

2023年1月27日

報道関係者各位

シンバイオシス・ソリューションズ株式会社

腸内細菌叢の組成データから 疾病のリスクを推定するための手法を開発

～これまで原因不明とされてきた腸内細菌叢の異常（dysbiosis）に起因する様々な疾病の診断や治療・予防をサポートする新たなツールとして活用可能～

国際学術誌『*Frontiers in Microbiology*』に掲載

当社の徳野らの研究チームは、腸内細菌叢^{*1}の組成データ（腸内細菌叢を構成する各腸内細菌の相対存在量）から疾病のリスクを推定するための手法を開発しました。腸内細菌叢と疾病との関連性は、消化器疾患にとどまらず、アレルギー、自己免疫疾患、肥満や糖尿病などの生活習慣病、がん、神経・精神疾患など多くの疾病に関して報告されていますが、腸内細菌叢の組成から疾病のリスクを推定する手法は確立されていませんでした。本研究で開発された腸内細菌叢の組成データから疾病のリスクを推定する手法は、臨床現場における疾病の診断や治療・予防をサポートする新たなツールとして広く活用されることが期待されます。

本研究は、国際学術誌『*Frontiers in Microbiology*』（2023年1月26日付）に掲載されました。

■研究概要

本研究では、構造方程式モデリング（Structural Equation Modeling）^{*2}の手法を用いて、同様の生理作用を持つ複数の腸内細菌（観測変数）によって構成される腸内細菌叢因子（潜在変数）を設定し、この潜在変数（特定の生理作用を表す潜在的な変数）と疾病との関連性を分析することで、疾病リスクを確率値として算出する画期的な手法を開発しました。

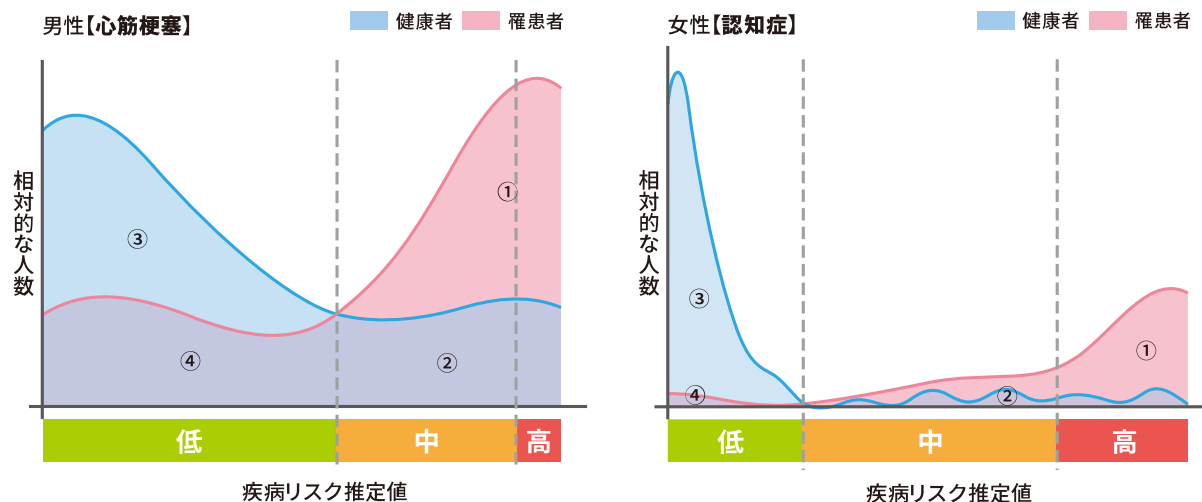


図1. 本研究で開発した手法を用いて算出された健康者と疾病罹患者の疾病リスク推定値の分布（例）
左図：男性の心筋梗塞、右図：女性の認知症

- ① 疾病罹患者のうち、現在の腸内細菌叢が本疾病の原因の一端となっている可能性がある人の分布
- ② 健康者のうち、現在の腸内細菌叢に起因して、本疾病に罹患する可能性がある人の分布
- ③ 健康者のうち、現在の腸内細菌叢に起因して、本疾病に罹患する可能性が低い人の分布
- ④ 疾病罹患者のうち、現在の腸内細菌叢が本疾病の原因の一端となっている可能性が低い人の分布

※男性の心筋梗塞の疾病リスク推定モデルの精度：AUC^{*3} = 0.790

※女性の認知症の疾病リスク推定モデルの精度：AUC = 0.897

本研究では、女性のアトピー性皮膚炎（以下「アトピー」）を事例として、腸内細菌叢の組成データからアトピーのリスクを推定する手法を開発しましたが、本研究で開発した疾病リスクの推定手法は、様々な疾病に応用することが可能です。そのことを示すため、本研究で開発した疾病リスクの推定手法を用いて、男性の心筋梗塞と女性の認知症の疾病リスク推定モデルを作成し、各々健康者と疾病罹患者の疾病リスクの推定値を算出した事例を上掲しました（図1）。

男性の心筋梗塞の例では、疾病罹患者の約73%が中リスク以上に区分されるリスク推定値を示し、約47%が高リスクに区分されるリスク推定値を示しました。一方、健康者の約75%が低リスクに区分されるリスク推定値を示し、約25%が中リスク以上、約3%が高リスクに区分されるリスク推定値を示しています。この疾病リスク推定モデルのもととなった構造方程式モデルにおける目的変数（心筋梗塞の有無）に係わる誤差分散は0.348であり、男性の心筋梗塞の有無の約65%が当該モデル（腸内細菌）で説明できると推定されました。

女性の認知症の例では、疾病罹患者の約92%が中リスク以上に区分されるリスク推定値を示し、約67%が高リスクに区分されるリスク推定値を示しました。一方、健康者の約83%が低リスクに区分されるリスク推定値を示し、約17%が中リスク以上、約4%が高リスクに区分されるリスク推定値を示しています。この疾病リスク推定モデルのもととなった構造方程式モデルにおける目的変数（認知症の有無）に係わる誤差分散は0.209であり、女性の認知症の有無の約79%が当該モデル（腸内細菌）で説明できると推定されました。

■研究の背景

近年の次世代シーケンズ^{※4}技術の発展により、ヒト腸内細菌叢についての研究が盛んに行われるようになってきました。その中でも、腸内細菌叢が宿主の健康状態に及ぼす影響について様々な研究が行われており、腸内細菌が様々な疾病に関係しているとの報告がなされています。このため、これまでも腸内細菌を指標とした疾病の検出法や評価法の開発が試みられてきました。しかしながら、先行研究の多くは、単一の腸内細菌をバイオマーカーとして用いるものや、複数の菌を用いても、それらを独立の変数として扱っているため、1,000種類以上の多種多様な腸内細菌が相互作用しながら生息している複雑な生態系である腸内細菌叢と疾病の関連性の全体像を捉え、高い精度と再現性で疾病のリスクを推定できるものとはなっていませんでした。

■研究手法と成果

研究チームは、まず初めに、アトピーのみに罹患している日本人女性（AS）45名と健康な日本人女性（NC）321名の腸内細菌叢の組成データから、ASとNCの間で各菌属の効果量^{※5}を計算し、アトピー罹患者と健康者の腸内細菌叢を特徴づける菌属を特定しました（図2）。

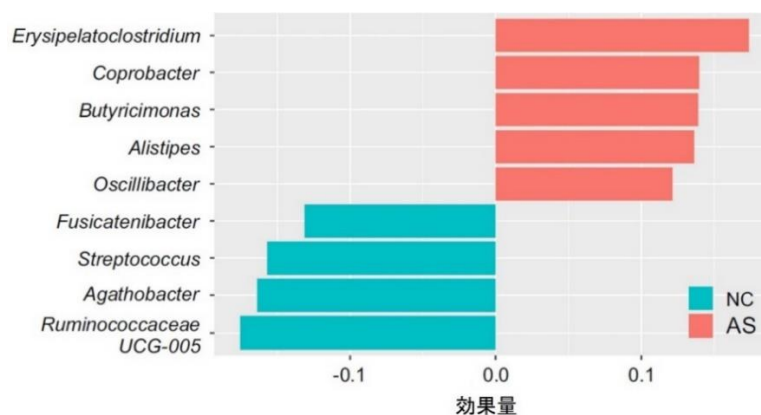


図2. アトピー性皮膚炎のみに罹患している日本人女性（AS）と健康な日本人女性（NC）を比較した場合の効果量の計算結果

横軸が効果量の大きさを表します。効果量が正の値となっている菌属はAS側の効果を示し、負の値となっている菌属はNC側の効果を示しています。

次に研究チームは、効果量の計算結果（図 2）から特定したアトピーと関連のある腸内細菌（菌属）のうち 6 つの菌属の占有率（相対存在量）のデータを観測変数に用いて、2 つの潜在変数（腸内細菌叢因子）で構成された構造方程式モデルを構築しました（図 3）。

このモデルで設定した 2 つの腸内細菌叢因子の 1 つはアトピーの発症・増悪に関係すると仮定した因子（図 4 lv1）であり、この因子には AS 側の効果を示す *Alistipes*、*Butyricimonas*、*Coprobacter* の 3 菌属を割り当てました。これらの 3 菌属は、体内における炎症反応の亢進に関与することが報告されています（Parker et al., 2020; Bowerman et al., 2020; Kim et al., 2019; Liu et al., 2019）。もう 1 つの腸内細菌叢因子は、アトピーの抑制・緩和に関係すると仮定した因子（図 4 lv2）であり、この因子には NC 側の効果を示す *Agathobacter*、*Fusicatenibacter*、*Streptococcus* の 3 菌属を割り当てました。これらの 3 菌属は、体内における炎症反応の抑制に関与していることが報告されています（Rosero et al., 2016; Jiang et al., 2022; Takeshita et al., 2016; Kaci et al., 2014; Park et al., 2020）。

この結果、適合度指数 GFI = 0.95、AGFI = 0.85、RMSEA = 0.06、lv1 からアトピー罹患変数へのパス係数が 0.32 ($p < 0.01$)、lv2 からアトピー罹患変数へのパス係数が -0.41 ($p < 0.01$) の構造方程式モデルを構築することができました。

これらのことから、構築したモデルは、腸内細菌叢がアトピーに及ぼす影響の全体像を、体内における炎症反応の亢進に関わる腸内細菌叢因子（lv1）と炎症反応の抑制に係る腸内細菌叢因子（lv2）を設定することによって構造化（モデル化）していることが分かります。

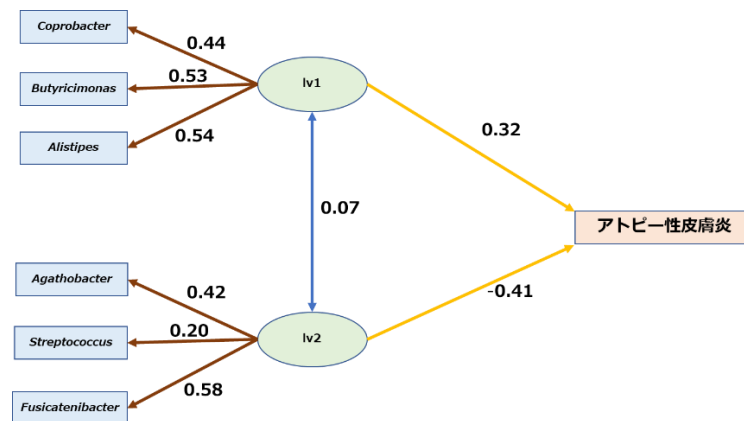


図 3. 今回構築した、腸内細菌叢とアトピー性皮膚炎の関係を表す構造方程式モデル

緑の楕円が腸内細菌叢因子を表し、青の長方形は菌属を表します。オレンジの長方形はアトピーに罹患しているか否かを表す変数です。茶色の矢印の数値は、因子の値が上昇した場合、各菌属の占有率（相対存在量）がどの程度上昇するかを表します。青の矢印上の数値は、因子間の相関の大きさを表します。黄色の矢印の数値は、各因子からアトピー変数への影響の大きさと向きを表します。各数値の絶対値は、0 以上 1 以下の値をとります。

さらに、研究チームはこれら 2 つの腸内細菌叢因子の因子得点がアトピー罹患患者と非罹患患者でどのような値を示すかを調べました（図 4）。

その結果、アトピーの発症・増悪に関係すると仮定した腸内細菌叢因子 lv1 の値は、アトピーにのみ罹患している群（AS）において、NC や OD と比べて有意に高い値を示しましたが、アトピーに加えて他の疾病にも罹患している群（AM）では、有意に高い値を示しませんでした（図 4A）。このことは、AM は他の疾病と関連する腸内細菌叢の変動の影響を受けることによって lv1 のみではアトピーとの関連性が捉えにくくなる可能性があることを示しています。一方、アトピーの抑制・緩和に関係すると仮定した腸内細菌叢因子 lv2 の値は、アトピーに罹患している群（AS および AM）において、アトピーに罹患していない群（NC および OD）に比べて有意に低い値を示しました（図 4B）。このことは、lv2 が他の疾病と関連する腸内細菌叢の変動の影響を受けずに、ある程度安定してアトピーとの関連性を捉えることができる因子となっている可能性があることを示しています。これらの結果から、炎症反応の亢進に係る 3 菌属の増加よりも、炎症反応の抑制に係る 3 菌属の減少の方が、腸内細菌叢とアトピーの関連性を的確に捉えることができる可能性が高いと考えられました。

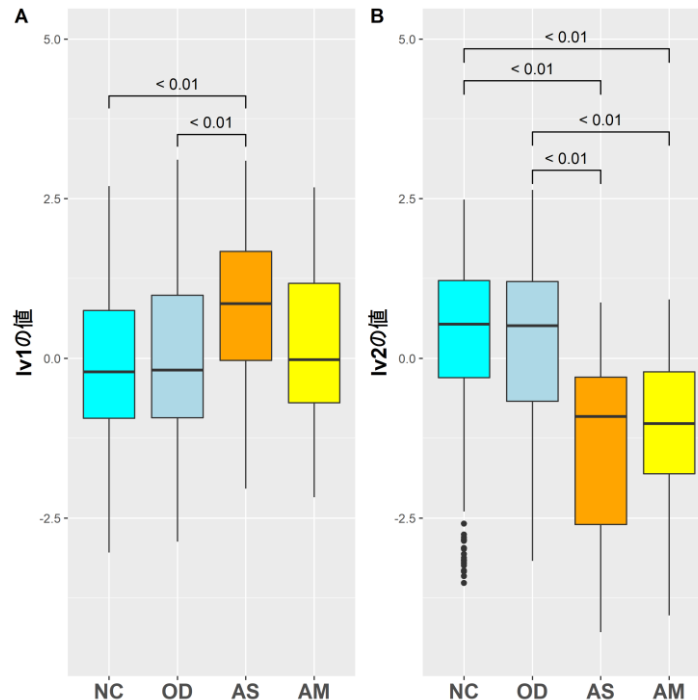


図 4. 各群における、アトピー性皮膚炎と関係する腸内細菌叢因子の値

(A) アトピーの発症・増悪に関係すると仮定した腸内細菌叢因子 lv1 の値。(B)アトピーの抑制・緩和に関係すると仮定した腸内細菌叢因子 lv2 の値。縦軸は腸内細菌叢因子の値を表します。NC：健康者群、OD：アトピー以外の疾病に罹患している群、AS：アトピーのみに罹患している群、AM：アトピーに加えて、その他の疾病に罹患している群。箱ひげ図上の数値は、Wilcoxon 順位検定^{※6}における p 値を表します。

次に、研究チームは、被験者のアトピー罹患状況が未知の場合において、腸内細菌叢因子 (lv1、lv2) の因子得点を推定するための構造方程式モデルを構築し、このモデルを用いて算出された因子得点の推定値がもとの構造方程式モデルで算出された因子得点 (図 4) と同様の傾向を示す (推定された lv2 の因子得点がアトピーに罹患している群 (AS および AM) において、アトピーに罹患していない群 (NC および OD) に比べて有意に低い値を示す) ことを確認しました。そこで、ロジスティック回帰モデルを用いて、lv2 の因子得点をアトピー罹患変数に対する説明変数とするアトピーの疾病リスク推定モデルを構築することとしました。このモデルは、(1)あらかじめ収集した各被験者の腸内細菌叢の組成データから算出される各被験者の lv2 の因子得点 (説明変数) とアトピー罹患変数を用いてモデルを機械学習し、lv2 の因子得点からアトピーの疾病リスクを推定するモデルを構築、(2)新規被験者については、lv2 の因子得点の推定値を算出し、その値を (1)のモデルにあてはめて疾病リスクを推定するものです。

本研究では、lv1 を説明変数とするモデルと lv1 と lv2 をともに説明変数とするモデルも構築し、ROC (Receiver Operating Characteristic) 分析^{※7}によって各モデルの精度を比較しました。その結果、lv2 を説明変数とするモデルの精度が最も高く (AUC^{※3} = 0.66)、lv1 を説明変数とするモデルの精度が最も低く (AUC = 0.49)、lv1 と lv2 をともに説明変数とするモデルの精度は、lv2 を説明変数とするモデルに比べて低下しました (AUC = 0.59) (図 5)。この結果は、lv1 はアトピー以外の疾病と関連する腸内細菌叢の変動の影響を受けることによってアトピーとの関連性が捉えにくくなる可能性があり、lv2 は他の疾病と関連する腸内細菌叢の変動の影響を受けずに、ある程度安定してアトピーとの関連性を捉えることができる可能性があるという前述の結果 (図 4) を反映しているものと考えられます。

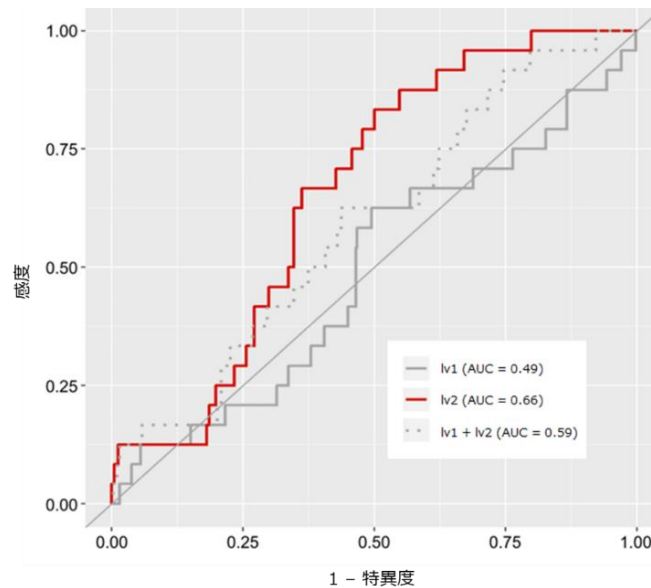


図5. 構築したアトピー性皮膚炎のリスク推定モデルのROC分析の結果

縦軸は感度、横軸は1 - 特異度の値を表します。灰色の実折れ線がlv1の値によるアトピーのリスク推定モデル、赤の折れ線がlv2の値によるアトピーのリスク推定モデル、灰色の点線がlv1とlv2両方の値によるリスク推定モデルの結果を表します。

本研究で事例として構築した腸内細菌叢とアトピーの関連性に関する構造方程式モデルは、腸内細菌叢とアトピーとの関係を複合的に捉えることを可能としました。一般に、腸内細菌は、ある疾病に対してその要因（正の相関）となる作用と、当該疾病を抑制する要因（負の相関）となる作用を及ぼしうると考えられますが、そうした相反する要因を、構造方程式モデルによって包括的に構造化しています。このため、本研究で開発した手法は、腸内細菌叢のバランスの乱れ（dysbiosis）と疾病の関連性の全体像をモデル化できる可能性を示したといえます。また、この構造方程式モデルに基づいて、疾病リスク推定モデルを構築し、疾病リスクを確率値として算出することができることと、その有用性も確認することができました。本研究ではアトピーを事例としていますが、冒頭に示したように、腸内細菌叢との関連が想定される様々な疾病に対して有効な構造方程式モデルを構築し、そのモデルに基づく疾病リスク推定モデルを構築することが可能です。

■今後の展望

本研究が疾病リスク推定モデルの構築に用いた構造方程式モデリングという手法は、モデルの拡張性が高く、今回の研究で用いた腸内細菌の占有率（相対存在量）のデータ以外にも、腸内細菌が持つ遺伝子機能の解析結果などをモデルに組み込むことで、さらなるモデルの精度向上が期待できます。腸内細菌叢と疾病との関連性は、その可能性も含めて様々な疾病に関して報告されており、本研究で開発された腸内細菌叢と疾病の関連性に関する構造方程式モデルと、そのモデルに基づき構築される疾病リスク推定モデルを用いた疾病リスクの推定手法は、臨床現場における疾病の診断や治療・予防をサポートする新たなツールとして広く活用されることが期待されます。

■用語説明

※1 腸内細菌叢

ヒトの腸内には1,000種以上、10~100兆個程度の腸内細菌が共生しており、重さにして約1.5kgと考えられている。腸内細菌はそれぞれテリトリーをもって生息しており、その全体を「腸内細菌叢」と呼んでいる。

※2 構造方程式モデリング

複数の観測値からそれらが共通に持つ性質を因子として抽出する解析と、抽出された因子間の関係性を推定する解析を同時に行う統計的手法。

※3 AUC

ROC曲線の下側領域の面積。この数値が1に近いほどモデルの精度が高いとされる。

※4 次世代シーケンス

一度に大量の塩基配列を決定することができる次世代型の塩基配列決定機器による塩基配列の決定技術。旧世代型に比べ、同時処理可能なDNA断片数が桁違いに向上し、目的サンプルの大量塩基配列データを得ることができる。

※5 効果量

ある現象に対して、着目している変数がどの程度の影響力を持っているのかを指標化した量のこと。

※6 Wilcoxonの順位和検定

ノンパラメトリック検定のひとつで、Mann-WhitneyのU検定とも呼ばれ、得られた2つのデータ間の中央値に差があるかどうかを検定する。

※7 ROC分析

機械学習モデルによる判定結果の精度を測るための手法。

■研究チーム

シンバイオシス・ソリューションズ株式会社

代表取締役社長 増山 博昭

研究開発本部 徳野 秀尚・糸賀 達也・春日 純平・大熊 佳奈・蓮子 和己

一般財団法人辨野腸内フローラ研究所

理事長 辨野 義己

■研究協力

本研究は、国立研究開発法人理化学研究所の旧辨野特別研究室が収集した便検体とアンケートデータを用いて行われました。また、一般社団法人日本農業フロンティア開発機構によって、便検体から抽出された腸内細菌DNAの解析が行われました。

■原論文情報

Hidetaka Tokuno, Tatsuya Itoga, Jumpei Kasuga, Kana Okuma, Kazumi Hasuko, Hiroaki Masuyama, Yoshimi Benno. Method for estimating disease risk from microbiome data using structural equation modeling. *Frontiers in Microbiology* **2023**(14), doi.org/10.3389/fmicb.2023.1035002

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1035002/full>


■研究内容に関する問合せ先

シンバイオシス・ソリューションズ株式会社
 研究開発本部 徳野 秀尚
 research(at)symbiosis-solutions.co.jp
 ※ (at) は@に置き換えてご連絡ください。

■取材に関する問合せ先

シンバイオシス・ソリューションズ株式会社
 広報担当
 info(at)symbiosis-solutions.co.jp
 ※ (at) は@に置き換えてご連絡ください。

■企業概要

会社名	: シンバイオシス・ソリューションズ株式会社	 シンバイオシス・ソリューションズ株式会社 当社は、腸内細菌叢から疾病リスクを分析・評価する腸内細菌叢の検査・分析サービス（『SYMGRAM®』、『健腸ナビ®』他）の開発・運営および医薬・食品メーカーと連携して腸内細菌叢の制御による疾病の予防・改善のための機能性食品の研究・開発などを行うヘルステック・バイオベンチャーです。
本社	: 東京都千代田区神田猿樂町 2-8-11 VORT 水道橋Ⅲ 3F	
研究所	: 埼玉県和光市南 2-3-13 和光理研インキュベーションプラザ内	
設立	: 2018年4月 ※一般社団法人日本農業フロンティア開発機構と国立研究開発法人理化学研究所（旧辨野特別研究室）による研究成果を事業化する目的で設立	
資本金	: 7億3,152万5,000円（2022年11月現在）	
URL	: https://www.symbiosis-solutions.co.jp/	

■参考文献

Park, Y. M., Lee, S. Y., Kang, M. J., Kim, B. S., Lee, M. J., Jung, S. S., et al. (2020). Imbalance of gut *Streptococcus*, *Clostridium*, and *Akkermansia* determines the natural course of atopic dermatitis in infant. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 12, 322–337. doi: [10.4168/aa.2020.12.2.322](https://doi.org/10.4168/aa.2020.12.2.322).

Bowerman, K. L., Rehman, S. F., Vaughan, A., Lachner, N., Budden, K. F., Kim, R. Y., et al. (2020). Disease-associated gut microbiome and metabolome changes in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Nat. Commun.* 11, 5886. doi: [10.1038/s41467-020-19701-0](https://doi.org/10.1038/s41467-020-19701-0).

Kim, J., Lee, H., An, J., Song, Y., Lee, C. K., Kim, K., et al. (2019). Alterations in gut microbiota by statin therapy and possible intermediate effects on hyperglycemia and hyperlipidemia. *Front. Microbiol.* 10, 1947. doi: [10.3389/fmicb.2019.01947](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01947).

Liu, S., Li, E., Sun, Z., Fu, D., Duan, G., Jiang, M., et al. (2019). Altered gut microbiota and short chain fatty acids in Chinese children with autism spectrum disorder. *Sci. Rep.* 9, 287. doi: [10.1038/s41598-018-36430-z](https://doi.org/10.1038/s41598-018-36430-z).

Rosero, J. A., Killer, J., Sechovcová, H., Mrázek, J., Benada, O., Fliegerová, K., et al. (2016). Reclassification of *Eubacterium rectale* (Hauduroy et al. 1937) Prévot 1938 in a new genus *Agathobacter* gen. nov. as *Agathobacter rectalis* comb. nov., and description of *Agathobacter ruminis* sp. nov., isolated from the rumen contents of sheep and cows. *Int. J. Syst. Evol.*

Microbiol. 66, 768–773. doi: [10.1099/ijsem.0.000788](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000788).

Jiang, Y., Bao, C., Zhao, X., Chen, Y., Song, Y., and Xiao, Z. (2022). Intestinal bacteria flora changes in patients with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia with or without wheezing. Sci. Rep. 12, 5683. doi: [10.1038/s41598-022-09700-0](https://doi.org/10.1038/s41598-022-09700-0).

Takeshita, K., Mizuno, S., Mikami, Y., Sujino, T., Saigusa, K., Matsuoka, K., et al. (2016). A single species of clostridium subcluster XIVa decreased in ulcerative colitis patients. Inflamm. Bowel Dis. 22, 2802–2810. doi: [10.1097/MIB.0000000000000972](https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000972).

Kaci, G., Goudercourt, D., Dennin, V., Pot, B., Doré, J., Ehrlich, S. D., et al. (2014). Anti-inflammatory properties of *Streptococcus salivarius*, a commensal bacterium of the oral cavity and digestive tract. Appl. Environ. Microbiol. 80, 928–934. doi: [10.1128/AEM.03133-13](https://doi.org/10.1128/AEM.03133-13).

以上