

令和元年5月28日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19702

研究課題名(和文)革新的治療法開発を目指した消化管術後の腸内細菌叢の網羅的解析

研究課題名(英文)Comprehensive analysis of gut microbiome before and after gastroenterological surgery.

研究代表者

馬場 祥史(BABA, Yoshifumi)

熊本大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：20599708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、消化器癌切除・再建術後のmicrobiomeの変化を網羅的に解析し、体重減少に影響を及ぼすmicrobiomeを同定することである。現在施設倫理委員会の審査を経て、サンプル収集を開始している。現在までに約30例の糞便サンプルの収集を行っており、順次16S rRNAシーケンスに提出している。また、栄養状態を評価するためのデータベースを構築しており、そのデータベースを用いて、術前の栄養状態と腫瘍免疫の関連を明らかにした。全身栄養状態(PNI)が腫瘍局所免疫に影響を与え、予後にも影響を与えるという結果を、Ann Surg誌に投稿し採択された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食道癌、胃癌に対する治療の中心は、今でもなお“手術”である。これらの手術に際して、食道、胃などの臓器温存は難しく、食事の通り道の再建が必要である。しかし、多くの患者において、栄養状態の低下、体重減少により術後の生活の質(quality of life)が著しく損なわれてしまうため、それらを改善する治療法を開発することは喫緊の課題である。腸内細菌叢Microbiomeは、近年、癌、肥満、炎症性腸疾患、非アルコール性脂肪性肝疾患など様々な疾患との関連が報告され、注目を集めている先端性の高い分野である。消化器癌術後のmicrobiomeの変化に関する研究は皆無であり、本研究は極めて独創的である。

研究成果の概要(英文)：The aims of this study are to comprehensively analyze the change of gut microbiome before and after surgical resection in patients with gastrointestinal cancers and to detect the candidate microbiome affecting the body weight loss after surgery. We are collecting feces samples from patients with gastrointestinal cancers with permission of Institutional Review Board. Until now we have collected samples from 30 patients and sequentially submitted to 16S rRNA sequence.

We concurrently constructed the clinical database for evaluating the nutrition status in patients with gastrointestinal cancers. Utilizing this database, we could clarify the relationship between preoperative nutrition status and tumor immunity in gastrointestinal cancers. Nutritional status and systemic immune competence may influence patients' prognosis through the local immune response. These findings were published in Annals of Surgery.

研究分野：消化器癌におけるバイオマーカー開発(遺伝子変異、エピジェネティック変化、腸内細菌叢など)

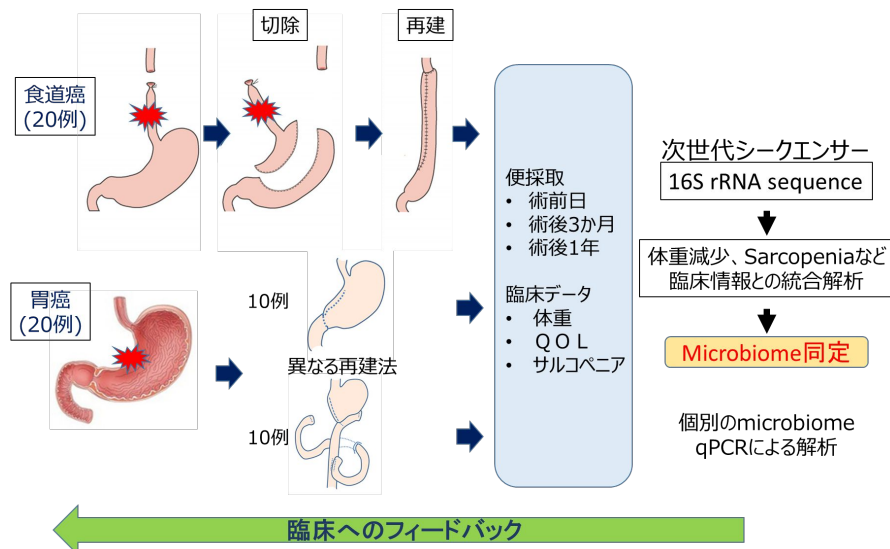
キーワード：腸内細菌叢 消化器癌 胃癌 食道癌 microbiome 体重変化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Microbiomeとは人体に生存する微生物群とその遺伝子および代謝活性の総称である。人体においては、13兆のヒト細胞が130兆の細菌細胞と共存しており、また、2万のヒト遺伝子が、500万~800万の細菌遺伝子、いわゆる microbiome と共存している。Microbiomeは、近年、癌、肥満、炎症性腸疾患、非アルコール性脂肪性肝疾患など様々な疾患との関連が報告され、注目を集めている先端性の高い分野である。Microbiomeの多様性は、体の部位、個人間、年齢、食事などによっても変化し、また時間的にも変化する。これまでに、肥満手術(Bariatric Surgery)術後の microbiome の変化が術後の体重減少に影響を及ぼすということが報告され(Proc Natl Acad Sci U S A. 2009)、それが mouse モデルでの実証されている(Gut. 2011, Sci Transl Med. 2012)。しかし、消化器癌術後の microbiome の変化に関する研究は皆無であった。

がんは我が国の死亡原因の第1位であり、国民の生命及び健康にとって重大な問題である。今後のがん研究のあり方に関する有識者会議においてとりまとめられた「今後のがん研究のあり方について」の中で、充実したサバイバーシップを実現する社会の構築をめざした研究の必要性が提言されている。食道癌、胃癌に対する治療の中心は、今でもなお“手術”である。これらの手術に際して、食道、胃などの臓器温存は難しく、食事の通り道の再建が必要である。しかし、多くの患者において、栄養状態の低下、体重減少により術後の生活の質(quality of life)が著しく損なわれてしまうため、それらを改善する治療法を開発することは喫緊の課題である。本研究は、術後の栄養状態低下の原因となりえる microbiome を同定し、それらの microbiome 群をターゲットとして腸内細菌叢を操作することにより、術後の栄養状態を改善したり、体重減少を防いだりすることができる可能性を模索するトランスレーショナルリサーチである。



2. 研究の目的

本研究の目的は、消化器癌切除・再建術後の microbiome の変化を網羅的に解析し、体重減少に影響を及ぼす microbiome を同定することである。

3. 研究の方法

研究期間内には、食道癌・胃癌に対して切除・再建術を行う患者50例の手術前及び後の糞便からDNAを抽出し、16S rRNA シーケンスにより microbiome の変化を網羅的に評価する。術後の体重変化、quality of life(QOL)、サルコペニアなど臨床データとの統合解析により、これらに影響を与える microbiome 群の同定を行う。それにより、同定された microbiome 群の食道、胃、大腸上皮での生息・分布に関して、quantitative RT-PCR による評価を行う。さらに、それらの microbiome が術前後の体重変化、サルコペニアなどに影響を及ぼすかを、食道癌 300例、胃癌 300例のデータベースで validation する。

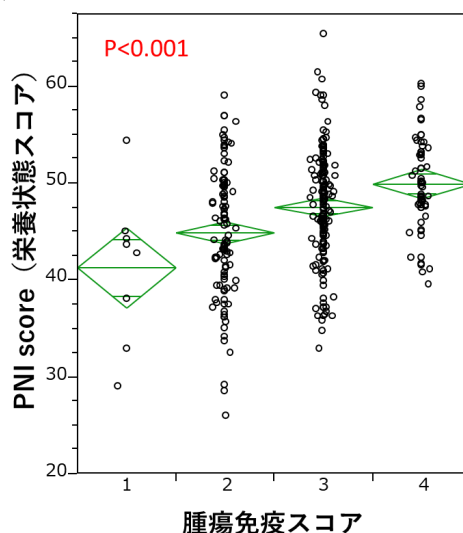
4. 研究成果

現在施設倫理委員会の審査を経て、サンプル収集を開始している。術前、及び術後一年での糞便を検体として使用する予定であり、現在までに約30例の糞便サンプルの収集を行っており、順次 16S rRNA シーケンスに提出している。海外共同研究者である Dana-Farber Cancer Institute の Dr. Shuji Ogino とも適宜連絡を取っており、今後の解析の際には協力を得られる体制である。

また、栄養状態を評価するために、Prognostic Nutritional Index: PNI のデータベースを構築しており、そのデータベースを用いて、術前の栄養状態と腫瘍免疫の関連を明らかにした。2005年2月から2013年6月に食道扁平上皮癌に対して外科的切除が施行された302例を後向

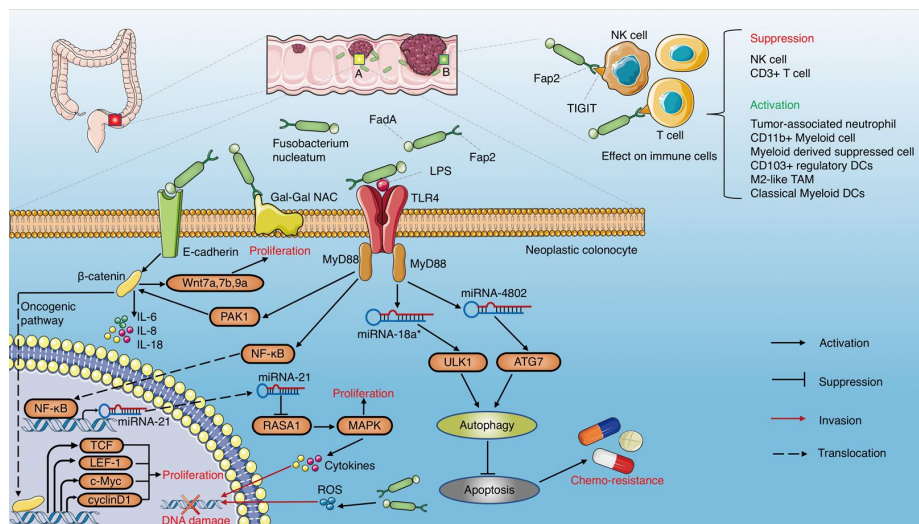
きに検討した。腫瘍局所免疫動態に関しては腫瘍内リンパ球浸潤の程度をスコア化し、high 群 199 例、low 群 103 例に分類した。PNI 低値群 (45 以下; n=104) は高値群 (45 以上; n=198) よりも有意に全生存期間、無再発生存期間が短く (ともに $P < 0.001$)、PNI は食道癌の予後予測因子として有用であった。PNI 低値群では、有意に腫瘍局所リンパ球浸潤が低くなっており ($P < 0.001$)、栄養状態と腫瘍局所免疫応答との関連が示唆された。また、腫瘍内リンパ球浸潤 low 群 (n=103) は、high 群 (n=199) よりも有意に予後不良であり ($P < 0.001$)、腫瘍局所の免疫応答は食道癌進展の制御に寄与していると考えられた。全身栄養状態 (PNI) が腫瘍局所免疫に影響を与え、予後にも影響を与えるという結果を、Ann Surg 誌に投稿し採択された。

栄養状態と腫瘍免疫の関連



また、腸内細菌 *Fusobacterium* に関する review article を執筆し、Journal of Gastroenterology 誌に採択された。

腸内細菌叢 *Fusobacterium* に関する総説



5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

Okadome K, Baba Y, Yagi T, Kiyozumi Y, Ishimoto T, Iwatsuki M, Miyamoto Y, Yoshida N, Watanabe M, Baba H: Prognostic Nutritional Index, Tumor-infiltrating Lymphocytes, and Prognosis in Patients with Esophageal Cancer. Ann Surg. 2018 Oct 10 査読有、オープンアクセスの無、謝辞記載の有 doi: 10.1097/SLA.0000000000002985

Kiyozumi Y, Baba Y, Okadome K, Yagi T, Ishimoto T, Iwatsuki M, Miyamoto Y, Yoshida N, Watanabe M, Komohara Y, Baba H: ID01 Expression Is Associated With Immune Tolerance and Poor Prognosis in Patients With Surgically Resected Esophageal Cancer. Ann Surg.

Ann Surg. 2019 269(6):1101-1108. 査読の有、オープンアクセスの無、謝辞記載の有 doi: 10.1097/SLA.0000000000002754

Liu Y, Baba Y, Ishimoto T, Iwatsuki M, Hiyoshi Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Wu R, Baba H: Progress in characterizing the linkage between *Fusobacterium nucleatum* and gastrointestinal cancer. J Gastroenterol. 2019 Jan;54(1):33-41 査読の有、オープンアクセスの無、謝辞記載の有 doi: 10.1007/s00535-018-1512-9

〔学会発表〕(計3件)

馬場祥史、小澄敬祐、岡留一雄、八木泰佑、清住雄希、江藤弘二郎、日吉幸晴、長井洋平、石本崇胤、岩上志朗、宮本裕士、吉田直矢、馬場秀夫：食道癌における LINE-1 メチル化と腫瘍免疫、第 77 回日本癌学会学術総会、2018 年

馬場祥史、山村謙介、江藤弘二郎、日吉幸晴、長井洋平、岩槻政晃、岩上志朗、宮本裕士、吉田直矢、馬場秀夫：腸内細菌 *Fusobacterium nucleatum* は食道癌に対する化学療法感受性に影響を与える、第 56 回日本癌治療学会学術集会、2018 年

岡留一雄、馬場祥史、八木泰祐、黒田大介、澤山浩、日吉幸晴、岩槻政晃、宮本裕士、吉田直矢、馬場秀夫：食道癌における予後栄養指数 (PNI) と腫瘍局所免疫動態の関連、第 118 回日本外科学会定期学術集会、2018 年

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：美馬 浩介
ローマ字氏名：MIMA Kosuke
所属研究機関名：熊本大学
部局名：医学部附属病院
職名：非常勤診療医師
研究者番号 (8 桁)：00546559

研究分担者氏名：澤 智裕
ローマ字氏名：SAWA Tomohiro
所属研究機関名：熊本大学
部局名：大学院生命科学研究部 (医)
職名：教授
研究者番号 (8 桁)：30284756

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。