes to liver Th17 immune responses via translocation to MLN. In this study, we analyzed the intestinal bacteria of 45 patients with PSC attending our hospital, and found that patients harboring both Kp and Eg had significantly higher disease activity and poorer transplant-free survival than those without Kp and Eg, suggesting that these bacteria are useful as prognostic biomarkers and therapeutic targets for PSC. In an international collaborative study, we succeeded in creating a phage cocktail that can suppress the proliferation of Kp derived from patients with PSC for a long period of time in vitro. We confirmed that administration of the phage cocktail to Kp-colonized mice dramatically reduced the amount of Kp in their feces, and the effect was sustained for 28 days. Furthermore, administration of the phage cocktail to PSC model mice, in which liver fibrosis was induced by Kp inoculation, improved the number of TH17 cells in the liver and the severity of liver inflammation and fibrosis by about 50%. These results indicate that a phage cocktail that selectively eliminates Kp may be an effective new treatment for PSC and is expected to be used for clinical application in the future.						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）			

Ichikawa M, Nakamoto N, Kredo-Russo S, Weinstock E, Weiner IN, Khabra E, Ben-Ishai N, Inbar D, Kowalsman N, Mordoch R, Nicenboim J, Golembo M, Zak N, Jablonska J, Sberro-Livnat H, Navok S, Buchshtab N, Suzuki T, Miyamoto K, Teratani T, Fujimori S, Aoto Y, Konda M, Hayashi N, Chu PS, Taniki N, Morikawa R, Kasuga R, Tabuchi T, Sugimoto S, Mikami Y, Shiota A, Bassan M, Kanai T	Bacteriophage therapy against pathological Klebsiella pneumoniae ameliorates the course of primary sclerosing cholangitis.	Nature Communications	2023 Jun 5;14(1):3261. doi: 10.1038/s41467-023-39029-9.
Ichikawa M, Okada H, Nakamoto N, Taniki N, Chu PS, Kanai T	The gut-liver axis in hepatobiliary diseases.	Inflammation and Regeneration	2024 Jan 8;44(1):2. doi: 10.1186/s41232-023-00315-0.