

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17623

研究課題名(和文)大腸癌患者におけるサルコペニアと腸内細菌の関連

研究課題名(英文) Relationship between human microbiota and sarcopenia in colorectal cancer patients

研究代表者

坂本 悠樹 (Sakamoto, Yuki)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員

研究者番号：70867192

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)：大腸癌肝転移組織から抽出したDNAを用いて口腔内常在菌であるFusobacterium nucleatum (F. nucleatum)の存在解析を行い、腫瘍免疫との関連を評価した。

約4.5%にF. nucleatumが認められ、F. nucleatum陽性症例は腫瘍免疫を主に担当する細胞傷害性T細胞数が有意に少なく、その抑制に関与する骨髄由来抑制細胞が多く認められることを明らかにした。また細胞傷害性T細胞数が少ない症例は有意に肝切除後の無再発生存率が不良であり、F. nucleatumが大腸癌肝転移巣において腫瘍免疫を抑制し予後不良に寄与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの研究でヒト口腔内常在菌であるFusobacterium nucleatum (F. nucleatum)が大腸癌の発育・進展を促進することが示唆され、肝転移巣にもF. nucleatumが認められることが明らかになった。今回の研究結果からF. nucleatumは大腸癌肝転移組織においても骨髄由来抑制細胞を介して細胞障害性T細胞を抑制し、予後不良に寄与していることが示唆され、この知見は腸内細菌を標的とした新たな大腸癌治療戦略の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Accumulating evidence links the intestinal microbiota and colorectal carcinogenesis. Fusobacterium nucleatum (F. nucleatum) has been shown to potentiate colorectal tumor growth and inhibit antitumor immune responses. Emerging evidence demonstrates an enrichment of Fusobacterium species in colorectal cancer liver metastasis (CRLM).

We measured the amount of F. nucleatum DNA in 181 CRLM tissues using a quantitative PCR assay. The density of CD8+ T-cells and myeloid derived suppressor cell (MDSC)s in CRLM was determined by immunohistochemical staining. F. nucleatum was detected in 8 (4.4%) of 181 CRLM cases. A higher density of CD8+ T-cells in CRLM was significantly associated with better relapse-free survival. F. nucleatum - positive cases were significantly associated with low density of CD8+ T-cells. Compared with F. nucleatum-negative cases with high CD8+ T cells infiltration, F. nucleatum-positive cases were significantly associated with higher density of MDSCs.

研究分野：消化器外科学

キーワード：大腸癌 肝転移 腸内細菌 腫瘍免疫 Fusobacterium

1. 研究開始当初の背景

本邦における大腸癌の罹患数および死亡数は増加している。大腸癌患者の約半数が罹病期間中に肝転移を生じると報告されており、大腸癌の治療成績の向上のためには大腸癌肝転移に対する治療戦略の向上が必要である。

大腸癌患者の約40%が加齢による筋力・身体機能の低下を伴う病態であるサルコペニアを有しており、サルコペニアが術後合併症発生率の増加、化学療法中の重度有害事象の発生、予後不良に関連している。最新の研究で腸内細菌が代謝産物である短鎖脂肪酸などを介して骨格筋量減少と関連することが報告されている。また、これまでの研究でヒト口腔内常在菌である *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*)が大腸癌の発育・進展を促進することが示唆され、肝転移巣にも *F. nucleatum* が認められることが明らかになった。マウスモデルにおいて、*F. nucleatum* を移植すると大腸癌で腫瘍免疫抑制性細胞である骨髄由来抑制細胞や癌関連マクロファージが誘導されることが報告されているが、大腸癌肝転移組織においては明らかになっていない。

2. 研究の目的

大腸癌切除症例のサルコペニアや腸内細菌、腫瘍免疫について解析を行い、サルコペニアや腸内細菌を標的とした新たな大腸癌の治療戦略を開発へつなげることを目的とした。

3. 研究の方法

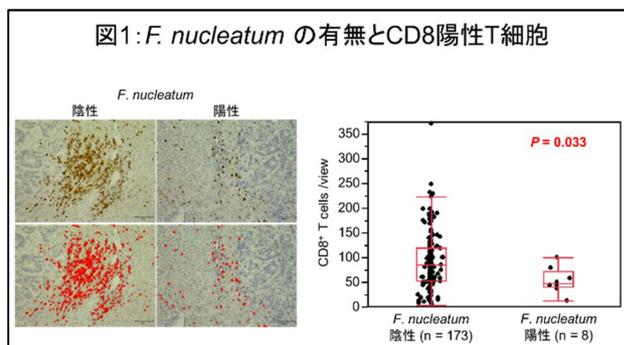
2003年1月から2016年4月までに、大腸癌肝転移に対して、初回肝切除かつ根治切除を施行した158例を対象とした。術前1ヶ月以内に施行したCTを用いて第3腰椎レベルの骨格筋量および臍レベルの内臓脂肪/皮下脂肪の面積比を計測した。カットオフ値は過去の文献から、サルコペニアは男性52.4 cm²/m²、女性38.5 cm²/m²、内臓脂肪/皮下脂肪の面積比は0.4に設定した。サルコペニアの有無・内臓脂肪蓄積の有無で群分けし、肥満およびサルコペニアと予後との関連を検討した。

また、2001年1月から2018年1月に大腸癌肝転移に対して切除を施行した181例の大腸癌肝転移パラフィン包埋切片からDNAを抽出し、quantitative polymerase chain reaction法(qPCR法)で *F. nucleatum* の存在量を評価した。大腸癌肝転移組織切片中のCD8陽性T細胞、myeloid derived suppressor cell (MDSC, CD33陽性細胞)、tumor-associated macrophage (TAM, CD163陽性細胞)を免疫組織化学染色で評価した。

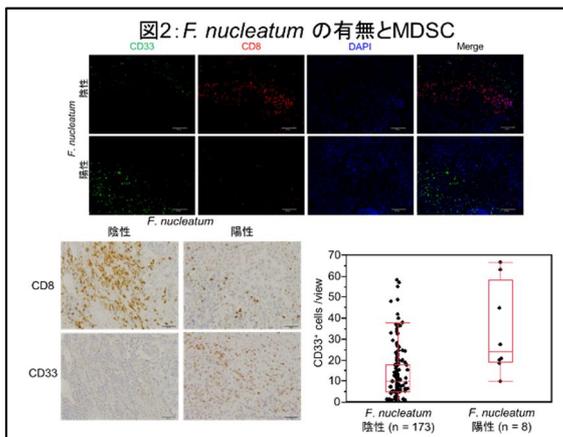
4. 研究成果

サルコペニアについて解析した158例中、男性105例、女性53例で、年齢中央値は64(25-94)歳であった。各群でKaplan-Meier法を用いて生存曲線を比較したところ、「サルコペニアなし」かつ「内臓脂肪蓄積あり」の症例で有意に予後良好であったため、以後の解析は「サルコペニアなし」かつ「内臓脂肪蓄積あり」症例(A群:n=117)とその他の症例(B群:n=41)に分けて検討した。A群はB群と比較して、全生存率において有意に予後良好であった(P=0.027)。Cox比例ハザードモデルを用いて全生存期間に関する単変量解析を行ったところ、同時性肝転移、5個以上の肝転移、CEA高値、CA19-9高値、B群が有意な予後不良因子であった。さらに各臨床パラメータを用いて行った多変量解析では、5個以上の肝転移(Hazard ratio 2.01、1.07-3.71)、CA19-9高値(Hazard ratio 1.90、1.06-3.35)およびB群(Hazard ratio 1.94、1.05-3.50)が独立した予後不良因子であった。*F. nucleatum* および *E. coli* についてサルコペニアとの関連を検討したが、いずれも有意な相関を指摘することはできなかった。

F. nucleatum について解析した181例のヒト大腸癌肝転移組織中、8例(4.4%)で *F. nucleatum* がqPCRにより検出された。*F. nucleatum* の有無と臨床因子との相関を解析した結果、年齢、性別、腫瘍局在(右側、左側)、腫瘍径、腫瘍個数、腫瘍マーカー(CEA, CA19-9)との間に相関は見られなかった。肝転移巣腫瘍境界部に浸潤しているCD8陽性T細胞数を検討したところ、浸潤細胞数が少ない症例では肝切除後無再発生存率が有意に不良であった。また、大腸癌肝転移巣に *F. nucleatum* が検出された症例は腫瘍境界部に浸潤するCD8陽性T細胞数が有意に少なかった(図1; P=0.033)。さらに *F. nucleatum* 陽性症例では、陰性症例と比べて肝転移巣に浸潤したMDSCが多いこと(図2;



$P = 0.001$) が明らかとなった。一方、*F. nucleatum*の有無と肝転移巣に浸潤する TAM には相関を認めなかった ($P = 0.70$)。以上の結果から、大腸癌肝転移組織に存在する *F. nucleatum* は腫瘍免疫抑制を介して、大腸癌肝転移の予後に影響を及ぼす可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Sakamoto Yuki, Mima Kosuke, Ishimoto Takatsugu, Ogata Yoko, Imai Katsunori, Miyamoto Yuji, Akiyama Takahiko, Daitoku Nobuya, Hiyoshi Yukiharu, Iwatsuki Masaaki, Baba Yoshifumi, Iwagami Shiro, Yamashita Yo ichi, Yoshida Naoya, Komohara Yoshihiro, Ogino Shuji, Baba Hideo	4. 巻 112
2. 論文標題 Relationship between Fusobacterium nucleatum and antitumor immunity in colorectal cancer liver metastasis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4470 ~ 4477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15126	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂本悠樹、美馬浩介、石本崇胤、宮本裕士、加藤梨佳子、秋山貴彦、大徳暢哉、中村健一、小川克大、澤山浩、今井克憲、岩槻政晃、馬場祥史、岩上志朗、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と腫瘍免疫の関連
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------