

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08203

研究課題名(和文) 肺癌発症における細菌叢の関与の研究

研究課題名(英文) Microbiome in the Development of Lung Cancer

研究代表者

小林 哲 (Kobayashi, Tetsu)

三重大学・医学系研究科・教授

研究者番号：20437114

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、肺線維化という母地になぜ肺癌が発生するのか、肺の細菌叢はその病態に関与しているのかなどを解明することを目的とし、副次的には肺癌発症後の、癌周囲の微小環境の変化から、肺の線維化および発癌に対しての細菌叢の関与からの線維化制御方法および発癌抑制のseedsを見出す事である。我々の開発したヒトTGF- β 1を肺に強制発現させた肺線維症マウスモデルでは、その経過中に肺の線維化とともに肺癌を発症することが判明しその発癌に関与している可能性がある細菌叢を発見した。細菌叢から分泌される新規発見のペプチドをCorisinと命名し癌の進行など病態に関与する可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、細菌叢による各種疾患への関与が研究されている。一方で、我が国で増加している肺癌において肺の線維化部分からの発癌が知られているが、どのような機序によって発癌するのかは解明されていない。我々は呼吸器での細菌叢の研究を通して、細菌叢と発がんあるいは癌の進展に対する研究を行っており、ある種の細菌から分泌される新規ペプチドが関与している事を見出した。そのペプチドにおいて癌化のバイオマーカーあるいは癌の進展抑制などの臨床応用が期待される研究となっている。

研究成果の概要(英文)：The objectives of this study are (1) to elucidate why lung cancer develops in the motherland of lung fibrosis, (2) to clarify whether the bacterial flora of the lung is involved in the pathogenesis of lung cancer, and (3) secondarily, to identify methods to control fibrosis and carcinogenesis from the involvement of bacterial flora in lung fibrosis and carcinogenesis based on changes in the microenvironment around cancer after the onset of lung cancer. We have developed a human TGF- β 1 mouse model. In our mouse model of pulmonary fibrosis in which human TGF- β 1 is forcibly expressed in the lungs, we found that lung cancer develops along with lung fibrosis during the course of the disease, and we discovered a bacterial flora that may be involved in the carcinogenesis. The newly discovered peptide secreted from the bacterial flora was named Corisin, and it was discovered that it may be involved in pathological conditions such as cancer progression.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：細菌叢 マイクロバイーム 呼吸器 肺線維症 肺癌

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトの体には腸管内を中心に膨大な数の常在菌が定着し細菌叢を形成しており、ヒトが約数十兆個の細胞で構成されるのに対して常在菌は数百兆個、その重量はおよそ 1~2kg/人にもなり、そのゲノム microbiome はヒト自体の 100 倍以上になるとされている。細菌叢研究は活況を帯びているが呼吸器においては教科書レベルでも下気道は無菌であるとされていたため他臓器と比べて研究が遅れていた。近年では呼吸器においても細菌叢が存在し、その病態への役割が注目されている。一方、本邦において肺癌は増加の一途であるが、その制御として従来の殺細胞性抗がん剤以後、最近では分子標的治療薬、免疫チェックポイント阻害剤などの治療の進歩をみているが、肺癌の発症病態やその制御方法は今後も研究すべき分野である。発症母地として、消化管によるピロリ菌や肝臓における肝炎ウイルスなど含め慢性感染症による慢性炎症および線維化に伴う発癌が以前から知られている。同様に呼吸器分野では肺の線維化部分からの発癌が知られているが、どのような機序によって発癌するのかは解明されていない。我々はヒト肺線維症に関して、特殊な細菌叢変化に関する仮説を得た (*Front Microbiol.* 2018;30;9:1892.)。さらに、*Staphylococcus nepalensis* からのペプチドがアポトーシスを起こすことを証明し、肺障害及び線維化を引き起こすことを報告した (*Nat Commun.* 2020;11:1539)。一方で我々の樹立した肺線維化マウスモデルにおいても同様の細菌叢変化を認めており、このモデルでは線維化の後に肺癌の発症を認めており細菌叢と発癌の関連が強く疑われる結果となっている。

2. 研究の目的

肺線維症との関連が認められている MUC5B の SNIP である rs35705950 過剰発現マウスモデルも樹立したため、これらのマウスモデルを用いて、肺の線維化と発癌および、それに関与する細菌叢と MUC5B との関連を総合的に検討する。

3. 研究の方法

本研究の目的は、慢性創傷の果て、つまり肺線維化という母地になぜ肺癌が発生するのか、肺の細菌叢はその病態に関与しているのか、線維化および発癌における MUC5B の働きと、このムチンが細菌叢の変化維持に関与するのかなどを解明することを目的とし、副次的には肺癌発症後の、癌周囲の微小環境の変化から、肺の線維化および発癌に対しての細菌叢の関与からの線維化制御方法および発癌抑制の seeds を見出す事である。この研究の獨創性は、我々の開発したヒト TGF- β 1 を肺に強制発現させた肺線維症マウスモデルを使用するところであり、さらにこのモデルは、その経過中に肺癌を発症することが判明しており、そのため、ヒトにおける肺線維症の肺癌発症のメカニズム解析に適した世界初のマウスモデルとなっていること。また、近年研究が進んでいる、がん周囲の微小環境であるが、その環境維持には CAF(cancer associated fibroblast)への変化を含め TGF β が非常に関与していることが分かってきており、そのことは肺のみならず、他臓器の線維化母地からの発癌およびその後の病態進行にも関わっている可能性があり TGF β 発現を用いた本マウスモデルでの解析は獨創的であること。さらに最近報告した、肺線維化および発癌に関与している可能性がある細菌叢の発見 (*Front Microbiol.* 2018 Aug 30;9:1892.)。さらに獨創的な点は、2020 年に我々が発見し命名した Corisin に代表されるように (*Nat Commun.* 2020;11:1539) 細菌叢から産生されるペプチドが病態に関与する可能性があり、細菌叢由来の物質に関し、それらを制御することが線維化及び発癌を抑制する可能性がある

ことが分かってきた事である。さらに、肺線維症に関与しているヒト MUC5B 遺伝子のプロモーターの SNIP である rs35705950 の TG マウスを作成し、細菌叢とこのムチンとの関係と線維化及び発癌との関連についても検討していく。

4. 研究成果

我々の発見したペプチドが線維化層の形成や発がん、癌の進行など病態に関与する可能性があり、細菌叢由来の物質に関し、それらを制御することが線維化及び発癌を抑制する可能性がある。我々は、この新規ペプチドへのポリクローナル抗体作成に成功し、続いてモノクローナル抗体の生成にも成功した。これらの抗体を用いて、疾患抑制の可能性に関し研究を行った。さらに、肺癌細胞を用い、この新規ペプチドで処理した後、KINEX 抗体マイクロアレイによりリン酸化蛋白をスクリーニングし、活性化された細胞内シグナル経路から p53 が強力に活性化されることが分かった (図 1)。今後もこの研究を推し進めていく予定である。

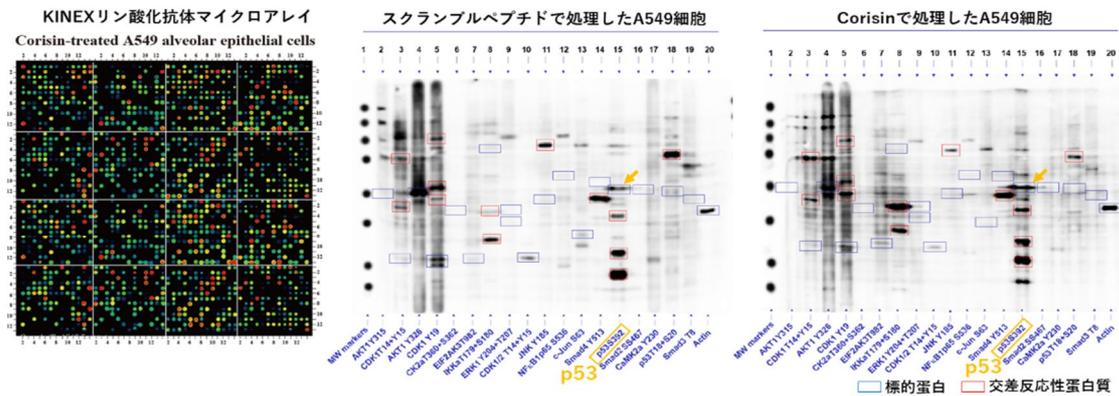


図1 KINEX抗体マイクロアレイのスクリーニングにより選択した抗体でWestern Blotを行った。Corisinはp53を強力に活性化する。

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 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yasuma T, D'Alessandro-Gabazza CN, Kobayashi T, Gabazza EC, Fujimoto H.	4. 巻 206
2. 論文標題 Microbial Burden-associated Cytokine Storm May Explain Nonresolving Acute Respiratory Distress Syndrome in Patients with COVID-19	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Am J Respir Crit Care Med .	6. 最初と最後の頁 1182-1183
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1164/rccm.202207-1266LE.	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 D'Alessandro-Gabazza CN, Yasuma T, Kobayashi T, et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 Inhibition of lung microbiota-derived proapoptotic peptides ameliorates acute exacerbation of pulmonary fibrosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nat Commun .	6. 最初と最後の頁 1558
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-29064-3.	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 Saiki Haruko, Okano Yuko, Yasuma Taro, Toda Masaaki, Takeshita Atsuro, Abdel-Hamid Ahmed M., Fridman D' Alessandro Valeria, Tsuruga Tatsuki, D' Alessandro-Gabazza Corina N., Katayama Kan, Sugimoto Masahiko, Fujimoto Hajime, Yamanaka Keiichi, Kobayashi Tetsu, Cann Isaac, Gabazza Esteban C.	4. 巻 10
2. 論文標題 A Microbiome-Derived Peptide Induces Apoptosis of Cells from Different Tissues	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2885 ~ 2885
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells10112885	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 Yasuma Taro, D' Alessandro-Gabazza Corina N., Fujimoto Hajime, Kobayashi Tetsu, Gabazza Esteban C.	4. 巻 205
2. 論文標題 Response of Lung Microbiota to Changes of Pulmonary Innate Immunity under Healthy Conditions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine	6. 最初と最後の頁 477 ~ 477
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1164/rccm.202109-2187LE	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 Yasuma Taro, D'Alessandro-Gabazza Corina N., Hataji Osamu, Kobayashi Tetsu, Gabazza Esteban C.	4. 巻 58
2. 論文標題 The role of cigarette smoking-derived pollutants in the risk of mortality in idiopathic pulmonary fibrosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Respiratory Journal	6. 最初と最後の頁 2101372 ~ 2101372
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/13993003.01372-2021	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 Yasuma Taro, Toda Masaaki, Abdel-Hamid Ahmed M., D'Alessandro-Gabazza Corina, Kobayashi Tetsu, Nishihama Kota, D'Alessandro Valeria Fridman, Pereira Gabriel V., Mackie Roderick I., Gabazza Esteban C., Cann Isaac	4. 巻 9
2. 論文標題 Degradation Products of Complex Arabinoxylans by Bacteroides intestinalis Enhance the Host Immune Response	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 1126 ~ 1126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms9061126	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 都丸敦史、齊木晴子、鶴賀龍樹、藤原拓海、岡野智仁、浅山健太郎、高橋佳紀、中原博紀、藤本源、CND Gabazza, Esteban C. Gabazza、小林哲
2. 発表標題 プレオマイシン肺線維症マウスモデルにおける肺内細菌叢由来の細胞死因子の経時的変化の検討
3. 学会等名 第62回呼吸器学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡野智仁、VF DAlessandro、古橋一樹、大岩綾香、鶴賀龍樹、齊木晴子、藤原拓海、浅山健太郎、高橋佳紀、都丸敦史、中原博紀、藤本源、岡野優子、竹下敦郎、安間太郎、CND Gabazza, Esteban C. Gabazza、小林哲
2. 発表標題 ブドウ球菌由来のアポトーシス促進ペプチドはプレオマイシン誘発肺線維症モデルにおいて慢性期の肺線維化を促進する
3. 学会等名 第62回呼吸器学会
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
研究 分担者	G a b a z z a E s t e b a n (Gabazza Esteban) (00293770)	三重大学・医学系研究科・教授 (14101)	
研究 分担者	藤本 源 (Fujimoto Hajime) (90378399)	三重大学・医学系研究科・講師 (14101)	

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
---------	---------