

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15800

研究課題名(和文)膵がん患者の腸内細菌叢の解明と治療応用への基盤的研究

研究課題名(英文)Basis for the research of identification of gut microbiota in pancreatic cancer and clinical application

研究代表者

柴 知史(Satoshi, Shiba)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・研究員

研究者番号：00797003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究を通して構築された研究基盤によって、大腸がんに関連する腸内細菌叢について、イタリア及びドイツの研究グループと共同研究を行い、人種間で共通して進行大腸がんの特徴的な腸内細菌叢が存在することを報告した。さらに、多発大腸腺腫や早期大腸がん(粘膜内がん)症例の便中にすでに特徴的な細菌や代謝物質が存在することを世界で初めて明らかにした。また、外科切除による腸内環境の特徴を検討し、胃切除後症例及び大腸切除後症例において腸内環境の変化について纏めて、それぞれの研究成果を報告した。今後は、膵がん患者において特徴的な腸内環境を解明し、抗悪性腫瘍剤の治療反応性との関連など臨床応用を目指す研究を進めていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通して、健康な方や疾患を有する方の便サンプルを用いて腸内細菌叢及び腸内代謝物質を解析することで、疾患に特有の腸内環境を明らかにし、臨床情報との関連を結び付ける研究基盤を確立した。今後は、特定の疾患や治療に関連する腸内環境を解明し、早期診断や治療に役立つバイオマーカーの開発、さらに、腸内細菌や腸内代謝物質を利用した新たな創薬への展開も期待される。

研究成果の概要(英文)：We have established a basis for the research of gut microenvironment in cancer patients, and reported a novel research that specific gut microbiota exist in individuals with advanced colorectal cancer regardless of race, collaborating with research groups in Italy and Germany. Furthermore, we have revealed that unique gut microenvironment (specific microbiota and metabolite) are found in patients with multiple colon polyps or intramucosal carcinoma for the first time in the world. At the same time, we also investigated how gastric or colorectal surgery affect gut environment, and summarized the change of gut microenvironment after surgery and reported a novel discovery in international journals.

In the future, using collected samples from patients with pancreatic cancer, we are going to elucidate the gut microenvironment in pancreatic cancer comparing with the previous report, and then promote clinical application based on our past achievements in parallel.

研究分野：腫瘍内科

キーワード：マイクロバイオーーム メタボローム 腸内細菌 腸内代謝物質 がん

1. 研究開始当初の背景

肺がん、大腸がん、乳がん、肝がん、膵がん等の主要ながん組織のゲノム解析がほぼ完了し、がん患者の常在菌叢研究が課題となりつつある。消化器・呼吸器・皮膚等には、多種多様な微生物が共存し、それぞれの部位に特徴的な細菌叢と呼ばれる生態系が形成されている。従来、細菌叢を構成する微生物を解析するためには、個々に培養・増殖させる必要があったが、人為的な培養が難しい微生物が多く、全体像を解明することは極めて困難であった。しかし近年、培養の過程を経ずに、細菌叢から DNA を丸ごと抽出し、構成するゲノム配列を直接シーケンス解析することで、群集構造を明らかにし、これらの細菌叢の変動や環境との相互作用を解明することが可能となった。このような手法は「メタゲノム解析」と呼ばれ、次世代シーケンサーの登場、ならびに情報解析技術の向上により、これまで未踏の領域であった腸内細菌叢の全ゲノム解析が飛躍的に進歩した (The Human Microbiome Project Consortium, Nature 2012)

一方で、ある種の腸内細菌種が、薬剤の治療効果及び副作用といった治療反応性と深く関わっていることが海外で報告されはじめ、我々のグループにおいても抗悪性腫瘍剤の治療反応性に腸内細菌種が関与していることを示唆するデータを確認した。さらに、特定の腸内細菌種が 5-FU 製剤の代謝経路に作用し、5-FU の治療反応性に深く関わっていることが報告された (Scott et al. Cell 2017, Garcia-Gonzalez et al. Cell 2017)。

こうした基礎研究レベルでの報告から、抗悪性腫瘍剤による治療効果および副作用の発現に個体差が生じる要因の一つとして、個々の腸内細菌叢の差異による可能性が考えられている。

2. 研究の目的

研究開始当初は、膵がん患者を対象として、当該患者の腸内細菌叢の特徴と 5-FU 経口製剤である S-1 の有効性および副作用発現と関連する腸内細菌種を明らかにし、治療反応性の予測だけでなく、患者の腸内細菌叢のプロファイルに合わせて、治療効果を高め、副作用を抑える個別化治療への研究基盤を確立することを研究開始当時の目的とした。しかしながら、研究の進捗は概ね順調であったものの、研究期間中に膵がん患者における腸内細菌叢シグネチャーが報告 (Nagata N, et al. Gastroenterology 2022) されたため、本研究の対象を膵がん患者のみとせず、健常者、大腸腺腫及び大腸がん患者、胃がん患者ならびに抗悪性腫瘍剤を投与する予定の進行がん患者等へ対象を拡大し、研究の方向性を若干修正した。

以上より、本研究では、がん患者の腸内細菌叢シグネチャーを明らかにして、治療経過に伴う腸内細菌叢の変化、抗悪性腫瘍剤の治療反応性と関連する細菌種の同定など、がん患者の臨床的な背景に関連する腸内細菌叢の網羅的な解析及び比較を行い、将来、臨床応用へ発展させる研究基盤を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

国立がん研究センター中央病院へ受診された患者さんを対象とし、研究代表者らが直接、患者さんへ本研究の説明を行い、同意を得られた患者さんを被験者として登録する。登録された患者さんから、便サンプル、生活習慣に関わるアンケート冊子を収集する。

本研究において、ターゲットとしている腸内細菌は、疾患に特異的な細菌群や抗悪性腫瘍剤の治療効果及び副作用の発現に関与する細菌群である。これらのサンプルから細菌由来の DNA を抽出し、メタゲノム解析 (全ゲノムショットガンシーケンス) を行う。さらに、同時に採取した別の便サンプルを用いて、包括的な腸内代謝物質メタボローム解析を行う。これらの解析によって得られた腸内環境の情報と、当該患者の臨床情報、アンケート情報等のメタデータを連結させ、それぞれの疾患及び患者背景に特徴的な腸内環境を明らかにし、抗悪性腫瘍剤の治療効果及び副作用の発現の有無に関連する細菌種及び代謝物質を同定する。

さらに、同定された細菌群集の全ゲノム配列から代謝酵素などの機能を予測し、メタボローム解析による代謝物質検出を組み合わせることで、抗悪性腫瘍剤の治療効果と関連する細菌、ならびにその代謝経路の同定を目指す。

4. 研究成果

本研究を含め、構築された研究基盤によって、大腸がんに関連する腸内細菌叢について、イタリア及びドイツの研究グループと共同研究を行い、人種間で共通して進行大腸がんの特徴的な腸内細菌群が存在することを報告した (Thomas AM, Shiba S, et al. Nat Med 2019, Wirbel J, Shiba S, et al. Nat Med 2019)。さらに、多発大腸腺腫や早期大腸がん (粘膜内がん) 症例の便中にすでに特徴的な細菌や代謝物質が存在することを世界で初めて明らかにした (Yachida S,

Shiba S, et al. *Nat Med* 2019)。最近では、外科切除による腸内環境の特徴を検討し、胃切除後症例及び大腸切除後症例において腸内環境の変化について纏めて、それぞれの研究成果を報告した (Erawijantari PP, Shiba S, et al. *Gut* 2020, Shiroma H, Shiba S, et al. *mSystems* 2022)。

発がんリスクとの関係に加えて、がんにおける個別化治療の最適化にメタゲノム解析を応用することを目指し、抗悪性腫瘍剤による副作用が、特定の腸内細菌の存在によって軽減される可能性についても研究を進めている。

今後は、これまでの研究成果と実績を元に、新たなバイオマーカーによる症例層別化や副作用軽減により患者負担を減らすことを目的として、免疫チェックポイント阻害剤などの抗悪性腫瘍剤による治療反応性と腸内細菌叢の関係に着目し、臨床応用へ発展させる研究を計画している。近い将来、臨床研究による検証を行うことができれば、Microbiome-based precision medicine として、免疫チェックポイント阻害剤や抗悪性腫瘍剤を適切に用いるべき患者集団を選定することで患者負担の軽減や医療経済への貢献が期待される。また、治療効果が高く、副作用が少ない患者群の腸内環境と食生活等との関連を明らかにできれば、「治療反応性腸内環境」を誘導する細菌芽胞カプセルなどの新たな創薬への展開も期待される。

以下に、本研究期間中に発表した論文について記載する。

発表論文一覧

Thomas AM, Manghi P, Asnicar F, Pasolli E, Armanini F, Zolfo M, Beghini F, Manara S, Karcher N, Pozzi C, Gandini S, Serrano D, Tarallo S, Francavilla A, Gallo G, Trompetto M, Ferrero G, Mizutani S, Shiroma H, Shiba S, Shibata T, Yachida S, Yamada T, Wirbel J, Schrotz-King P, Ulrich CM, Brenner H, Arumugam M, Bork P, Zeller G, Cordero F, Dias-Neto E, Setubal JC, Tett A, Pardini B, Rescigno M, Waldron L, Naccarati A, Segata N. Metagenomic analysis of colorectal cancer datasets identifies cross-cohort microbial diagnostic signatures and a link with choline degradation. *Nat Med* 2019;25(4):667-678.

Wirbel J, Pyl PT, Kartal E, Zych K, Kashani A, Milanese A, Fleck JS, Voigt AY, Palleja A, Ponnudurai R, Sunagawa S, Coelho LP, Schrotz-King P, Vogtmann E, Habermann N, Niméus E, Thomas AM, Manghi P, Gandini S, Serrano D, Mizutani S, Shiroma H, Shiba S, Shibata T, Yachida S, Yamada T, Waldron L, Naccarati A, Segata N, Sinha R, Ulrich CM, Brenner H, Arumugam M, Bork P, Zeller G. Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer. *Nat Med* 2019;25(4):679-689.

Yachida S, Mizutani S, Shiroma H, Shiba S, Nakajima T, Sakamoto T, Watanabe H, Masuda K, Nishimoto Y, Kubo M, Hosoda F, Rokutan H, Matsumoto M, Takamaru H, Yamada M, Matsuda T, Iwasaki M, Yamaji T, Yachida T, Soga T, Kurokawa K, Toyoda A, Ogura Y, Hayashi T, Hatakeyama M, Nakagama H, Saito Y, Fukuda S, Shibata T, Yamada T. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer. *Nat Med* 2019;25(6):968-976.

Erawijantari PP, Mizutani S, Shiroma H, Shiba S, Nakajima T, Sakamoto T, Saito Y, Fukuda S, Yachida S, Yamada T. Influence of gastrectomy for gastric cancer treatment on faecal microbiome and metabolome profiles. *Gut* 2020;69(8):1404-1415.

Yamamoto S, Kato K, Daiko H, Kojima T, Hara H, Abe T, Tsubosa Y, Nagashima K, Aoki K, Mizoguchi Y, Kitano S, Yachida S, Shiba S, Kitagawa Y. Feasibility study of nivolumab as neoadjuvant chemotherapy for locally esophageal carcinoma: FRONTIER (JCOG1804E). *Future Oncol* 2020;16(19):1351-1357.

Shiroma H, Shiba S, Erawijantari PP, Takamaru H, Yamada M, Sakamoto T, Kanemitsu Y, Mizutani S, Soga T, Saito Y, Shibata T, Fukuda S, Yachida S, Yamada T. Surgical Treatment for Colorectal Cancer Partially Restores Gut Microbiome and Metabolome Traits. *mSystems* 2022;7(2): e0001822. doi: 10.1128/msystems.00018-22. Epub 2022 Mar 21.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yamamoto Shun, Kato Ken, Daiko Hiroyuki, Kojima Takashi, Hara Hiroki, Abe Tetsuya, Tsubosa Yasuhiro, Nagashima Kengo, Aoki Kazunori, Mizoguchi Yukihiro, Kitano Shigehisa, Yachida Shinichi, Shiba Satoshi, Kitagawa Yuko	4. 巻 16
2. 論文標題 Feasibility study of nivolumab as neoadjuvant chemotherapy for locally esophageal carcinoma: FRONTIER (JCOG1804E)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Future Oncology	6. 最初と最後の頁 1351 ~ 1357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2217/fon-2020-0189	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Erawijantari Pande Putu, Mizutani Sayaka, Shiroma Hirotsugu, Shiba Satoshi, Nakajima Takeshi, Sakamoto Taku, Saito Yutaka, Fukuda Shinji, Yachida Shinichi, Yamada Takuji	4. 巻 69
2. 論文標題 Influence of gastrectomy for gastric cancer treatment on faecal microbiome and metabolome profiles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gut	6. 最初と最後の頁 1404 ~ 1415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/gutjnl-2019-319188	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 Wirbel Jakob, Shiba Satoshi, et al.	4. 巻 25
2. 論文標題 Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Medicine	6. 最初と最後の頁 679 ~ 689
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41591-019-0406-6	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 該当する

1. 著者名 Thomas Andrew Maltez, Shiba Satoshi, et al.	4. 巻 25
2. 論文標題 Metagenomic analysis of colorectal cancer datasets identifies cross-cohort microbial diagnostic signatures and a link with choline degradation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Medicine	6. 最初と最後の頁 667 ~ 678
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41591-019-0405-7	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 該当する

1. 著者名 Yachida Shinichi, Shiba Satoshi, et al.	4. 巻 25
2. 論文標題 Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Medicine	6. 最初と最後の頁 968 ~ 976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41591-019-0458-7	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 Shiroma Hirotsugu, Shiba Satoshi, Erawijantari Pande Putu, Takamaru Hiroyuki, Yamada Masayoshi, Sakamoto Taku, Kanemitsu Yukihide, Mizutani Sayaka, Soga Tomoyoshi, Saito Yutaka, Shibata Tatsuhiro, Fukuda Shinji, Yachida Shinichi, Yamada Takuji	4. 巻 7
2. 論文標題 Surgical Treatment for Colorectal Cancer Partially Restores Gut Microbiome and Metabolome Traits	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 mSystems	6. 最初と最後の頁 00018-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/msystems.00018-22	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 高丸博之, 柴 知史, 坂本 琢, 山田真善, 斎藤 豊
2. 発表標題 便メタゲノムおよびメタボローム解析による大腸多段階発癌における腸内微生物叢・微小環境の特徴と可能性
3. 学会等名 2020年度日本消化器関連学会 (JDDW 2020)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamamoto S, Kato K, Daiko H, Kojima T, Hara H, Abe T, Tsubosa Y, Kawakubo H, Fujita T, Fukuda T, Kadowaki S, Tsushima T, Hamamoto Y, Nagashima K, Aoki K, Mizoguchi Y, Kitano S, Yachida S, Shiba S, Kitagawa Y
2. 発表標題 FRONTiER: A feasibility trial of nivolumab with neoadjuvant CF or DCF therapy for locally advanced esophageal carcinoma (JCOG1804E) - The short-term results of cohort A and B.
3. 学会等名 2021 Gastrointestinal Cancers Symposium. (国際学会)
4. 発表年 2020年 ~ 2021年

1. 発表者名 高丸博之, 柴 知史, 谷内田 真一, 斎藤 豊
2. 発表標題 便マルチオミクス解析による大腸多段階発癌 における腸内微生物叢・微小環境の特徴と可能性
3. 学会等名 第28回日本遺伝性腫瘍学会学術集会
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
---------	---------