

令和 4 年 9 月 13 日現在

機関番号： 22701

研究種目： 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））

研究期間： 2020～2021

課題番号： 19KK0412

研究課題名（和文）メトホルミンとアスピリンを用いた大腸癌化学予防の開発

研究課題名（英文）The development of chemoprevention for colorectal cancer by the combination of metformin and aspirin

研究代表者

日暮 琢磨（HIGURASHI, Takuma）

横浜市立大学・医学部・講師

研究者番号：90622580

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,700,000円

渡航期間： 21ヶ月

研究成果の概要（和文）：Harvard medical school (HMS), Massachusetts General Hospital (MGH) の Clinical and Translational Epidemiology Unit 長である Andrew T. Chan 教授と共同で『メトホルミンとアスピリンを用いた大腸癌化学予防法の開発』を行った。アスピリンは COX1/2 阻害によるアラキドン酸・PGE2 低下により癌予防効果を有し、メトホルミンは AMPK 活性化による mTOR pathway の抑制により癌予防効果を有する。異なる 2 剤を併用する事でより高い癌予防効果を発揮するという結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌は全世界的に増加傾向であり、早急な対策が求められている。分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬、新規抗がん剤などの進歩により大腸癌の生存期間の延長や、死亡率の低下は認めているものの、比例して医療費の増大も著しい。また、便潜血による健診や、内視鏡検査によるポリープ切除は大腸癌の死亡率を下げる事が報告されているが、大腸ポリープや癌を内視鏡治療した患者はその後再発/新規発生が多いことが知られており問題となっている。本研究は根本的な対策である一次予防（健康増進/疾病予防）であり今後の大腸癌の罹患/死亡率の抑制や、高騰する医療費の抑制により重要となるものであり、社会的意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：This research was conducted with Prof. Andrew T chan, the chief of Clinical and Translational Epidemiology unit, Harvard medical school, Massachusetts general hospital. Aspirin revealed chemopreventive effect by the decrease of PGE2 via the suppression of COX1/COX2. Metformin also revealed chemopreventive effect by the suppression of mTOR via the activation of AMPK. The combination of metformin and aspirin showed higher efficacy for colorectal cancer chemoprevention.

研究分野： 消化器内科

キーワード： 大腸癌 化学予防 アスピリン

### 1 . 研究開始当初の背景

大腸癌は全世界的に増加傾向であり、早急な対策が求められている。分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬、新規抗がん剤などの進歩により大腸癌の生存期間の延長や、死亡率の低下は認めているものの、比例して医療費の増大も著しい。また、便潜血による健診や、内視鏡検査によるポリープ切除は大腸癌の死亡率を下げることで報告されているが、大腸ポリープや癌を内視鏡治療した患者はその後も大腸ポリープや癌の再発/新規発生が多いことが知られており問題となっている。これらの対策はがん予防における二次予防（早期発見、早期治療）にあたり、これまで一定の成果を上げてはいるが、増加する大腸癌の罹患/死亡には対応しきれず、今後はより進んだ対策が求められている。そのため根本的な対策である一次予防（健康増進/疾病予防）が今後の大腸癌の罹患/死亡率の抑制や、高騰する医療費の抑制には、より重要となる。

### 2 . 研究の目的

本研究では大腸癌の一次予防、なかでも化学予防（Chemoprevention）に着目して研究を進めている。

これまで大腸癌の化学予防を検討した臨床試験がいくつか行われており、代表的なものでは、アスピリンや NSAIDs（特に COX-2 阻害薬）の試験が過去に数多く行われた。NSAIDs は大腸腫瘍の予防効果は認めたものの消化管出血や心血管疾患のリスクを上げてしまうことが後に判明し、予防法としては確立していない（Cancer Prev Res. 2008）。低用量アスピリンは大腸腺腫の発生を減らす効果は複数の論文で報告されているが（N Engl J Med. 2003 6;348(10):891-9. Gut. 2014 ;63(11):1755-9）単独での効果はそれほど強くなく、また抗血小板作用を有するため万人に対して推奨できるといった位置づけにはまだなっていない。そのため、化学予防の確立のために新規薬剤の開発や既存薬剤のドラッグリポジショニングが必要とされている。化学予防薬は抗がん剤と違い、ほぼ健常人人に長期間投与することになるため、何より安全性が重要であるが、ドラッグリポジショニングでは薬剤の安全性データが揃っていないことが多いため、安全性試験という薬剤開発でもっとも時間とコストがかかる部分を省略できるというメリットがある。

しかし、化学予防の薬剤の用量反応試験や、薬剤が大腸の carcinogenesis のどの段階でどのように作用しているのかなどの詳細な機序解析を行うことは既存の方法では限界があり、これまであまり行われていない。これまでの癌研究は、ヒト大腸癌の組織サンプルから遺伝子を抽出し解析を行うものが中心であり、その遺伝子を大腸癌細胞株に knock in/knock down し機能解析を行っていたが、大腸癌細胞株は既に様々な異常が起きている細胞であり、実際の臨床における大腸癌を反映しておらず十分な検討ができていない状況である。

そこに種々の薬剤を投与し、発癌のどの段階でどのような機序で化学予防効果を発揮するのかを解明するシステムを開発し、薬剤の化学予防効果の検証と機序の解明を行うことを研究の目的としている。

### 3 . 研究の方法

**オルガノイド**は 2009 年にオランダ Hubercht 研究所 Hans Clevers 教授、慶応大学 佐藤俊朗教授らのグループにより開発された新しい培養技術で、EGF や R-spondin といった幹細胞に必要な様々な増殖因子を培養液に補い立体培養することで生体内の組織と類似した構造を体外で形成させる技術である。この技術を用いて、ヒトから採取した正常上皮、腺腫、Sessile

serrated adenoma/polyp (SSA/P)、大腸癌からオルガノイドを作成し、我々が以前から抗腫瘍効果を検討しているメトホルミンと、欧米で最も化学予防が検討されているアスピリンを組み合わせることにによる抗腫瘍効果を検討する。これは、近年の高血圧や糖尿病の診療では、単一の薬剤で用量を極量まで増やすのは副作用などの観点からも望ましくなく、少量の用量で作用機序の異なる複数の薬剤を用いて治療するのが主流となっており、化学予防においてもこの戦略が当てはまる可能性は十分あると考えたためである。抗腫瘍効果を示す機序の異なる複数の薬剤を組み合わせることで、副作用を最小化し目的の効果を最大化できると考えている。

ヒトより採取した正常上皮、腺腫、SSA/P、大腸癌より作成したオルガノイドをマトリゲルに培養し、まずメトホルミンを positive control として投与実験を行い、細胞増殖スピード、細胞増殖マーカー、遺伝子発現、蛋白のリン酸化などを解析する。続いて、オルガノイドをマウスに移植する xenograft model を作成し、更にその効果を in vivo で確認する。

#### 4. 研究成果

ヒト由来の大腸オルガノイド(正常上皮、大腸腺腫、SSA/P、大腸癌)の樹立に成功し、大腸癌の発癌過程のオルガノイドバンクの作成を行った。さらにオルガノイドをヌードマウスの皮下に移植し vivo 解析も行う実験手技を確立した。

Harvard medical school (HMS), Massachusetts General Hospital (MGH), の Clinical and Translational Epidemiology Unit 長である Andrew T. Chan 教授と共同で『メトホルミンとアスピリンを用いた大腸癌化学予防法の開発』を行った。

アスピリンは COX1/2 阻害によるアラキドン酸・PGE2 低下により癌予防効果を有し、メトホルミンは AMPK 活性化による mTOR pathway の抑制により癌予防効果を有する。異なる 2 剤を併用する事でより高い癌予防効果を発揮するという結果を得た。現在はその機序について詳細な解析を行っている。

1. Miyake S, Ashikari K, Kato S, Takatsu T, Kuwashima H, Kaneko H, Nagai K, Watari I, Sato T, Yamaoka Y, Yamashiro T, Ryo A, Maeda S, Nakajima A, **Higurashi T**: SARS CoV 2 prevalence in saliva and gastric and intestinal fluid in patients undergoing gastrointestinal endoscopy in COVID 19 endemic areas: prospective cross sectional study in Japan. Digestive Endoscopy, <https://doi.org/10.1111/den.13945>. First published: 06 February 2021.

2. Tachikawa J, Chiba H, Okada N, Arimoto J, Keiichi Ashikari, Kuwabara H, Nakaoka M, **Higurashi T**, Goto T, Nakajima A: Impact of obesity in colorectal endoscopic submucosal dissection: single-center retrospective cohort study. BMC Gastroenterol 2021 Feb 16;21(1):74. doi: 10.1186/s12876-021-01652-5. PMID: 33593282. PMCID: PMC7885483.

3. Kato S, Fushimi K, Yabuki Y, Maru Y, Hasegawa S, Matsuura T, Kurotaki D, Suzuki A, Kobayashi N, Yoneda M, **Higurashi T**, Enaka M, Tamura T, Hippo Y, Nakajima A: Precision modeling of gall bladder cancer patients in mice based on orthotopic implantation of organoid-derived tumor buds. Oncogenesis, 10(4):33, PMID:33866327 PMCID:PMC8053198 doi: 10.1038/s41389-021-00322-1, 2021 Apr 17.

4. Miyake S, **Higurashi T**, Jono T, Akimoto T, Ogawa F, Oi Y, Tanaka K, Hara Y, Kobayashi N, Kato H, Yamashiro T, Utsunomiya D, Nakajima A, Yamamoto T, Maeda S, Kaneko T, Takeuchi I: Real-world evaluation of a computed tomography-first triage strategy for

suspected Coronavirus disease 2019 in outpatients in Japan An observational cohort study. *Medicine (Baltimore)* , 100(22):e26161. PMID34087874 PMCID[PMC8183760](#) doi: 10.1097/MD.00000000000026161 , 2021 Jun 4.

5.Kessoku T, Kobayashi T, Tanaka K, Yamamoto A, Takahashi K, Iwaki M, Ozaki A, Kasai Y, Nogami A, Honda Y, Ogawa Y, Kato S, Imajo K, **Higurashi T**, Hosono K, Yoneda M, Usuda H, Wada K, Saito S, Nakajima A: The Role of Leaky Gut in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Novel Therapeutic Target . *Int J Mol Sci* . 2021 Jul 29;22(15):8161. doi: 10.3390/ijms22158161.

6.Ashikari K, Nonaka T, **Higurashi T**, Takatsu T, Yoshihara T, Misawa N, Arimoto J, Kanoshima K, Matsuura T, Fuyuki A, Ohkubo H, Chiba H, Nakajima A: Efficacy of sedation with dexmedetomidine plus propofol during esophageal endoscopic submucosal dissection. *J Gastroenterol Hepatol(Journal of gastroenterology and hepatology)*, 2021 Jul, 36(7):1920-1926. doi: 10.1111/jgh.15417. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33506496.

7.Tanabe H, **Higurashi T**, Takatsu T, Misawa N, Yoshihara T, Goto S, Arimoto J, Ashikari K, Taniguchi L, Chiba H, Nakajima A. Effects of colorectal endoscopic submucosal dissection on postoperative abdominal symptoms: a prospective observational study: *Surg Endosc*. 2021 Jan 27. doi: 10.1007/s00464-020-08278-w. Online ahead of print.PMID: 33502617 .

8.Ozaki A, Kessoku T, Kasai Y, Takeda Y, Okubo N, Iwaki M, Kobayashi T, Yoshihara T, Honda Y, Fuyuki A, **Higurashi T**, Ishiki H, Taguri M, Oyamada S, Kobayashi N, Nakajima A, Ichikawa Y: Elobixibat Effectively Relieves Chronic Constipation in Patients with Cancer Regardless of the Amount of Food Intake . *Oncologist* 2021 Jun 27 , doi:10.1002/onco.13879. Online ahead of print.PMID: 34180099 .

9.Miyake S, **Higurashi T**, Kato H, Yamaoka Y, Kessoku T, Kato S, Ogawa F, Oi Y, Nakajima A, Yamamoto T, Takeuchi I, Ryo A, Maeda S: Evaluation of a combination protocol of CT-first triage and active telemedicine methods by a selected team tackling COVID-19: An experimental research study.*Journal of Infection and Public Health*, September 2021, 14(9), 1212-1217,

10.Fuyuki A, **Higurashi T**, Kessoku T, Ashikari K, Yoshihara T, Misawa N, Iwaki M, Kobayashi T, Ohkubo H, Yoneda M, Haruki Usuda, Koichiro Wada, Nakajima A: Efficacy of *Bifidobacterium bifidum* G9-1 in improving quality of life in patients with chronic constipation: a prospective intervention study . *Biosci Microbiota Food Health* , 2021;40(2):105-114. doi: 10.12938/bmfh.2020-073. PMID: 33996367 PMCID: PMC8099630 , Epub 2021 Jan 19.

11.Kuzuu K, Misawa N, Ashikari K, Kessoku T, Kato S, Hosono K, Yoneda M, Nonaka T, Matsushima S, Komatsu T, Nakajima A, **Higurashi T**: Gastrointestinal Cancer Stage at Diagnosis Before and During the COVID-19 Pandemic in Japan . *JAMA Netw Open*, 2021 Sep 1;4(9):e2126334. PMID: 34546368 PMCID: PMC8456386 doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.26334.

12.Tojo K, Sugawara Y, Oi Y, Ogawa F, **Higurashi T**, Yoshimura Y, Miyata N, Hayami H, Yamaguchi Y, Ishikawa Y, Takeuchi I, Tachikawa N, Goto T. The U-shaped association

of serum iron level with disease severity in adult hospitalized patients with COVID-19.

Sci Rep. 2021 Jun 28;11(1):13431. doi: 10.1038/s41598-021-92921-6.

13. Yoshihara T, Kioi M, Baba J, Usuda H, Kessoku T, Iwaki M, Takatsu T, Misawa N, Ashikari K, Matsuura T, Fuyuki A, Ohkubo H, Matsumoto M, Wada K, Nakajima A, Higurashi

T. A prospective interventional trial on the effect of periodontal treatment on *Fusobacterium nucleatum* abundance in patients with colorectal tumours. Sci Rep. 2021

Dec 9;11(1):23719. doi: 10.1038/s41598-021-03083-4.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

|  |                  |
|--|------------------|
| 1. 著者名<br>Kato Shingo, Fushimi Kentaro, Yabuki Yuichiro, Maru Yoshiaki, Hasegawa Sho, Matsuura Tetsuya, Kurotaki Daisuke, Suzuki Akihiro, Kobayashi Noritoshi, Yoneda Masato, Higurashi Takuma, Enaka Makiko, Tamura Tomohiko, Hippo Yoshitaka, Nakajima Atsushi | 4. 巻<br>10       |
| 2. 論文標題<br>Precision modeling of gall bladder cancer patients in mice based on orthotopic implantation of organoid-derived tumor buds  | 5. 発行年<br>2021年  |
| 3. 雑誌名<br>Oncogenesis  | 6. 最初と最後の頁<br>30 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41389-021-00322-1  | 査読の有無<br>有       |
| オープンアクセス<br>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<br>-        |

|  |                    |
|--|--------------------|
| 1. 著者名<br>Higurashi Takuma, Arimoto Jun, Ashikari Keiichi, Takatsu Tomohiro, Misawa Noboru, Yoshihara Tsutomu, Matsuura Tetsuya, Fuyuki Akiko, Ohkubo Hidenori, Nakajima Atsushi | 4. 巻<br>20         |
| 2. 論文標題<br>The efficacy of aspirin and metformin combination therapy in patients with rectal aberrant crypt foci: a double-blinded randomized controlled trial                   | 5. 発行年<br>2020年    |
| 3. 雑誌名<br>BMC Cancer   | 6. 最初と最後の頁<br>1043 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1186/s12885-020-07564-z  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）  | 国際共著<br>-          |

|  |                   |
|--|-------------------|
| 1. 著者名<br>Higurashi Takuma, Arimoto Jun, Ashikari Keiichi, Takatsu Tomohiro, Misawa Noboru, Yoshihara Tsutomu, Matsuura Tetsuya, Fuyuki Akiko, Ohkubo Hidenori, Nakajima Atsushi | 4. 巻<br>20        |
| 2. 論文標題<br>The efficacy of a leukotriene receptor antagonist in the treatment of human rectal aberrant crypt foci: a nonrandomized, open-label, controlled trial                 | 5. 発行年<br>2020年   |
| 3. 雑誌名<br>BMC Cancer   | 6. 最初と最後の頁<br>770 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1186/s12885-020-07266-6  | 査読の有無<br>有        |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）  | 国際共著<br>-         |

〔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<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)   | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)   | 備考 |
|-------------------|-----------------------------|---|----|
| 主たる渡航先の主たる海外共同研究者 | Chan<br><br>(Chan Andrew T) | Massachusetts General Hospital・Clinical Epidemiology and Translational Unit・Professor |    |

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                |                                |  |
|---------|------------------------|--------------------------------|--|
| 米国      | Harvard medical school | Massachusetts general hospital |  |