

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19586

研究課題名(和文)革新的治療法開発を目指した腸内細菌叢とサルコペニアの網羅的解析

研究課題名(英文)Comprehensive analysis of gut microbiome and sarcopenia in gastrointestinal cancers

研究代表者

馬場 秀夫 (Baba, Hideo)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授

研究者番号：20240905

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：癌患者における腸内細菌は非常に注目を集める研究分野であるが、サルコペニア及び栄養状態との関連を明らかにするのが本研究の目的である。まず、栄養状態を評価するために、全身栄養状態のデータベースを構築し、そのデータベースを用いて、Prognostic Nutritional Indexが腫瘍局所免疫に影響を与え、予後にも影響を与えることを世界で初めて明らかにした。同時に、microbiomeデータ、サルコペニアデータの集積が完成しつつあり、今後、統合解析を行う予定である。また、臨床データで得られた結果を基礎的実験で検証すべく、腸内細菌を用いた実験系(in vitro)も確立することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸内細菌叢microbiomeは薬剤などにより後天的に変化させうるものであり、疾患治療のターゲットとしてもきわめて有望である。高齢化が進む日本において“サルコペニア”が深刻な健康問題となってきている。今回の研究で得られるであろう、癌患者におけるmicrobiomeとsarcopenia、栄養状態の関係に関する結果は臨床応用に直結する可能性があり、創薬へ向けた橋渡し研究として極めて意義深いものである。

研究成果の概要(英文)：Research into the microbiome is a rapidly advancing field in human cancers. The aim of this study is to clarify the relationship between sarcopenia, nutritional status and microbiome in gastrointestinal cancers. First, we constructed the database of nutritional status and showed that prognostic nutritional index (PNI; nutritional status) was significantly associated with tumor-infiltrating lymphocytes status (tumor immunity). Nutritional status and systemic immune competence may influence patients' prognosis through the local immune response. Now we have just constructed the database of sarcopenia (using SYNAPSE VINCENT) and microbiome (using 16s sequence) and started to perform the comprehensive analyses.

研究分野：外科腫瘍学、腫瘍免疫学

キーワード：腸内細菌叢 栄養状態 食道癌 腫瘍免疫 sarcopenia

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 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。Microbiome は、近年、癌、肥満、炎症性腸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。個人間の細菌構成の多様性は驚くほど大きい、それが宿主に同じような作用を及ぼす(表現型模写)ということも分かっている。つまり、microbiome は後天的に変化させるものであり、疾患治療のターゲットとしてもきわめて有望である。実際、このヒト腸内微生物群の次世代シーケンシング解析を、健康・疾病モニタリングや創薬に活かすことを目指すベンチャー企業が多数誕生している。人体に有益な腸内細菌叢ならびにこれらを含む食品・製品を「プロバイオティクス(Probiotics)」といい、腸内細菌叢のバランスを改善する作用がある物質を「プレバイオティクス(Prebiotics)」と呼ぶが、プロバイオティクスやプレバイオティクスに着目した疾病治療に関わる研究開発が極めて注目を集めている。

「第3次対がん10か年総合戦略」において取り組んで来たがんの死亡率を減少させるための治療法開発について、今後もより一層強力に推進することが今後のがん研究として重要である。高齢化が進む日本において“サルコペニア”が深刻な健康問題となってきている。サルコペニアは、身体的な障害や生活の質の低下、および死などの有害な転帰のリスクを伴う、進行性および全身性の骨格筋量および骨格筋力の低下を特徴とする症候群である。高齢者では、筋蛋白質同化刺激による筋蛋白質の合成促進反応と分解抑制反応が減弱しているため、サルコペニアが進行する。近年では悪性疾患に関連するサルコペニアが注目を集めており、サルコペニアががん悪液質の本態であり、がん患者の予後をきわめて正確に予測する指標であることが明らかにされている。高齢者のがんに関する研究は、ライフステージやがんの特性に着目した重点研究領域となっており、身体機能の低下や他疾患の併存など若年者とは異なった特性を踏まえた適切な治療法を確立することが喫緊の課題である。高齢化が進む日本においてサルコペニアが深刻な健康問題となってきており、がん患者におけるサルコペニアの実態を明らかにすることは高齢者ががんの特性解明に繋がる臨床的意義が極めて高い研究であると考えられる。

私達は、「消化器癌の進行に伴い腸内 microbiome が変化し、低栄養状態・サルコペニアの発症・進行につながるというオリジナルの仮説」を考え、本研究構想に至った。microbiome はがん以外の領域においても重要な問題であることから、本研究は microbiome に関わる他領域の研究者にとっても有益なデータをもたらすことが予想される。

2. 研究の目的

本研究の目的は、“低栄養状態”もしくは“サルコペニア”をきたした消化器癌患者の microbiome を網羅的に解析し、“低栄養状態”、“サルコペニア”に影響を及ぼす microbiome を同定することである。これらをターゲットとして微生物を操作することにより、“サルコペニア”を改善しうる可能性があり、非常に革新的かつ臨床応用可能な研究になると考えられる。

3. 研究の方法

(1) sarcopenia

食道癌・胃癌患者の CT 画像における骨格筋量を SYNAPSE VINCENT (FUJIFILM) で測定。

(2) 栄養状態データベース

食道癌 500 例・胃癌患者 500 例における栄養状態データベースを構築。mGPS [modified Glasgow Prognostic Score], CONUT [controlling nutritional status], PNI [Prognostic Nutritional Index]などの指標を用いて評価できるデータベースとした。

(3) microbiome

食道癌・胃癌患者の術前、術後(1か月、6か月)における糞便を採取し解析用に保存。それらの患者の糞便からの PowerMag Microbiome RNA / DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Inc.)を用いて DNA の抽出を行った。16S rRNA 領域プライマーを設計し、MicroSeq® 500 16S rDNA PCR Kit を用いて PCR 増幅を行い、次に、次世代シーケンサー(PRISM 3100 Genetic Analyzer)により塩基配列を決定した。現在、そのデータを海外共同研究者である Dana-Farber Cancer Institute の Dr. Shuji Ogino と相談しながらデータ化しているところである。

4. 研究成果

食道癌栄養データベースを用いて、PNI に関する予備解析を行ったところ、PNI と腫瘍浸潤リンパ球(腫瘍免疫)に関して興味深い結果が得られた。そこで、PNI と腫瘍免疫に関して詳細な検討を行うこととした。PNI 高リスク症例(PNI 40 以下)は低リスク症例よりも有意に予後不良であり、PNI が食道癌の予後予測マーカーとして有用であることを確認した(図1)。腫瘍内リンパ球浸潤(TIL)が、PNI(栄養状態)及び血中のリンパ球数と有意に相関することを世界で初めて明らかにした(図2)。また、腫瘍内リンパ球 low 群は、high 群よりも有意に予後不良であり、腫瘍局所免疫応答が食道癌進展の制御に寄与していることが示唆された。さらに、PNI 低リスク症例に限定した解析でも、腫瘍内リンパ球浸潤 low は独立した予後予測因子であった。これらの研究成果を Annals of surgery 誌に報告した。

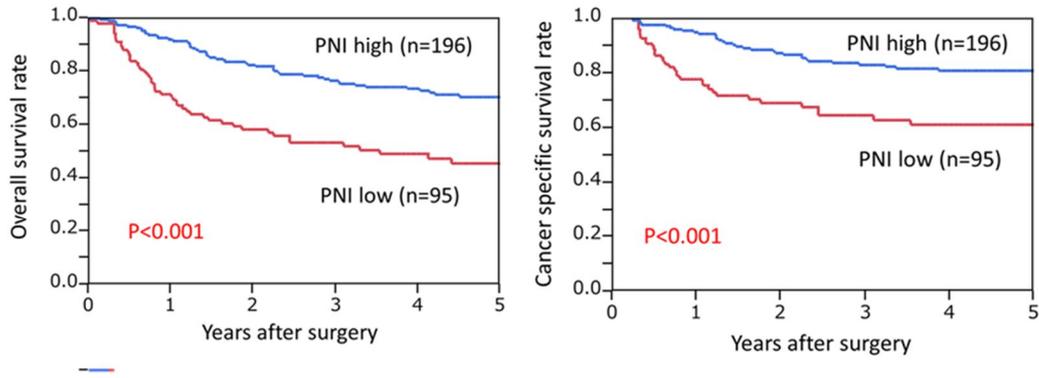


図1：食道癌において栄養状態は予後に影響を及ぼす

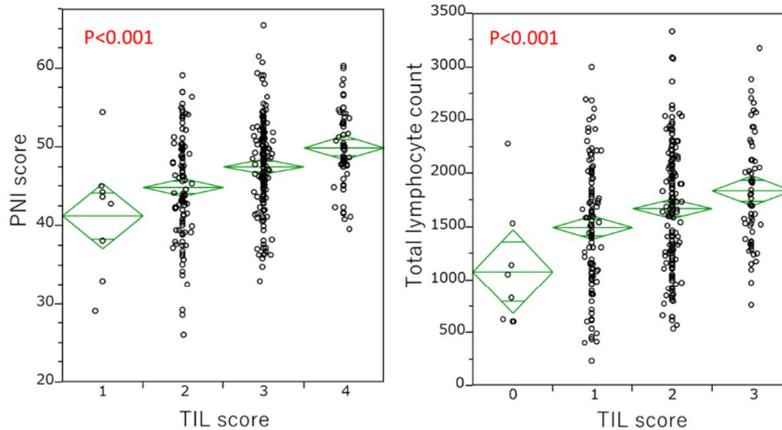


図2：腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)は栄養状態、血中リンパ球数と有意に相関する

並行して、サルコペニアデータベース構築も進めた。CT画像における骨格筋量をSYNAPSE VINCENT (FUJIFILM)で測定した。食道癌300例、胃癌300例程度のデータを測定している。microbiomeデータに関しては、現在、海外共同研究者であるDana-Farber Cancer InstituteのDr. Shuji Oginoと相談しながらデータ化しているところである。今後、栄養データベース、サルコペニアデータベース、microbiomeデータベースの統合解析を行っているところである。

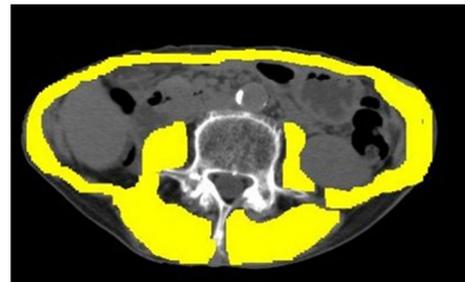


図3：CTによるサルコペニア測定

また、私たちは並行してmicrobiomeがどのように栄養状態、腫瘍免疫に影響を及ぼすのかを明らかにするために基礎的実験を行うこととした。Fusobacteriumは主に口腔内に生息するmicrobiomeの一種で、歯周病の原因菌として知られているが、大腸癌の発癌・浸潤へ関与することが示されていた。我々は、食道癌325症例のFusobacterium nucleatum (F. nucleatum)のDNA量を定量リアルタイムPCR法にて測定し、F. nucleatum陽性症例が有意に予後不良であることを明らかにしており (Yamamura K, Baba Y et al. Clin Cancer Res 2016)、Fusobacteriumを用いたin vitro実験を開始した。

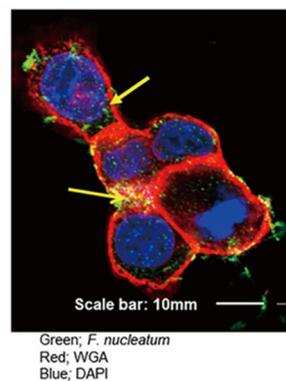
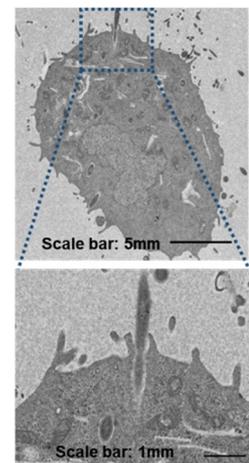


図4：Fusobacteriumと食道癌細胞株の共培養



今後、臨床データベースで得られた結果を基礎的実験 (in vitro, in vivo) で検証することを考えており、それが創薬に繋がる橋渡し研究として重要であると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Haruki K, Kosumi K, Hamada T, Baba Y, Ogino S et al.	4. 巻 250
2. 論文標題 Association of autophagy status with amount of Fusobacterium nucleatum in colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 397 ~ 408
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.5381	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 Okadome Kazuo, Baba Yoshifumi, Yagi Taisuke, Kiyozumi Yuki, Ishimoto Takatsugu, Iwatsuki Masaaki, Miyamoto Yuji, Yoshida Naoya, Watanabe Masayuki, Baba Hideo	4. 巻 271
2. 論文標題 Prognostic Nutritional Index, Tumor-infiltrating Lymphocytes, and Prognosis in Patients with Esophageal Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 693 ~ 700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SLA.0000000000002985	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 Okadome Kazuo, Baba Yoshifumi, Baba Hideo	4. 巻 270
2. 論文標題 Response to Comment on "Prognostic Nutritional Index, Tumor-infiltrating Lymphocytes, and Prognosis in Patients With Esophageal Cancer"	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 e105 ~ e106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SLA.0000000000003342	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, Sakamoto Yuki, Kosumi Keisuke, Ogata Yoko, Miyake Keisuke, Hiyoshi Yukiharu, Ishimoto Takatsugu, Iwatsuki Masaaki, Baba Yoshifumi, Iwagami Shiro, Miyamoto Yuji, Yoshida Naoya, Ogino Shuji, Baba Hideo	4. 巻 32
2. 論文標題 Mucosal cancer-associated microbes and anastomotic leakage after resection of colorectal carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 63 ~ 68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.suronc.2019.11.005	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 Liu Y, Baba Y, Ishimoto T, Iwatsuki M, Hiyoshi Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Wu R, Baba H.	4. 巻 54(1)
2. 論文標題 Progress in characterizing the linkage between Fusobacterium nucleatum and gastrointestinal cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Gastroenterol	6. 最初と最後の頁 33-41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-018-1512-9	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 Okadome Kazuo, Baba Yoshifumi, Yagi Taisuke, Kiyozumi Yuki, Ishimoto Takatsugu, Iwatsuki Masaaki, Miyamoto Yuji, Yoshida Naoya, Watanabe Masayuki, Baba Hideo	4. 巻
2. 論文標題 Prognostic Nutritional Index, Tumor-infiltrating Lymphocytes, and Prognosis in Patients with Esophageal Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 1~1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SLA.0000000000002985	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 Kiyozumi Yuki, Baba Yoshifumi, Okadome Kazuo, Yagi Taisuke, Ishimoto Takatsugu, Iwatsuki Masaaki, Miyamoto Yuji, Yoshida Naoya, Watanabe Masayuki, Komohara Yoshihiro, Baba Hideo	4. 巻
2. 論文標題 IDO1 Expression Is Associated With Immune Tolerance and Poor Prognosis in Patients With Surgically Resected Esophageal Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 1~1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SLA.0000000000002754	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 Liu Yang, Baba Yoshifumi, Ishimoto Takatsugu, Iwatsuki Masaaki, Hiyoshi Yukiharu, Miyamoto Yuji, Yoshida Naoya, Wu Rong, Baba Hideo	4. 巻 54
2. 論文標題 Progress in characterizing the linkage between Fusobacterium nucleatum and gastrointestinal cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 33~41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-018-1512-9	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 該当する

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小澄敬祐、馬場祥史、山村謙介、岡留一雄、八木泰佑、清住雄希、岩槻政晃、長井洋平、吉田直矢、馬場秀夫
2. 発表標題 食道癌コホートをを用いたFusobacterium nucleatumと腫瘍免疫の統合解析
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野元大地、馬場祥史、秋山貴彦、岡留一雄、山下晃平、坂本悠樹、大徳暢哉、織田枝里、内原智幸、徳永竜馬、原田和人、山村謙介、江藤弘二郎、日吉幸晴、長井洋平、岩槻政晃、石本崇胤、岩上志朗、宮本裕士、吉田直矢、馬場秀夫
2. 発表標題 Fusobacterium nucleatumの食道癌進展への関与とそのメカニズム；腫瘍免疫、NF- κ B経路との関連
3. 学会等名 第30回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 美馬浩介、坂本悠樹、江藤弘二郎、日吉幸晴、今井克憲、岩槻政晃、石本崇胤、岩上志朗、馬場祥史、宮本裕士、山下洋市、吉田直矢、馬場秀夫
2. 発表標題 大腸癌肝転移巣における細菌Fusobacterium nucleatumとCD8陽性T細胞数との関連
3. 学会等名 第40回癌免疫外科研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原田和人、織田枝里、馬場祥史、長井洋平、宮本裕士、石本崇胤、岩槻政晃、吉田直矢、Jaffer A. Ajani、馬場秀夫
2. 発表標題 上部消化管腺癌における腫瘍内Fusobacterium nucleatumと予後
3. 学会等名 第73回日本食道学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 馬場祥史、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
2. 発表標題 Fusobacterium nucleatumはautophagyを介して食道癌の化学療法感受性に影響を及ぼす
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本悠樹、美馬浩介、秋山貴彦、大徳暢哉、日吉幸晴、今井克憲、岩槻政晃、岩上志朗、馬場祥史、宮本裕士、山下洋市、吉田直矢、馬場秀夫
2. 発表標題 大腸癌肝転移形成と細菌Fusobacteriumの関連 Relationship between colon cancer liver metastasis formation and bacteria Fusobacterium
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 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
2. 発表標題 食道癌におけるLINE-1メチル化と腫瘍免疫
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 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
2. 発表標題 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
3. 学会等名 第56回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 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
2. 発表標題 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
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018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	馬場 祥史 (Baba Yoshifumi) (20599708)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	
研究分担者	石本 崇胤 (Ishimoto Takatsugu) (00594889)	熊本大学・病院・特任准教授 (17401)	
研究分担者	美馬 浩介 (Mima Kosuke) (00546559)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	
研究分担者	原田 和人 (Harada Kazuto) (70608869)	熊本大学・病院・特任助教 (17401)	
研究分担者	今村 裕 (Imamura Yu) (70583045)	公益財団法人がん研究会・有明病院 消化器外科・医長 (72602)	