

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：32669

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K08841

研究課題名(和文)大腸菌を中心とした腸内細菌のコリバクチン産生機構の解明

研究課題名(英文)Characterization of commensal colibactin-producing Escherichia coli isolated from colorectal cancer patients

研究代表者

吉川 悠子 (Yoshikawa, Yuko)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・講師

研究者番号：00580523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：一部の大腸菌などから分泌される遺伝毒性物質コリバクチンが、大腸発がんに関する可能性について調査した。大腸がん患者34名から分離した大腸菌729株について、コリバクチン合成遺伝子の有無を調べた結果、11名から450株のコリバクチン産生菌(c**lb**+)を得た。腫瘍部位におけるc**lb**+株の出現率(72.7%, 327/450)は、非腫瘍部位における出現率(44.1%, 123/279)よりも有意に高く、腫瘍部位にc**lb**+株の集積が起きていることが分かった。さらに、c**lb**+株の遺伝子発現解析などにより、コリバクチン産生機構と大腸発がんに関する基礎的な知見を収集することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ここ数年、大腸がんの罹患率は部位別の上位を占め、さらに他のがんと比較すると増加が著しい。腫瘍部位におけるコリバクチン産生菌の優占化および大腸がんや炎症性腸疾患の患者におけるコリバクチン産生菌の高い検出率から、大腸におけるコリバクチンの産生増加が、大腸がんの発生に関連するリスクファクターの一つであることが推測される。それゆえ、本研究の成果はコリバクチン産生菌の大腸粘膜上皮への局所的な集積を防ぐ腸内環境の是正方法やコリバクチン産生の制御法の開発へとつながり、さらにはコリバクチンを精度の高い大腸がんのリスクマーカーとして確立できれば、優れたがんの一次予防戦略と成り得る。

研究成果の概要(英文)：Colibactin is a genotoxin produced by a part of Escherichia coli is often isolated as an intestinal commensal. In this study, to clarify the relationship between commensal E. coli and colibactin production in Japanese colorectal adenocarcinoma, we investigated 729 E. coli strains isolated from tumor and its surrounding non-tumor regions of 34 Japanese colorectal adenocarcinoma patients. A total of 450 c**lb** genes-positive (c**lb**+) strains were isolated from 11 patients. The prevalence of c**lb**+ strains in tumor regions was significantly higher than that in non-tumor regions. In addition, we demonstrated that hemolytic (hemolysin+) c**lb**+ strains were dominant in tumor regions, and these bacteria accelerated the production of N-myristoyl-D-asparagine (N-myristoyl-Asn), a by-product of colibactin biosynthesis. These results suggested that E. coli, equipped with both hemolysin and colibactin, possess an advantage in colorectal colonization and subsequent carcinogenesis.

研究分野：医歯薬学

キーワード：コリバクチン 大腸菌 腸内細菌

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

コリバクチンは宿主細胞の DNA に二本鎖切断を起こし、続いて細胞周期の停止や細胞の多核化を誘導する。これまでに、大腸がんおよび炎症性腸疾患患者において、健常者よりもコリバクチン産生大腸菌の検出率が高いこと、腸管の炎症が亢進しているマウスへのコリバクチン産生大腸菌の感染で、大腸上皮細胞に染色体分配異常が観察されることから、慢性炎症から引き続く大腸がんの発生にコリバクチン産生大腸菌の関与が疑われている。しかし、従来の方法ではコリバクチンの合成は困難であったため、コリバクチンの産生誘導シグナルはおろか、研究開始時点ではその化学構造ですら明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

一部のコリバクチン産生菌は腸内細菌として宿主と共生しており、約 30%の健常人の糞便からも検出されている。菌と宿主細胞とが接触しない限り、コリバクチンの遺伝毒性作用は観察されず、また、実験室における一般的な培養条件下では、一連のコリバクチン生合成遺伝子群の発現は非常に低い。そのため、どのような刺激がコリバクチンの産生誘導や分泌促進の引き金となり、共生菌を病原菌へと転換させるのかについては不明である。そこで本研究では、コリバクチンの産生が盛んであると予想される大腸がん患者から当該菌を分離し、コリバクチン産生誘導シグナルに関与する因子の解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) 大腸がん患者由来コリバクチン産生菌株の分離

大腸がん患者 34 名の組織サンプルは、外科切除時の病理診断後に -70°C で保存されていた残余組織を用いた。大腸組織から DNA を抽出し、3 つのコリバクチン生合成遺伝子 *clbB*、*clbH* および *clbP* について、それぞれに特異的なプライマーを使った PCR にて検出した。さらに、腫瘍部位またはその周囲の非腫瘍部位の組織サンプル 100 mg と 300 μL のリン酸緩衝食塩水とをホモジナイズし、直径 100 μm のメッシュでろ過して得られたろ液を 3 枚のマッコンキー寒天培地に播き(100 μL /枚)、 37°C で一晩培養した。培地上に育成した大腸菌様コロニーを 1 組織サンプルにつき最大 50 コロニーまで無作為に選択し、PCR により菌種同定、大腸菌の系統発生群分類および ERIC プライマーを用いた DNA フラグメント多型解析を行った。溶血性の判定は、血液寒天培地に菌を接種し、 37°C で一晩培養後、培地上に育成したコロニー周囲の溶血環形成の有無で行った。細胞を膨化させる大腸菌の病原性因子である細胞毒性壊死因子(CNF)および細胞壊死性膨化毒素(CDT)は、それぞれに特異的なプライマーを使用した PCR にて遺伝子を検出した。遺伝子欠損株は Gene Bridges 社の Red/ET recombination システムを用いて作製し、PCR にてその遺伝子の全長がないことを確かめた。

(2) コリバクチン産生量の比較

① HeLa 細胞への感染実験

コリバクチン産生大腸菌を培養細胞に MOI : 100 (細胞 1 個に対する菌数 : 100) で 4 時間感染させ、菌を除いて 3 日間培養すると、細胞増殖阻害による多核化、細胞老化による巨細胞化および細胞死による細胞数の減少などの遺伝毒性作用が観察される。病原性因子の有無から選出したコリバクチン産生大腸菌 4 株(ECKW50、ECKW252、ECKW253 および ECKW401)を HeLa 細胞に感染させ、3 日間培養した後の細胞をメチレンブルーで染色し、顕微鏡で観察した。また、観察後に細胞からメチレンブルーを抽出し、OD₆₆₀における吸光度を測定することで、遺伝毒性作用を定量化した。さらに、4 時間の感染終了直後に細胞死が既に起きている像が観察されたため、細胞膜傷害の指標となる乳酸脱水素酵素(LDH)の量も測定した。

② N-ミリストイル-D-アスパラギン(N-myr-Asn)の測定

ClbP は菌の内膜に局在し、ClbM によってペリプラズムに輸送されてきたコリバクチン前駆体をコリバクチンと N-myr-Asn 1 分子ずつに分解する。そこで、N-myr-Asn の産生量を測定することで、間接的にコリバクチン産生量を推定できる。 37°C で 48 時間培養した菌液から N-myr-Asn を塩酸性下酢酸エチルで抽出し、HPLC-MS で分析した。検量線は合成した N-myr-Asn を用いて作成した。ピークの高さはリファレンス($m/z = 343$)のピークの高さで、菌数は OD₅₉₅における濁度でそれぞれ標準化した。クロマトグラムのピーク面積から算出される N-myr-Asn の量について、ECKW1 株の値を 1 とし、株間における N-myr-Asn 産生量を相対的に比較した。

③ コリバクチン産生遺伝子発現の株間比較

各遺伝子の発現解析は、対数増殖期(OD₆₀₀ = 0.4)まで培養した菌液から抽出した RNA と各遺伝子に特異的なプライマーを用いて、リアルタイム PCR にて行った。大腸菌の 16S rRNA (*rrsA*) を内部標準として標的遺伝子の mRNA 量を標準化し、株間における遺伝子発現量の比較を相対的に行った。

本研究は、浜松医科大学(承認番号：G14-260)および静岡県立大学(承認番号：29-26)から倫理的承認を得ている侵襲性と介入のない後ろ向き調査であり、すべて匿名で行われた。ゆえに、書面によるインフォームドコンセントは必要ないが、その代わりに、日本の被験者を含む医療および健康研究のための倫理ガイドラインに従い、研究を示す文書目的と意義を浜松医科大学のウェブサイト(<https://www.hama-med.ac.jp/research/clinical-res/erc/disclosure-info/h26.html>)に掲載している。

4. 研究成果

(1) 大腸がん患者由来コリバクチン産生菌株の分離

① 大腸組織からのコリバクチン産生菌株の分離

ヒトから分離されたコリバクチン産生菌のほとんどが大腸菌であるとのこれまでの報告を基に、腸内細菌から分泌されたコリバクチンが大腸発がんのイニシエーターとして機能するとの仮説の検証を行う上で、まず本研究では、日本人コホートにおけるコリバクチン産生大腸菌と大腸発がんとの関連性について調べた。基本的な患者情報が全て揃っている大腸がん患者 34 名(男性 24 名、女性 10 名、年齢：中央値 72.0 歳)から外科的に採取され、病理学的検査により腫瘍部位またはその周囲の非腫瘍部位と診断された大腸組織サンプルからコリバクチン産生遺伝子群陽性(*clb*⁺)株の分離・同定を試みた(図 1)。その結果、11 名(32.4%)の腫瘍部位から *clb*⁺株を分離した(表 1)。この 11 名中 7 名は非腫瘍部位からも *clb*⁺株が分離された。また、腫瘍部位から得られた全大腸菌 450 株のうち、327 株(72.7%)が *clb*⁺株であったのに対し、非腫瘍部位では 279 株中 123 株(44.1%)と腫瘍部位と比べ有意に *clb*⁺株の出現率が低かった。さらに、分離された *clb*⁺株は全て大腸菌系統発生群 B2 群に分類された(図 2)。

表1. 大腸がん患者からのコリバクチン産生大腸菌分離状況

患者No.	性別	年齢	部位 ^a	深達度 ^b	腫瘍部位由来大腸菌		非腫瘍部位由来大腸菌		その他	
					総数	コリバクチン産生	総数	コリバクチン産生	PCR	溶血
1	F	60-69	C	SS	9	8	0	0	+	+
2	M	70-79	R	MP	1	0	0	0	0	+
3	M	70-79	A	SS	39	22	45	0	0	+
4	M	70-79	A	MP	6	0	9	0	0	+
5	M	70-79	S	SI	0	0	0	0	0	+
6	F	60-69	A	SS	0	0	1	0	0	+
7	F	70-79	A	MP	6	0	0	0	0	-
8	M	60-69	S	SS	6	0	6	0	0	+
9	F	70-79	T	SE	0	0	0	0	0	+
10	M	80-89	A	MP	4	4	0	0	0	+
11	M	70-79	A	SS	18	0	1	0	0	+
12	F	60-69	D	SS	1	1	1	1	+	+
13	F	90-99	C	SS	8	0	0	0	0	-
14	F	50-59	A	SS	1	0	5	0	0	+
15	M	70-79	S	SI	0	0	0	0	0	-
16	M	50-59	D	SS	0	0	0	0	0	+
17	M	60-69	R	SI	50	44	2	1	+	+
18	M	70-79	R	MP	0	0	0	0	0	+
19	M	80-89	C-A	SS	47	43	23	19	+	+/-
20	M	60-69	R	SS	0	0	1	0	0	-
21	M	60-69	C-A	SE	12	0	14	0	0	-
22	M	80-89	R	SS	10	0	5	0	0	-
23	F	50-59	A	SS	0	0	0	0	0	+
24	M	80-89	R	SE	3	0	0	0	0	-
25	F	70-79	S	SM	0	0	0	0	0	-
26	M	70-79	A	SI	49	43	38	2	+	-
27	M	70-79	R	SS	25	25	0	0	0	+
28	F	80-89	S	SE	40	39	50	50	+	+
29	M	60-69	A	SS	2	0	2	0	0	-
30	M	80-89	S	SI	50	50	50	47	+	+
31	M	80-89	S-R	MP	12	0	5	0	0	-
32	M	70-79	R	SS	50	48	3	3	+	-
33	M	70-79	D	SS	1	0	2	0	0	-
34	M	50-59	S	SS	0	0	16	0	0	-
計					450	327*	279	123		64.7%

^a C: 盲腸, A: 上行結腸, T: 横行結腸, D: 下行結腸, S: S状結腸, R: 直腸

^b SM: 粘膜下層浸潤, MP: 筋層浸潤, SS: 漿膜下層浸潤, SE: 漿膜浸潤, SI: 他臓器浸潤

* $p < 0.05$ (腫瘍部位 vs. 非腫瘍部位)

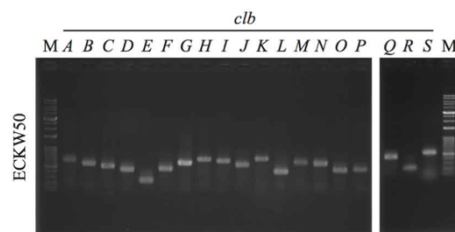


図1. コリバクチン産生遺伝子群(*clbA*~*clbS*)の確認

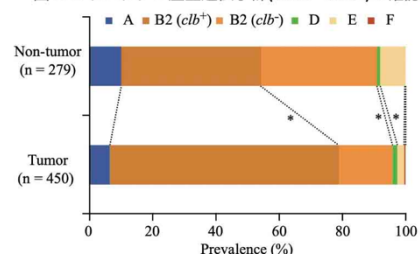


図2. 分離したコリバクチン産生大腸菌の系統発生群別

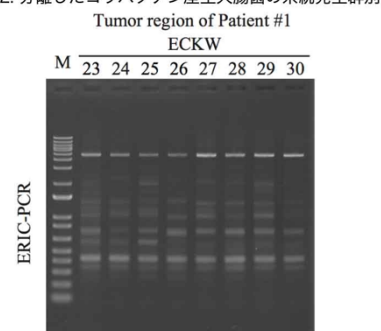


図3. ERIC-PCRによるDNAフラグメント多型解析

② コリバクチン産生大腸菌の遺伝的解析

大腸組織サンプルから得られた *clb*⁺株は分離コロニー数が多くても、同一の起源を持つクローンである可能性がある。よって、これら *clb*⁺株について ERIC-PCR による DNA フラグメント多型解析を行い、菌の遺伝的な多様性について調べた。その結果、同一患者に由来する *clb*⁺株でも予想以上にバンドパターンが異なっており、ある患者由来の *clb*⁺株では 11 グループもの異なる遺伝的背景を持っていることが分かった(図 3)。

コリバクチンによる宿主細胞の形態変化とよく似た現象を起こす大腸菌の病原性因子として、細胞毒性壊死因子(CNF)および細胞壊死性膨化毒素(CDT)がある。*clb*⁺株におけるこれらの病原性因子の有無についても PCR で確認した。その結果、CNF と CDT の両方を併せ持つ株はなかった。また、患者個人ごとに分離された *clb*⁺株における両遺伝子の保有状況は統一されていた。ただし、患者#19 から分離された *clb*⁺ 62 株は、*cnf*⁺*cdt*⁻ 24 株と *cnf*⁺*cdt*⁺ 38 株に分けられた。大変興味深いことに、腫瘍部位における *cnf*⁺*cdt*⁺ 株の出現率(81.4%、35/38)は、非腫瘍部位における出現率(15.8%、3/38)と比べて有意に高かった。一方、非腫瘍部位における *cnf*⁻*cdt*⁻ 株の出現率(84.2%、16/24)は、腫瘍部位における出現率(18.6%、8/24)と比べて有意に高かった。

以上の結果から、以降の実験で株間の比較・検証に用いる *clb*⁺ 4 株(ECKW50 : *cnf*⁺/*cdt*⁻、ECKW252 : *cnf*⁻/*cdt*⁻、ECKW253 : *cnf*⁺/*cdt*⁻、ECKW401 : *cnf*⁻/*cdt*⁺)を選出した。

(2) コリバクチン産生量の比較

① コリバクチン産生大腸菌感染 HeLa 細胞における表現型の比較

コリバクチンと CNF もしくは CDT が共存している場合の宿主細胞の細胞周期の停止や細胞老化への影響の度合いを調べるために、HeLa 細胞への感染実験を行った。*clb*⁺株を HeLa 細胞に 4 時間感染させた後、菌を除去し、さらに 3 日間培養した。その結果、細胞老化の程度は CDT を持つ ECKW401 で有意に低く、CNF を持たない株間(ECKW252 vs ECKW401)でも有意な差がみられた(図 4)。

さらに、ECKW50 および ECKW253 では HeLa 細胞に対する細胞膜障害活性が観察されたため(図 5)、全 *clb*⁺株の溶血性(ヘモリシン産生)の有無を調べた。その結果、溶血性を示す株は全て CNF を保有しており、また、CNF を保有する株は全て溶血性を示した。つまり、(1)–(2)における CNF 保有株の出現頻度の記述は、「溶血性を示す *clb*⁺株の腫瘍部位における出現率は非腫瘍部位における出現率と比べて有意に高く、溶血性を示さない *clb*⁺株の非腫瘍部位における出現率は腫瘍部位における出現率と比べて有意に高い」と言い換えることができる。

そこで、コリバクチンと CNF のどちらが細胞周期の停止や細胞老化の結果生じる細胞膨化現象により強く関与しているのかを明らかにするため、*clbP*を潰したコリバクチン欠損株と *cnf*欠損株を作製し、HeLa 細胞へ感染させた。その結果、コリバクチン欠損株でのみ細胞の膨化が消失した(図 6 : ECKW50)。よって、細胞老化の象徴である細胞の膨化を起こす遺伝毒性物質の本体はコリバクチンであることが示された。

② 間接的なコリバクチン産生量の測定

HeLa 細胞への感染実験において、有意な差は見られないものの溶血性のある ECKW50 および ECKW253 の方が溶血性のない ECKW252 よりも細胞の膨化が進行している傾向にあったことから(図 4)、溶血性の有無により、コリバクチン産生量に差があるかどうかを調べた。N-myr-Asn 産生量を測定すれば、間接的にはあるがコリバクチン産生量が推定できる。そこで、全 *clb*⁺株間で産生量を相対的に比較するために、腫瘍組織から分離された溶血性のある ECKW1 の値を基準(= 1)として N-myr-Asn 産生量を算出した。その結果、分離された組織の性状に関係なく、溶血性のある *clb*⁺株は溶血性のない *clb*⁺株と比べ N-myr-Asn 産生量が有意に多かった(図 7、黒 : ECKW1、緑 : 患者#19 由来株)。つまり、溶血性のある *clb*⁺株ではコリバクチン産生がより盛んに行われていることが推測された。

これまでの結果から、溶血性のある *clb*⁺株はヘモリシンの細胞膜障害活性により炎症を起こして、粘膜上皮の局所を自らが増殖しやすい環境に改変し、定着したその部位で盛んにコリバクチンを産生・分泌することで、結果としてコリバクチが大腸癌のイニシエーターとして機能している可能性が示唆された。

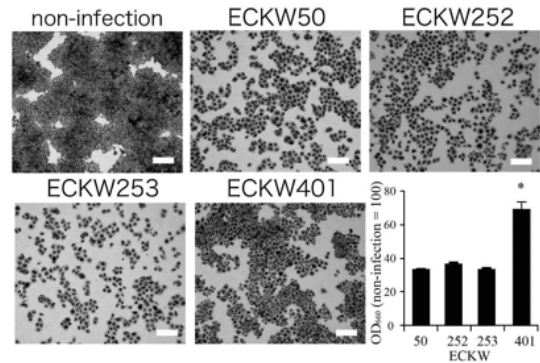


図4. コリバクチン産生菌4時間感染後、3日間培養したHeLa細胞

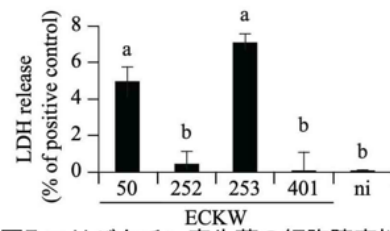


図5. コリバクチン産生菌の細胞障害性

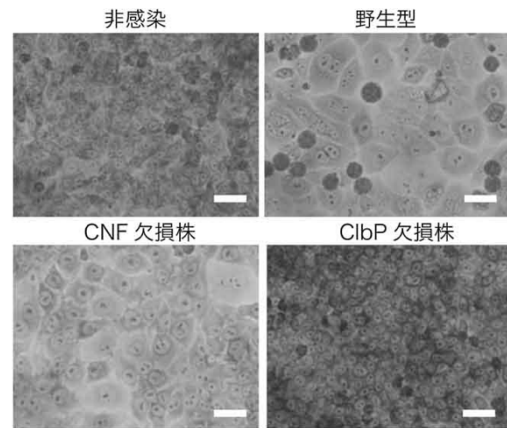


図6. コリバクチン欠損株とCNF欠損株の比較

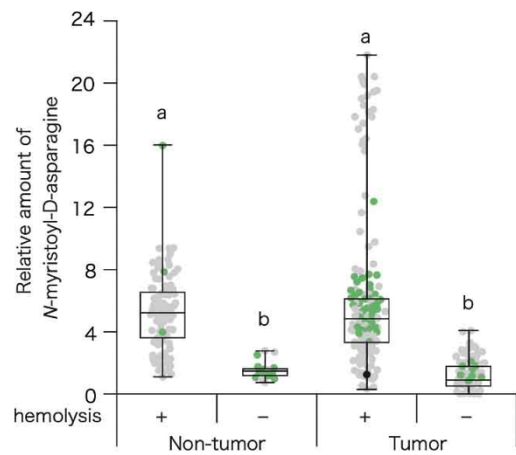


図7. N-myr-Asn産生量の確認

③ コリバクチン産生遺伝子発現の株間比較

溶血性のある *clb*⁺株が腫瘍組織から有意に多く分離され、かつ N-myr-Asn 産生量、つまりコリバクチン産生量が溶血性のない *clb*⁺株より有意に多いことが分かった。そこで、コリバクチン合成遺伝子群のうち、コリバクチンの合成に直接係わる *clbB*、*clbH*および *clbP*、コリバクチン

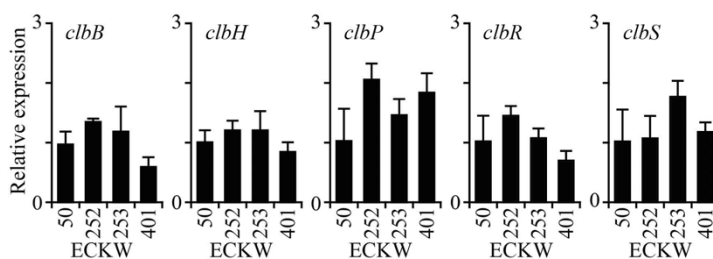


図8. コリバクチン合成遺伝子発現の比較

遺伝子クラスターの発現調節に関与すると考えられている *clbR*、コリバクチンの毒性から菌体自身を保護する *clbS*の5遺伝子の発現を比較した。しかし、予想に反してヘモリシンの有無によりコリバクチン合成遺伝子発現に関する有意な差は見られなかった(図8)。つまり、ヘモリシンやCNFの存在はコリバクチン自体の合成やその遺伝子群の発現などには無関係であることが示唆された。ゆえに、ヘモリシンやCNFは菌体内におけるコリバクチンの輸送に何らかの影響を与えている可能性があり、今後、コリバクチン前駆体のペリプラズムへの輸送に係わる *ClbM* やヘモリシンとCNFの分泌機構に関する分子まで調査範囲に入れる必要がある。また、溶血性のない ECKW252でも溶血性のある *clb*⁺株とほぼ同等の細胞の膨化現象を起こしていることから、ヘモリシンとCNFの産生から分泌へ至る経路に関与する因子が、コリバクチンの分泌制御を乱して *ClbP*によるN-myr-Asnの切断を亢進させている可能性も考えられる。さらに、CDT保有株 ECKW401では、コリバクチン合成遺伝子群の発現が他の株と同等であるにも関わらず、N-myr-Asn産生量および細胞膨化活性が低かったことから、*ClbP*の機能阻害などによるコリバクチンの分泌抑制が起きていることが示唆された。

本研究の結果をまとめると、溶血性のあるコリバクチン産生大腸菌は腫瘍部位に集積しており、宿主細胞に常に遺伝毒性物質を曝露させている可能性が挙げられる。残念ながら、コリバクチン産生菌が積極的に腸管上皮に炎症を起こすのか、それともなんらかの原因で腸管上皮のバリア機能が破綻した場所に定着しやすいのかについては、本研究の成果からでは不明である。しかし、日本人においても腸内細菌として存在しているコリバクチン産生大腸菌がヘモリシンによる炎症を介して大腸発がんに関与しているという可能性の一端を提示できたと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17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 Kawanishi, M., Shimohara, C., Oda, Y., Hisatomi, Y., Tsunematsu, Y., Sato, M., Hirayama, Y., Miyoshi, N., Iwashita, Y., Yoshikawa, Y., Sugimura, H., Mutoh, M., Ishikawa, H., Wakabayashi, K., Yagi, T. and Watanabe, K.	4. 巻 42
2. 論文標題 Genotyping of a gene cluster for production of colibactin and in vitro genotoxicity analysis of Escherichia coli strains obtained from the Japan Collection of Microorganisms.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes and Environment	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41021-020-00149-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 -
1. 著者名 Uchikawa, M., Kato, M., Nagata, A., Sanada, S., Yoshikawa, Y., Tsunematsu, Y., Sato, M., Suzuki, T., Hashidume, T., Watanabe, K., Yoshikawa, Y. and Miyoshi, N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Elevated levels of proinflammatory volatile metabolites in feces of high fat diet fed KK-Ay mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5681
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-62541-7	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 Matsuzaki, K., Iwai, K., Yoshikawa, Y., Shimamura, Y., Miyoshi, N., Hiramoto, S., Asada, K., Fukutomi, R., Su, H. and Ohashi, N.	4. 巻 15
2. 論文標題 Wheat bran intake enhances the secretion of bacteria-binding IgA in a lumen of the intestinal tract by incrementing short chain fatty acid production through modulation of gut microbiota.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Natural Product Communications	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1934578X20917791	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 Sanada, S., Suzuki, T., Nagata, A., Hashidume, T., Yoshikawa, Y. and Miyoshi, N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Intestinal microbial metabolite stercobilin involvement in the chronic inflammation of ob/ob mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6479
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-63627-y	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 Yoshikawa, Y., Tsunematsu, Y., Matsuzaki, M., Hirayama, Y., Higashiguchi, F., Sato, M., Iwashita, Y., Miyoshi, N., Mutoh, M., Ishikawa, H., Sugimura, H., Wakabayashi, K. and Watanabe, K.	4. 巻 73
2. 論文標題 Characterization of colibactin-producing Escherichia coli isolated from Japanese patients with colorectal cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 437-442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2020.066	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 Hirayama, Y., Tsunematsu, Y., Yoshikawa, Y., Tamafune, R., Matsuzaki, N., Iwashita, Y., Ohnishi, I., Tanioka, F., Sato, M., Miyoshi, N., Mutoh, M., Ishikawa, H., Sugimura, H., Wakabayashi, K. and Watanabe, K.	4. 巻 21
2. 論文標題 Activity-Based Probe for Screening of High-Colibactin Producers from Clinical Samples.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 4490-4494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b01345	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 Kawanishi, M., Hisatomi, Y., Oda, Y., Shimohara, C., Tsunematsu, Y., Sato, M., Hirayama, Y., Miyoshi, N., Iwashita, Y., Yoshikawa, Y., Sugimura, H., Mutoh, M., Ishikawa, H., Wakabayashi, K., Yagi, T. and Watanabe, K.	4. 巻 44
2. 論文標題 In vitro genotoxicity analyses of colibactin-producing E. coli isolated from a Japanese colorectal cancer patient.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 871-876
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.44.871	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 Yoshikawa, Y., Murakami, T., Katayanagi, Y., Yasui, K., Ohgo, Y., Imai, S. and Ohashi, N.	4. 巻 13
2. 論文標題 Green soybean extract ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Natural Product Communications	6. 最初と最後の頁 209-212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1934578X1801300223	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 Hashidume, T., Sasaki, K., Hirata, J., Kato, M., Yoshikawa, Y., Iwasaki, Y., Arai, H., Miura, S. and Miyoshi, N.	4. 巻 66
2. 論文標題 Effects of sanyaku and its constituent diosgenin on the fasted and postprandial hypertriacylglycerolemia in high fat diet-fed KK-Ay mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 9968-9975
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jafc.8b03040.	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14件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 吉川悠子, 平山裕一郎, 松崎信生, 東口ふみ, 恒松雄太, 佐藤道大, 三好規之, 岩下雄二, 梶村春彦, 若林敬二, 武藤倫弘, 石川秀樹, 渡辺賢二
2. 発表標題 大腸がん患者から分離した遺伝毒性物質コリバクチン合成遺伝子陽性大腸菌の解析
3. 学会等名 第26回がん予防学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤麻衣, 橋詰力, 庄司豊, 庄司(加藤)久美子, 五十嵐美樹, 早川清雄, 吉川悠子, 三好規之
2. 発表標題 NASH 肝発がんモデルマウスの糞便中揮発性化合物による発がんバイオマーカー探索
3. 学会等名 第26回がん予防学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 恒松雄太, 吉川悠子, 三好規之, 武藤倫弘, 山地太樹, 張萌琳, 岩崎基, 松田尚久, 細見晃司, 國澤純, 若林敬二, 石川秀樹, 渡辺賢二
2. 発表標題 大腸発がんリスク因子コリバクチンの生産性を制御する要因の解明
3. 学会等名 第26回がん予防学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤道大, 平山裕一郎, 恒松雄太, 東口ふみ, 吉川悠子, 三好規之, 岩下雄二, 梶村春彦, 若林敬二, 武藤倫弘, 石川秀樹, 渡辺賢二
2. 発表標題 遺伝毒性物質コリバクチン生産菌の高感度多検体検出法の確立
3. 学会等名 第26回がん予防学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kato, M., Hashidume, T., Shoji, Y., Shoji, K., Igarashi, M., Hayakawa, S., Yoshikawa, Y. and Miyoshi, N.
2. 発表標題 Analysis of fecal gaseous metabolites in NASH-hepatocellular carcinoma model mice.
3. 学会等名 ICoFF2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川悠子, 恒松雄太, 松崎信生, 平山裕一郎, 佐藤道大, 三好規之, 岩下雄二, 梶村春彦, 若林敬二, 渡辺賢二
2. 発表標題 大腸がん患者から分離された遺伝毒性物質コリバクチン陽性菌の解析
3. 学会等名 第91回日本細菌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤麻衣, 橋詰力, 庄司豊, 庄司(加藤)久美子, 五十嵐美樹, 早川清雄, 吉川悠子, 三好規之
2. 発表標題 高脂肪食を摂取したNASH 肝発がんモデルマウス糞便中揮発性化合物の分析
3. 学会等名 第72回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平山裕一郎, 松崎信生, 玉舟亮太, 恒松雄太, 佐藤道大, 吉川悠子, 三好規之, 岩下雄二, 梶村春彦, 若林敬二, 武藤倫弘, 石川秀樹, 渡辺賢二
2. 発表標題 大腸がんリスク因子物質コリバクチンの生産菌検出に関する化学的研究
3. 学会等名 第25回がん予防学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ohashi, S., Hashidume, T., Ishizuka, N., Hayashi, H., Kawarasaki, Y., Watanabe, K, Yoshikawa, Y. and Miyoshi, N.
2. 発表標題 Lipid A biosynthesis in E. coli cultured in metal-depletion.
3. 学会等名 The 4th International Conference on Pharma-Food (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ohashi, S., Hashidume, T., Ishizuka, N., Hayashi, H., Kawarasaki, Y., Watanabe, K, Yoshikawa, Y. and Miyoshi, N.
2. 発表標題 Assay for proinflammatory activity of structurally modified lipid A.
3. 学会等名 第23回 静岡健康・長寿学術フォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 恒松雄太, 平山裕一郎, 梶谷貴洋, 松崎信生, 佐藤道大, 吉川悠子, 三好規之, 若林敬二, 武藤倫弘, 村上晴香, 宮地元彦, 石川秀樹, 渡辺賢二
2. 発表標題 腸内細菌叢を起源とする遺伝毒性物質コリバクチンの科学分析手法の確立と日本人コホートにおける発がんとの関連性の解析
3. 学会等名 がん予防学術大会2017
4. 発表年 2017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
研究 分担 者	三好 規之 (Miyoshi Noriyuki) (70438191)	静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授 (23803)	

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
---------	---------