

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16750

研究課題名(和文) 消化器癌大規模コホートをを用いたがん代謝を標的とする革新的新規治療の開発

研究課題名(英文) Development of the innovative new treatments targeting cancer metabolism utilizing large GI cancer cohorts

研究代表者

小澄 敬祐 (KOSUMI, Keisuke)

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：50594884

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)：腫瘍微小環境では、がん代謝・腫瘍免疫・微生物は複雑なネットワークを形成し癌進展に寄与する。本研究の目的は、日米の消化器癌データベースを用い、がん代謝・腫瘍因子・腫瘍免疫・マイクロバイオームの解析を行い、新規治療・予防開発に寄与する事である。本研究では、腫瘍内Fusobacterium nucleatum (Fn) が腫瘍内peritumoral lymphocytic reaction・末梢血%Lymphocyteと有意な逆相関を示し、Fnが局所及び全身のリンパ球浸潤を制御する可能性が示唆された。また、がん代謝関連マーカーLSD1と有意な相関を認め、Fnとがん代謝の関連も示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、腫瘍微小環境においてがん代謝・腫瘍免疫・微生物がどのように関連し癌進展に寄与するかを明らかにすべく、グローバルかつ膨大な消化器癌データベースを用い検討を行った。腫瘍内Fusobacterium nucleatumが腫瘍免疫及びがん代謝に関連する可能性が示唆され、今後の発癌予防および免疫を介したがん治療に寄与できる可能性が示唆された。

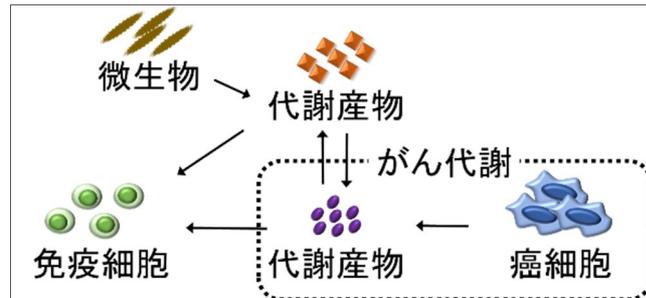
研究成果の概要(英文)：The aim of the current study is to contribute to the development of the innovative new treatments targeting cancer metabolism utilizing large GI cancer cohorts. We found that the amount of intratumoral Fusobacterium nucleatum DNA is associated with a diminished peritumoral lymphocytic reaction and peripheral lymphocyte. We also found the significant association between Fusobacterium nucleatum and LSD1 expression. Our findings support the possible influence of intratumoral Fusobacterium nucleatum on anti-tumor immunity and cancer metabolism.

研究分野：外科腫瘍学

キーワード：消化器癌 腫瘍微小環境 がん代謝 腫瘍免疫 マイクロバイオーム バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

悪性新生物は本邦の死因第一位で、消化器癌が多くを占める。様々な研究により多くの治療法が開発されているが、消化器癌の予後は未だ不良である。多くの癌研究領域の中で“がん代謝”は、癌の新規治療の標的として特に注目される (Deininger MWN. Nat Rev Cancer 2017)。癌細胞は Warburg effect (解糖系亢進・酸化的リン酸化抑制) を形成し、腫瘍進展に有利な環境を自ら創出する。また、腫瘍細胞からできる乳酸は、腫瘍微小環境内における免疫回避、マクロファージの M2-like state (癌促進に寄与) 誘導に関与しうる (Dart A. Nat Rev Cancer 2016)。がん代謝は腫瘍浸潤と共に腫瘍免疫にも関連すると推察できる。一方、次世代シーケンサーによる解析結果から、消化器癌における微生物の重要性が増している。がん代謝の観点から特に重要なのは、微生物の代謝産物 (酢酸・酪酸等) が腫瘍細胞のエネルギー源となり、腫瘍促進に寄与しうる事である (Routy B. Nat Rev Clin Oncol 2018)。がん代謝は腫瘍免疫のみならず微生物とも複雑なネットワークを形成し癌進展に寄与すると考えられ (左図) がん代謝の更なる解明は免疫治療を含めた様々な新規治療開発に繋がる。



2. 研究の目的

本研究の目的は、熊本大学消化器外科学、Dana-Farber Cancer Institute の消化器癌データベースを対象に、がん代謝マーカー・腫瘍因子・腫瘍免疫・マイクロバイオームの解析を行い、新規予後予測マーカー・治療法・癌予防法の開発に寄与する事である。

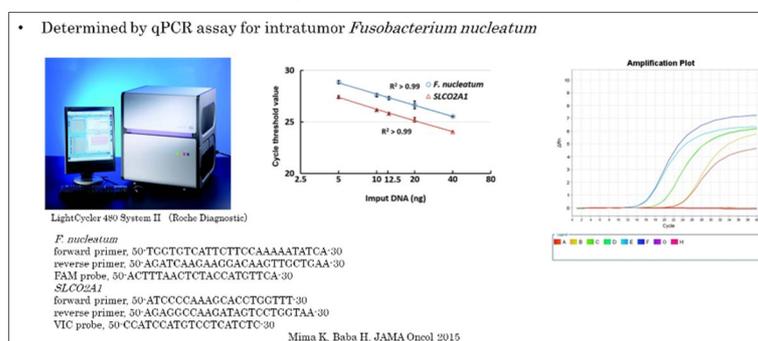
3. 研究の方法

熊本大学消化器外科学、Dana-Farber Cancer Institute の所有する消化器癌臨床検体を対象に下記解析を行った。

(1) 消化器癌臨床検体におけるがん代謝関連マーカーの解析
消化器癌において重要ながん代謝関連マーカー (LSD1 [KDM1A]、NRF2 [NFE2L2]) の発現レベルを免疫染色により評価した。
消化器癌癌部と正常部を対象にメタボローム解析を行い、消化器癌組織中の全代謝産物 (蛋白質、アミノ酸、脂肪酸等) を網羅的に解析、癌部特異的な代謝産物を特定する。

(2) 消化器癌臨床検体における腫瘍免疫関連マーカーの解析
PD-1/PD-L1 の発現解析...PD-1、PD-L1 の免疫染色を行い、腫瘍における発現レベルを評価した。
免疫細胞の解析...癌部のリンパ球浸潤はがん患者の予後と相関する可能性がある。HE 染色後、癌部のリンパ球浸潤の種類・程度を評価した。

(3) 消化器癌臨床検体におけるマイクロバイオーム解析
消化器癌で注目される *Fusobacterium genus* の腫瘍内存在量を qPCR で測定した。



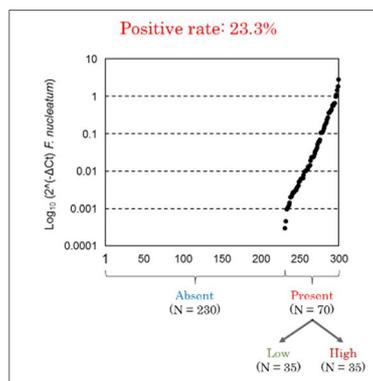
(4) 消化器癌臨床検体における Genetic/epigenetic change の解析
消化器癌で重要な Genetic change (*PIK3CA*・*KRAS*・*BRAF* 変異等) Epigenetic change (LINE-1 methylation level 等) を解析する。

4. 研究成果

熊本大学消化器外科学で手術した食道癌臨床検体 300 例を対象に検討を行った。

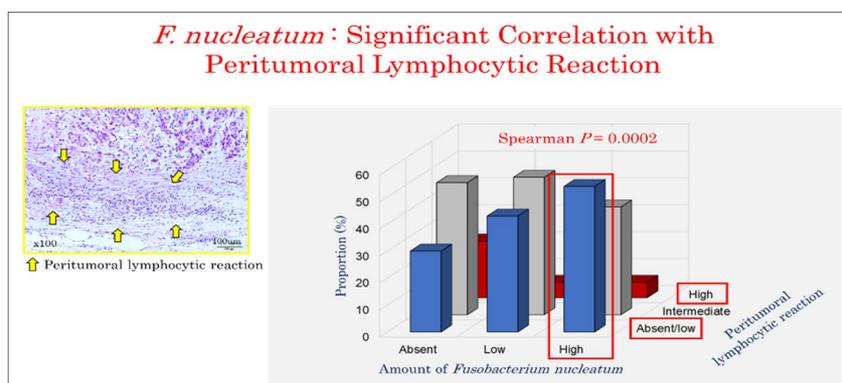
(1) 腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* 量の測定

腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* 量を、FFPE より抽出した食道癌癌部 DNA を用い qPCR で測定した。HE 染色スライドを用い、リンパ球浸潤形式として、follicle lymphocytic reaction、peritumoral lymphocytic reaction、stromal lymphocytic reaction、tumor-infiltrating lymphocytes を評価した。腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* 量とリンパ球浸潤・治療前の末梢血液データの関連を、順序ロジスティック解析モデルを用いて解析した。腫瘍内 Fn 陽性率は約 20% だった (右図)。

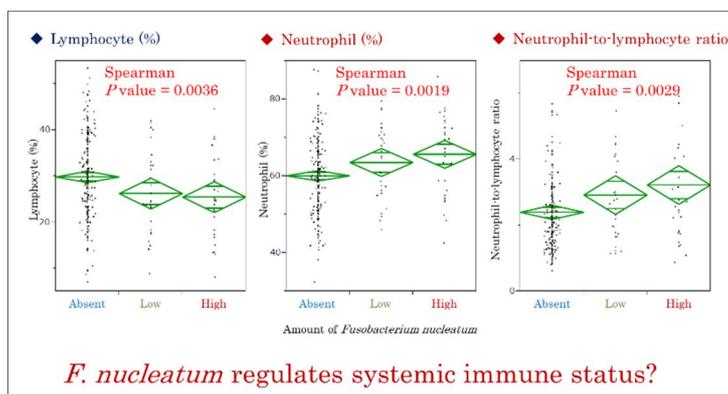


(2) 腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* 量と臨床病理学的因子の関連解析

Fusobacterium nucleatum は、病期と有意に相関した ($P < 0.05$)、*Fusobacterium nucleatum* は peritumoral lymphocytic reaction と有意な逆相関を示した ($P < 0.05$ 、右図)。*Fusobacterium nucleatum*-absent 群に対する odds ratio は、多変量解析で *Fusobacterium nucleatum*-low 群 0.57、*Fusobacterium nucleatum*-high 群 0.34 だった。



Fusobacterium nucleatum と末梢血液データとの関連を解析した結果、*Fusobacterium nucleatum* は %Neutrophil・NLR と有意な正の相関 ($P < 0.05$)、%Lymphocyte とは有意な逆相関を示した ($P < 0.05$)。



以上より、食道癌において腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* は腫瘍内 peritumoral lymphocytic reaction・末梢血 %Lymphocyte と有意な逆相関を示し、食道癌において *Fusobacterium nucleatum* が局所及び全身のリンパ球浸潤を制御する可能性が示唆された。本結果を、学会にて報告した。

(3) 腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* 量とライフスタイルに関する解析

飲酒・喫煙などのライフスタイルが食道癌発癌寄与すると考えられている。飲酒・喫煙が食道粘膜上の *Fusobacterium nucleatum* を増加させ発癌・癌進展に寄与すると仮説を立て検証した。しかし、本研究において腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* とアルコール摂取量および喫煙 (Brinkman Index) に有意な相関は認めなかった。また、肥満度の指標である Body mass index とも有意な相関は認めなかった。

(4) 術前治療による腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* 量への影響に関する検討

様々な治療により消化管内の細菌叢は変化する可能性があり、腫瘍微小環境内においてその可能性はある。化学療法や化学放射線療法が腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* に影響を与えるという仮説を立て検討を行った。pT 別に腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* と術前治療内容の関連を検討すると、pT1・pT3・pT4 では術前に化学放射線治療が行われている症例で腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* が多い傾向にあった。

(5) 腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* 量とがん代謝関連因子の検討

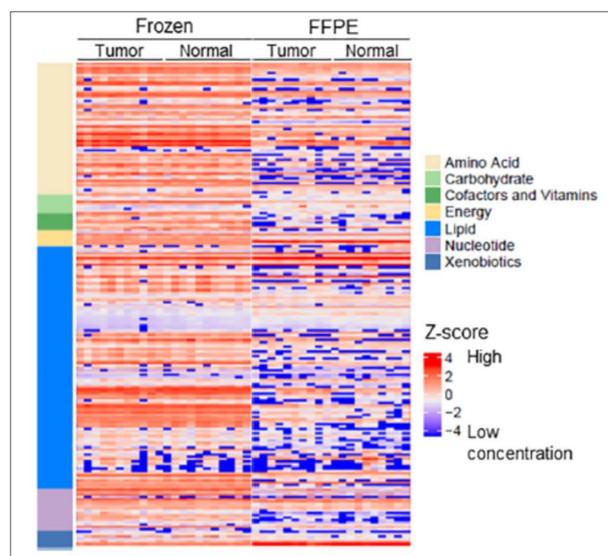
腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* とがん代謝 (NRF2・LSD1・SUVmax) の関連を検討した。腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* と癌細胞における NRF2 の発現レベルおよび SUVmax に有意な相関を認めなかったが、腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* は LSD1 発現レベルと有意に正の相関を示した (P<0.05)。食道癌において LSD1 はがん代謝に関連する可能性があり (Kosumi K. Int J Cancer 2015)、腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* が食道癌がん代謝に寄与する可能性をサポートするデータと考えられる。

(6) 閉塞性大腸癌における検討

ライフスタイルの欧米化に伴い大腸癌の罹患数は急激に増えており、時に緊急手術となることがある。大腸癌緊急手術症例は予後であり、その大腸癌緊急手術症例における予後規定因子を検討し、その結果を報告した。また、閉塞を伴う閉塞性大腸癌においてその腸内細菌叢は大きく変動していると考えられる。閉塞性大腸癌における腸管減圧法と病理学的悪性度に関して検討を行い、その結果を報告した。

(7) FFPE サンプルおよび凍結サンプルを用いたメタボローム解析の検討

FFPE サンプルを用いたメタボローム解析の有用性を明らかにすべく検討を行った。Dana-Farber Cancer Institute の所有する消化器癌臨床検体を対象に、同一症例における FFPE サンプルと凍結サンプルのメタボローム解析結果を比較解析した。FFPE では 200 種類、凍結サンプルでは 536 種類の代謝産物が検出された。その内、15 種類の代謝産物において正常部 vs. 癌部の変動が一致した。特に分岐アミノ酸が癌部で著名に上昇していた。FFPE サンプルを用いたメタボローム解析は凍結サンプルの結果を完全に再現するものではないが、一部では同じ傾向を示し、その有用性を示すことができた。以上の結果を報告した (Arima K, Kosumi K. Mol Cancer Res 2020、右図)。



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 4件/うちオープンアクセス 2件）

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/anticancer.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, 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 該当する
1. 著者名 Kosumi Keisuke, Hayashi Hiromitsu, Baba Hideo	4. 巻 8
2. 論文標題 Significance of long-term surveillance for branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasms from the perspective of molecular pathological epidemiology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 977 ~ 977
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/atm-20-2206	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 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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Haruki K, Kosumi K (Co-first), Li P, Arima K, Vayrynen JP, Lau MC, Twombly TS, Hamada T, Glickman JN, Fujiyoshi K, Chen Y, Du C, Guo C, Väyrynen SA, Dias Costa A, Song M, Chan AT, Meyerhardt JA, Nishihara R, Fuchs CS, Liu L, Zhang X, Wu K, Giannakis M, Nowak JA, Ogino S	4. 巻 122(9)
2. 論文標題 An integrated analysis of lymphocytic reaction, tumour molecular characteristics and patient survival in colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1367-1377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0780-3	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 Arima K, Lau MC, Zhao M, Haruki K, Kosumi K, Mima K, Gu M, Vayrynen JP, Twombly TS, Baba Y, Fujiyoshi K, Kishikawa J, Guo C, Baba H, Richards WG, Chan AT, Nishihara R, Meyerhardt JA, Nowak JA, Giannakis M, Fuchs CS, Ogino S	4. 巻 18(6)
2. 論文標題 Metabolic Profiling of Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissues Discriminates Normal Colon from Colorectal Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Research	6. 最初と最後の頁 883-890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1541-7786.MCR-19-1091	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 Haruki K, Kosumi K, Hamada T, Twombly TS, Vayrynen JP, 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 Baba Y, Yagi T, Kosumi K, Okadome K, Nomoto D, Eto K, Hiyoshi Y, Nagai Y, Ishimoto T, Iwatsuki M, Iwagami S, Miyamoto Y, Yoshida N, Komohara Y, Watanabe M, Baba H	4. 巻 106
2. 論文標題 Morphological lymphocytic reaction, patient prognosis and PD-1 expression after surgical resection for oesophageal cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 British Journal of Surgery	6. 最初と最後の頁 1352 ~ 1361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bjs.11301	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3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, 森戸淳, 湯本信成, 松本嵩史, 美馬浩介, 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 高齢化社会を念頭においた大腸癌Oncologic emergency手術例の検討
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 小澄敬祐, 森戸淳, 湯本信成, 松本嵩史, 美馬浩介, 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 Oncologic emergencyを伴う大腸癌緊急手術症例におけるDICの臨床学的意義
3. 学会等名 第28回日本消化器関連学会週間JDDW
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小澄敬祐, 馬場祥史, 山村謙介, 野元大地, 岡留一雄, 八木泰佑, 清住雄希, 江藤弘二郎, 日吉幸晴, 石本崇胤, 岩槻政晃, 長井洋平, 岩上志朗, 宮本裕士, 吉田直矢, 渡邊雅之, 馬場秀夫
2. 発表標題 食道癌における腫瘍内Fusobacterium nucleatumと腫瘍免疫の関連解析
3. 学会等名 第27回日本消化器関連学会週間 JDDW. 2019
4. 発表年 2019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
---------	---------