

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17658

研究課題名(和文)非B非C型肝炎細胞癌の発育進展に関わる新たな細菌を標的とした革新的治療法の開発

研究課題名(英文)Development of new treatments of non-viral hepatocellular carcinoma through targeting microbiota

研究代表者

美馬 浩介(Mima, Kosuke)

熊本大学・病院・特任助教

研究者番号：00546559

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：肝臓は門脈血流を介して腸内細菌にさらされ、T細胞、マクロファージ、NK細胞など多くの免疫細胞が存在する。申請者らは大腸癌肝転移巣に細菌Fusobacterium nucleatumが存在すること、大腸癌肝転移巣にFusobacterium nucleatumが検出された症例は腫瘍内に浸潤するCD8陽性T細胞が有意に少ないことを明らかにした。本研究により、肝細胞癌組織中に好中球、T細胞、マクロファージが存在し、肝細胞癌組織中に好中球やマクロファージが多く存在する症例は予後が不良であり、逆にCD8陽性T細胞が多く存在する症例は良好な予後と関連することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝細胞癌は、本邦はもちろん国際的に罹患数・死亡数が多い癌で、予後不良の疾患である。近年本邦において肝炎ウイルス感染を伴わない肝細胞癌が増加している。本研究により、肝細胞癌組織中の免疫細胞が肝細胞癌の発育進展に重要な役割を果たしていることが明らかとなり、本研究の成果は細菌を標的とした非B非C型肝炎細胞癌の新たな治療法の開発のための有益な情報となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Evidence suggests that the gut microbiome inhibits antitumor immune responses and promotes the development of gastrointestinal cancer. The liver is exposed to bacteria via blood through the portal vein has many immune cells such as T-cells and macrophages. We found that high TAN (tumor associated neutrophils) ($p=0.0398$), low CD8+ cells ($p=0.0275$), and high TAM (tumor associated macrophages) ($p=0.001$) were significantly associated with worse overall survival (OS), and that high TAN ($p=0.010$), and high TAM ($p=0.00125$) were significantly associated with worse disease-free survival (DFS).

研究分野：消化器外科学、外科腫瘍学、腫瘍免疫学

キーワード：肝細胞癌 肝転移 腸内細菌 免疫細胞 フレイル Fusobacterium nucleatum

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌は、本邦はもちろん国際的にも罹患数・死亡数が多い癌で、予後不良の疾患である。肝細胞癌の主な原因は B 型肝炎ウイルスあるいは C 型肝炎ウイルスの持続感染であるが、近年本邦において、肝炎ウイルス感染を伴わない非 B 非 C 型肝細胞癌が増加し、約 20% を占めている。その非 B 非 C 型肝細胞癌の多くが非アルコール性脂肪肝炎由来であると考えられている。癌の発育進展に免疫細胞が重要な役割を果たしており、消化器癌組織中に多く T 細胞が浸潤している症例は良好な予後と関連している(Fridman WH et al. *Nat Rev Cancer* 2012)。これまでの研究で食生活や生活習慣により腸内細菌が変化すること、腸内細菌が抗腫瘍免疫応答を抑制し、消化器癌の発育進展を促進することが明らかになっている。肝臓は門脈血流を介して腸内細菌にさらされ、T 細胞、マクロファージ、NK 細胞など多くの免疫細胞が存在する

わが国では平均余命の延長と高齢者人口の増加に伴い、高齢者の肝細胞癌手術症例が増加している。がん患者は、がんの進行に加えて、加齢、併存疾患、認知機能の低下に伴い、日常生活動作 (activities of daily living; ADLs) が低下することが知られている。申請者らは、日常生活自立度低下やフレイルを有する消化器癌患者は再発リスクが高く、予後不良であることを明らかにした (図 1 : Mima K et al. *Ann Gastroenterol Surg.* 2020; Mima K et al. *Int J Clin Oncol.* 2021; Mima K et al. *J Gastrointest Surg.* 2021)。慢性炎症、低栄養、サルコペニアは宿主免疫の低下と関連していることから

(Zitvogel L et al. *Nat Immunol* 2017)、日常生活自立度低下やフレイルを有する消化器癌患者は抗腫瘍免疫応答が抑制され、癌の再発や進展が促進されている可能性がある。

2. 研究の目的

肝細胞癌組織中の免疫細胞や患者の ADL 低下と関連する細菌を同定し、そのメカニズムを解明することを目的とした。

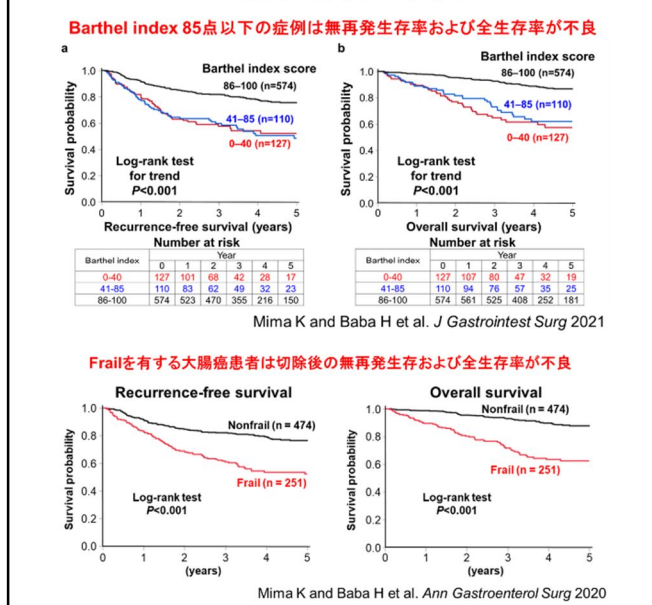
3. 研究の方法

肝細胞癌に対し初回肝切除術を施行した 225 例の臨床検体を用いて、腫瘍周囲に浸潤する腫瘍関連好中球(TAN)や腫瘍関連マクロファージ(TAM)、CD8 陽性リンパ球を免疫組織染色により評価した。ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織から抽出した DNA を用いて細菌および細菌叢の解析を行った。術前 ADLs は Barthel index (0-100 点で点数が高いほど自立している) を用いて評価した。Barthel index 85 点以下を ADL 低下とし、臨床病理学的特徴と治療成績を比較した。

4. 研究成果

肝細胞癌における免疫組織染色を用いた免疫細胞の評価法は確立した。肝細胞癌に対し初回肝切除術を施行した 225 例において、腫瘍周囲に浸潤する腫瘍関連好中球(TAN)や腫瘍関連マク

図 1 : 日常生活自立度低下やフレイルを有する大腸癌患者の予後



ロファージ(TAM)、CD8 陽性リンパ球を免疫組織染色により評価した。腫瘍周囲に浸潤する TAN、TAM が多い症例は有意に予後不良であり、一方 CD8 陽性リンパ球が多い症例は有意に予後良好であった。本研究成果は *Cancer Science* 誌に発表した (Yusa T, Mima K et al. *Cancer Science* 2022)。

術前 ADLs 低下は高齢者と関連を認めた($P<0.001$)。術前 ADLs 低下を有する肝細胞癌患者において手術関連死亡は認めず、術中出血量や術後全合併症 (31% vs. 28%; $P=0.68$) および Grade III 以上の重症合併症発生頻度には差は認めなかったが (15% vs. 13%; $P=0.71$)。ADLs 低下を有する患者は再発に対して再肝切除を施行し得た症例が少なく ($P=0.003$)、全生存率が有意に不良であった(log-rank $P=0.006$)。本研究成果は *Journal of Surgical Oncology* 誌に投稿中である。

FFPE 組織から抽出した DNA を用いた細菌および細菌叢の解析では陽性率が低く、凍結組織を用いた細菌および細菌叢の解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13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 Mima Kosuke, Kosumi Keisuke, Miyanari Nobutomo, Tajiri Takuya, Kanemitsu Kosuke, Takematsu Toru, Inoue Mitsuhiro, Mizumoto Takao, Kubota Tatsuo, Baba Hideo	4. 巻 -
2. 論文標題 Impairment of Activities of Daily Living is an Independent Risk Factor for Recurrence and Mortality Following Curative Resection of Stage I?III Colorectal Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Gastrointestinal Surgery	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/s11605-021-04990-7	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 -
1. 著者名 Borowsky J, Mima K, Ogino S et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Association of Fusobacterium nucleatum with Specific T-cell Subsets in the Colorectal Carcinoma Microenvironment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	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） 10.1158/1078-0432.CCR-20-4009	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 -
1. 著者名 Mima Kosuke, Miyanari Nobutomo, Kosumi Keisuke, Tajiri Takuya, Kanemitsu Kosuke, Takematsu Toru, Inoue Mitsuhiro, Mizumoto Takao, Kubota Tatsuo, Baba Hideo	4. 巻 -
2. 論文標題 The efficacy of adjuvant chemotherapy for resected high-risk stage II and stage III colorectal cancer in frail patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of 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/s10147-021-01876-1	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 -
1. 著者名 Takematsu Toru, Kosumi Keisuke, Tajiri Takuya, Kanemitsu Kosuke, Mima Kosuke, Inoue Mitsuhiro, Mizumoto Takao, Kubota Tatsuo, Miyanari Nobutomo, Baba Hideo	4. 巻 7
2. 論文標題 Surgical resection of a ruptured transverse pancreatic artery aneurysm	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Surgical Case Reports	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） 10.1186/s40792-021-01128-4	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 -

1. 著者名 KOSUMI KEISUKE, MIMA KOSUKE, MORITO ATSUSHI, YUMOTO SHINSEI, MATSUMOTO TAKASHI, INOUE MITSUHIRO, MIZUMOTO TAKAO, KUBOTA TATSUO, MIYANARI NOBUTOMO, BABA HIDEO	4. 巻 41
2. 論文標題 Patient Age and Long-term Survival in Colorectal Cancer Patients Who Undergo Emergency Surgery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1069 ~ 1076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.14864	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 -

1. 著者名 Mima Kosuke, Miyanari Nobutomo, Morito Atsushi, Yumoto Shinsei, Matsumoto Takashi, Kosumi Keisuke, Inoue Mitsuhiro, Mizumoto Takao, Kubota Tatsuo, Baba Hideo	4. 巻 4
2. 論文標題 Frailty is an independent risk factor for recurrence and mortality following curative resection of stage I-III colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery	6. 最初と最後の頁 405 ~ 412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ags3.12337	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 -

1. 著者名 Mima Kosuke, Kosumi Keisuke, Baba Yoshifumi, Hamada Tsuyoshi, Baba Hideo, Ogino Shuji	4. 巻 -
2. 論文標題 The microbiome, genetics, and gastrointestinal neoplasms: the evolving field of molecular pathological epidemiology to analyze the tumor-immune-microbiome interaction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Genetics	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/s00439-020-02235-2	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 -

1. 著者名 Matsumoto Takashi, Mima Kosuke, Ono Asuka, Miyanari Nobutomo, Morito Atsushi, Yumoto Shinsei, Kosumi Keisuke, Inoue Mitsuhiro, Mizumoto Takao, Kubota Tatsuo, Baba Hideo	4. 巻 72
2. 論文標題 Usefulness of laparoscopy in the management of incidentally discovered retroperitoneal liposarcoma mimicking inguinal hernia: A case report and literature review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Surgery Case Reports	6. 最初と最後の頁 79 ~ 84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijscr.2020.05.064	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 -

1. 著者名 Sakamoto Yuki, Mima Kosuke, Imai Katsunori, Miyamoto Yuji, Tokunaga Ryuma, Akiyama Takahiko, Daitoku Nobuya, Hiyoshi Yukiharu, Iwatsuki Masaaki, Nagai Yohei, Baba Yoshifumi, Iwagami Shiro, Yamashita Yo-ichi, Yoshida Naoya, Baba Hideo	4. 巻 35
2. 論文標題 Preoperative C-reactive protein-to-albumin ratio and clinical outcomes after resection of colorectal liver metastases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 243 ~ 248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.suronc.2020.09.014	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 -

1. 著者名 Matsumoto Takashi, Kitano Yuki, Imai Katsunori, Kinoshita Shotaro, Sato Hiroki, Shiraiishi Yuta, Mima Kosuke, Hayashi Hiromitsu, Yamashita Yo-ichi, Baba Hideo	4. 巻 -
2. 論文標題 Clinical significance of preoperative inflammation-based score for the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma who underwent hepatectomy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgery Today	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/s00595-021-02427-x	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 -

1. 著者名 Sakamoto Yuki, Mima Kosuke, Ishimoto Takatsugu, Ogata Yoko, Imai Katsunori, Miyamoto Yuji, Akiyama Takahiko, Daitoku Nobuya, Hiyoshi Yukiharu, Iwatsuki Masaaki, Baba Yoshifumi, Iwagami Shiro, Yamashita Yo ichi, Yoshida Naoya, Komohara Yoshihiro, Ogino Shuji, Baba Hideo	4. 巻 112
2. 論文標題 Relationship between Fusobacterium nucleatum and antitumor immunity in colorectal cancer liver metastasis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4470 ~ 4477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15126	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Sawayama Hiroshi, Miyamoto Yuji, Mima Kosuke, Kato Rikako, Ogawa Katsuhiro, Hiyoshi Yukiharu, Shimokawa Mototsugu, Akiyama Takahiko, Kiyozumi Yuki, Iwagami Shiro, Iwatsuki Masaaki, Baba Yoshifumi, Yoshida Naoya, Baba Hideo	4. 巻 26
2. 論文標題 Preoperative iron status is a prognosis factor for stage II and III colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 2037 ~ 2045
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-021-01995-9	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 -

1. 著者名 Sikavi DR, Nguyen LH, Haruki K, Ugai T, Ma W, Wang DD, Thompson KN, Yan Y, Branck T, Wilkinson JE, Akimoto N, Zhong R, Lau MC, Mima K, Kosumi K, Morikawa T, Rimm EB, Garrett WS, Izard J, Cao Y, Song M, Huttenhower C, Ogino S, Chan AT	4. 巻 12
2. 論文標題 The Sulfur Microbial Diet and Risk of Colorectal Cancer by Molecular Subtypes and Intratumoral Microbial Species in Adult Men	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical and Translational Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 e00338 ~ e00338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14309/ctg.0000000000000338	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 -

1. 著者名 Mima Kosuke, Hayashi Hiromitsu, Nakagawa Shigeki, Matsumoto Takashi, Kinoshita Shotaro, Matsumura Kazuki, Kitamura Fumimasa, Uemura Norio, Nakao Yosuke, Itoyama Rumi, Kaida Takayoshi, Imai Katsunori, Yamashita Yo-ichi, Baba Hideo	4. 巻 26
2. 論文標題 Frailty is associated with poor prognosis after resection for pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1938 ~ 1946
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-021-01983-z	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8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 美馬 浩介、森戸 淳、湯本 信成、松本 嵩史、小澄 敬祐、井上 光弘、水元 孝郎、久保田 竜生、宮成 信友、馬場 秀夫
2. 発表標題 Frailを有するStage II/III大腸癌患者の臨床的特徴と予後の検討
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 美馬 浩介、宮成 信友、森戸 淳、湯本 信成、松本 嵩史、小澄 敬祐、井上 光弘、水元 孝郎、久保田 竜生、馬場 秀夫
2. 発表標題 高齢者やフレイルを有する患者に対する膵切除の安全性の検討
3. 学会等名 第32回日本肝胆膵外科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 美馬 浩介、森戸 淳、湯本 信成、松本 嵩史、小澄 敬祐、井上 光弘、水元 孝郎、久保田 竜生、宮成 信友、馬場 秀夫
2. 発表標題 フレイルを有するStage II/III大腸癌患者に対する術後補助化学療法の有効性の検討
3. 学会等名 第75回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 美馬 浩介、森戸 淳、湯本 信成、松本 嵩史、小澄 敬祐、井上 光弘、水元 孝郎、久保田 竜生、宮成 信友、馬場 秀夫
2. 発表標題 75歳以上の高齢者大腸癌における再発危険因子、予後不良因子の検討
3. 学会等名 第18回日本消化器外科学会大会（JDDW 2020）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kosuke Mima, Nobutomo Miyanari, Atsushi Morito, Shinsei Yumoto, Takashi Matsumoto, Keisuke Kosumi, Mitsuhiro Inoue, Takao Mizumoto, Tatsuo Kubota, Hideo Baba
2. 発表標題 Surgical and oncological outcomes of laparoscopic surgery for colorectal cancer in frail patients
3. 学会等名 第17回世界内視鏡外科学会、第33回日本内視鏡外科学会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kosuke Mima, Katsunori Imai, Shigeki Nakagawa, Takashi Matsumoto, Shotaro Kinoshita, Kazuki Matsumura, Fumimasa Kitamura, Norio Uemura, Takayoshi Kaida, Hiromitsu Hayashi, Yo-ichi Yamashita, Hideo Baba
2. 発表標題 Preoperative impairment of activities of daily living is a risk factor for mortality following resection of hepatocellular carcinoma
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 美馬 浩介、坂本 悠樹、今井 克憲、石本 崇胤、甲斐田 剛圭、中川 茂樹、澤山 浩、林 洋光、宮本 裕士、吉田 直矢、山下 洋市、馬場 秀夫
2. 発表標題 腸内細菌や口腔細菌を標的とした大腸癌術後の縫合不全予防と免疫微小環境を介した肝転移に対する新規予防・治療の可能性
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 遊佐 俊彦、山下 洋市、甲斐田 剛圭、美馬 浩介、中川 茂樹、林 洋光、今井 克憲、馬場 秀夫
2. 発表標題 肝細胞癌における免疫細胞の局在と相互関与が予後に与える影響についての検討
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

〔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
---------	---------