

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18102

研究課題名（和文）潰瘍性大腸炎関連大腸癌発生における腸内細菌と代謝産物の関連

研究課題名（英文）Relationship between colitic cancer and the intestinal microbiome

研究代表者

石田 隆（Ishida, Takashi）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：90573395

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：腸内細菌叢と大腸癌発癌の関連が近年着目されているが、特に潰瘍性大腸炎や肥満関連の大腸癌における腸内細菌叢の関連については明らかとなっていない。本研究では、2つのモデルマウス（野生型および肥満・インスリン抵抗性の2型糖尿病マウスモデル（KKAy））を用い、異なる条件下（（1）抗生物質カクテルモデルにより、両者の腸内細菌叢をリセット（2）両者の環境要因の違いを排除するため、同一ゲージで飼育）における腸内細菌叢と腫瘍発現の違いについて、検討した。結果、KKAyマウスはWTマウスよりも有意に多くの腫瘍が発現したが、本研究では、腫瘍形成に対する腸内細菌叢の関与を証明することはできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌発癌に、特定の腸内細菌や代謝産物が関与していることが明らかとなれば、腸内細菌叢を変化させることにより、発癌予防につながることを期待される。本研究では、腸内細菌叢と腫瘍発現の直接的な関連を示すことはできなかったが、さらに別のモデルマウス（小腸・大腸の多発腫瘍モデルマウスであるAPC min/+マウスなど）を用い、腸内細菌及び代謝産物の解析を進めることを検討している。

研究成果の概要（英文）：The role of the intestinal microbiome in colitic cancer and obesity-related colorectal cancer and is unclear. This study aimed to clarify the relationship between the intestinal microbiome and tumorigenesis using a mouse model.

We compared an obese and insulin-resistant type 2 diabetes mouse model [KKAy] to wild-type mice (WT) [C57BL/6 J]. Azoxymethane was intraperitoneally injected to develop a mouse model CRC. At 26 weeks, we compared the number of tumors and the intestinal microbiome. We also compared them across two models, namely, antibiotic cocktail and co-housing. In all models, KKAy mice had a significantly greater number of tumors than WT mice. Analysis showed that the distribution of the intestinal microbiome changed in both models; however, no difference in tumor development was observed. Based on the results, the intestinal microbiome may not be associated with tumorigenesis in obesity-related CRC. It may be necessary to think of other facts linked to obesity-related CRC.

研究分野：消化器外科学

キーワード：潰瘍性大腸炎 腸内細菌 発癌 肥満

1．研究開始当初の背景

本邦における大腸癌の罹患率・死亡率は増加の一途をたどっている。大腸癌の発生機序として、腺腫の癌化（adenomacarcinoma sequence）、de novo 発癌、鋸歯状ポリープの癌（serrated polyp neoplasia pathway）と、潰瘍性大腸炎を主とする炎症粘膜における炎症性発癌、の4つの経路が考えられている。

腺腫の癌化（adenoma-carcinoma sequence）には、*Bacteroides fragilis*（Wu S et al.: Nat Med. 2009）や *Fusobacterium*（Kostic AD et al.: Genome Res 2012）などの腸内細菌や、代謝産物が腫瘍発現に関連していると報告されている。一方で、大腸癌患者と健常者の便を比較すると酪酸産生菌が健常者に多く、結果として代謝産物としての酪酸が健常者で有意に多いことが報告されている（Tiffany L. Weir et al.: PLOS one 2013）。

また潰瘍性大腸炎を主とする炎症粘膜における炎症性発癌には、*Streptococcus Luteciae*、*Lactobacillus hamaster*、*Bacteroides uniformis*、*Bacteroides ovatus* などの腸内細菌が関与しているとの報告がある（Xujun Liang et al.: Scientific Reports 2014）。一方で、メタゲノム解析では、食物繊維が多い食事を摂ると酪酸が増加、同時に酪酸は抑制性 T 細胞へ分化誘導に重要な Foxp3 遺伝子の発現を高め、酪酸によって分化誘導された抑制性 T 細胞が大腸炎を抑制すると報告されている（Yukihiro Furusawa et al.: Nature 2013）。

以上から、炎症性発癌においても酪酸が重要なファクターであり、その上流には酪酸産生菌の枯渇を初めとした腸内細菌叢が関与していると考えられる（図 1）。しかし、慢性炎症性腸疾患における発癌のメカニズムは依然として明らかではなく、候補と考えられる酪酸を含めた代謝産物やその上流にある腸内細菌叢の変化についての報告はこれまで皆無である。

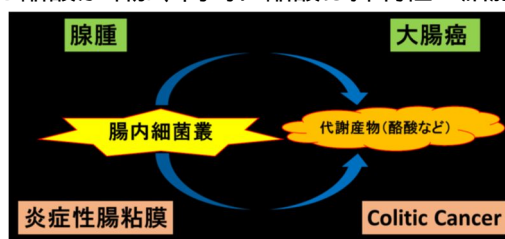


図 1 adenoma-carcinoma sequence
と炎症性発癌における腸内細菌叢と
代謝産物の関係

2．研究の目的

いくつかの大腸癌発癌経路において、ある種の腸内細菌や代謝産物では同様の変化がみられ、また他の種の腸内細菌や代謝産物では異なる変化が見られることが明らかになれば、大腸癌の発生機序に新たな知見をもたらすことができると考えられる。つまり非炎症腸管においてどのような腸内細菌の変化がポリープの発生そして発癌に影響を与えているのか、また炎症を背景とした腸管においてどのような代謝産物が発癌のマーカーとして考えられるのかといったマウスレベルの実験から得た研究結果を当院での臨床研究に translate することで、腸内細菌や代謝産物がバイオマーカーや新規治療の対象として応用されることは、人類が大腸癌を克服する上で極めて有意義なものであると確信している。

腸内細菌叢を変化させることにより発癌を予防し、ひいてはその前癌状態である、腺腫や炎症性腸疾患といった疾病予防に繋がることが期待される。

3．研究の方法

ACS (adenoma-carcinoma sequence) モデルマウス、APC ノックアウトマウスや炎症性発癌モデルマウスにおいて、16s rRNA を用いたメタゲノム解析によって腸内細菌叢の比較検討を行うと同時に、便によるメタボローム解析を行い、代謝産物の比較検討を行う。とくに、がん組織の表面にある便について別の解析を行い、正常腸管上皮、あるいは、炎症腸管にある便と細菌叢を比較検討する。これにより、癌組織の表面にのみ存在する細菌が同定されれば、その細菌が ACS 発癌、de novo 発癌、あるいは炎症性発癌に極めて重要な影響を与えていることが想定される。さらにこの細菌を標的として、無菌マウスへの便移植や、抗菌薬を用いることで発癌をコントロールすることが証明されれば、それぞれの発癌のメカニズムを明らかにすることができただけではなく、この細菌を対象にした新規の治療方法につながる可能性がある。また、便中にこの細菌が同定されることで発癌を予測するといったまさに画期的な新規バイオマーカーとしても期待される。同様にメタボローム解析を行うことで、代謝産物についても前述の裏付けが取れるだけでなく、代謝産物そのものが同様に新規治療法や新規バイオマーカーの開発につながる可能性を秘めているといえる。

4．研究成果

まず、C57Bl/6J（野生型）と、肥満・インスリン抵抗性の 2 型糖尿病モデルとして知られる KKAy マウスを使用し、アゾキシメタン (AOM) 2.5mg/kg を 6 - 8 週齢の両者に腹腔内投与、その後 1 週間 2.5% デキストラン硫酸ナトリウム水を自由飲水させ、その後通常飲水で 2 週間飼育する 3 週間を 1 サイクルとし、これを 3 サイクル行った後に発がんの状態を確認した。KKAy + AOM は、WT + AOM と比較してマウスあたりの腫瘍数が有意に多かった。

続いて、野生型と KKAy を、以下の 2 つのモデルを用いて比較し、腸内細菌叢および腫瘍発現の違いを検討した。1) 抗生物質カクテルモデルにより、両者の腸内細菌叢をリセットする。2) 両者の環境要因の違いを排除するため、同一ゲージで飼育する。腸内細菌叢の分布は、T-RFLP 分析によりスクリーニングし、さらにクラスター樹状図と主成分分析 (PCA) を実行した。結果、1) 抗生物質モデル、2) 共同飼育モデルのいずれも、KKAy は C57Bl / 6J に対して、有意に多くの腫瘍発現を認めた。腸内細菌叢は、抗生物質モデル・共同飼育モデルの両方で変化したことが確認されたが、腫瘍の発生についての違いは観察されず、肥満関連の大腸腫瘍の腫瘍形成に対する腸内細菌の影響を証明することはできなかった (Nozomi Iwama, et al.: Journal of Cancer Research and Clinical Oncology 2022)。

今後は、さらに別のモデルマウス (小腸・大腸の多発腫瘍モデルマウスである APC min/+ マウスなど) を用い、便中の腸内細菌及び代謝産物の解析を進めることを検討する。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1 . 著者名 Iwama Nozomi、Matsuda Mutsuhito、Tsuruta Masashi、Okabayashi Koji、Shigeta Kohei、Kanai Takanori、Kitagawa Yuko	4 . 巻 -
2 . 論文標題 Relationship between obesity-related colorectal tumors and the intestinal microbiome: an animal-based trial	5 . 発行年 2022年
3 . 雑誌名 Journal of Cancer Research and Clinical Oncology	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） 10.1007/s00432-022-04477-1	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------