

平成31年2月16日

平成30年度独立行政法人日本学術振興会
藤田記念医学研究振興基金研究助成事業研究概要報告書

独立行政法人日本学術振興会理事長殿

研究者所属・職 熊本大学病院・
非常勤診療医師

氏 名 小澄 敬祐

本助成事業による研究について、次のとおり報告します。

1. 研究課題名 食道癌におけるがん代謝・マイクロバイオーム・腫瘍免疫の統合解析 (英文名) Integrated analysis of cancer metabolism, microbiome, and anti-tumor immunity in esophageal cancer
2. 研究実施期間 平成30年4月1日～平成31年3月31日
3. 助成金額 <u>1,000千円</u>
4. 研究の目的 背景： 食道癌は、最も悪性度の高い癌種の一つであり、手術・化学療法・放射線療法などによる集学的治療の発展にも関わらず、その予後は未だ不良である。本邦では食道扁平上皮癌が最多で、欧米に多い食道腺癌とは異なる組織型である。そのため、本邦での基礎研究及び臨床研究による革新的な治療法の開発が模索されている。近年、消化器癌においてマイクロバイオームの重要性を示唆する研究報告が注目を集めている。ただ、癌進展に関わる詳細なメカニズムは不明である。腫瘍微小環境内において、腫瘍免疫は腫瘍細胞のみならず微生物によっても制御されている可能性がある (Synder A. <i>Science</i> 2015, Honda K. <i>Nature</i> 2016)。腫瘍細胞と微生物は互いに影響し合うばかりでなく、双方の代謝産物が互いに、もしくはがん免疫に影響する事を示唆する報告もある (Webb BA. <i>Nat Rev Cancer</i> 2011, Colegio OR. <i>Nature</i> 2014, Dart A. <i>Nat Rev Cancer</i> 2016, Brand A. <i>Cell Metab</i> 2016, Schug ZT. <i>Nat Rev Cancer</i> 2016)。従って、腫瘍細胞のみならず、微生物・腫瘍免疫・がん代謝を統合的に解析する事は極めて重要である。また、lifestyle等の様々な患者因子が腫瘍細胞・腫瘍免疫・微生物に与える影響は強く、それらを考慮する事も必要である。 目的： 食道癌を対象に、がん免疫・マイクロバイオーム・がん代謝・患者因子の観点より統合的解析を行い、食道癌の癌進展機序及び subtype を明らかにし、新規治療法の開発及び個別化治療を目指す。

5. 研究概要報告

【食道癌切除検体における *Fusobacterium nucleatum* の検出頻度】

熊本大学消化器外科学において切除術を施行した食道癌臨床検体 300 例を対象に、FFPE より抽出した食道癌癌部 DNA を用い、癌部 DNA 中に含まれる *Fusobacterium nucleatum* DNA の存在量を qPCR で測定した。食道癌全 300 例中、23.3% (70 例) で *Fusobacterium nucleatum* 陽性だった。

【*Fusobacterium nucleatum* の量と患者背景・分子学的因子の関連解析】

中央値により陽性例を low 群、high 群に分類した。*Fusobacterium nucleatum* 存在量は、患者因子(性別、年齢、body mass index、飲酒歴、喫煙歴、併存疾患の有無)と有意な相関は認めなかった ($P > 0.06$)。また、腫瘍部位、組織型、術前治療の有無とも有意な相関は認めなかった ($P > 0.06$)。しかし、病期と有意に相関した ($P = 0.011$)。*Fusobacterium nucleatum* 存在量は、腫瘍細胞における PD-L1、IDO1 発現と有意な相関は認めなかった ($P > 0.2$)。

【食道癌 HE 染色スライドにおけるリンパ球浸潤の評価】

食道癌 HE 染色スライドを用いリンパ球浸潤 (follicle lymphocytic reaction、peritumoral lymphocytic reaction、stromal lymphocytic reaction、tumor-infiltrating lymphocytes) を評価した (absent/low, intermediate, high)。各リンパ有浸潤の程度・頻度は下記の通りだった。follicle lymphocytic reaction: 47%, 37%, 17%、peritumoral lymphocytic reaction: 34%, 48%, 18%、stromal lymphocytic reaction: 41%, 51%, 8.0%、tumor-infiltrating lymphocytes: 25%, 58%, 18%。

【*Fusobacterium nucleatum* の量と各リンパ球浸潤の関連解析】

ロジスティック解析モデルを用い、*Fusobacterium nucleatum* 存在量を predictor、各リンパ球浸潤形式を outcome とし解析した。*Fusobacterium nucleatum* 存在量と種々のリンパ球浸潤形式を解析した結果、*Fusobacterium nucleatum* 存在量は peritumoral lymphocytic reaction とのみ有意な逆相関を示した ($P = 0.0002$)。*Fusobacterium nucleatum*-absent 群に対する odds ratio は、単変量解析で *Fusobacterium nucleatum*-low 群 0.56 [95% confidence interval (CI) 0.27-1.17]、*Fusobacterium nucleatum*-high 群 0.35 (95%CI 0.17-0.73) だった ($P = 0.002$)。多変量解析でも同様の結果を認めた [*Fusobacterium nucleatum*-low 群 0.70 (95% CI 0.32-1.55)、*Fusobacterium nucleatum*-high 群 0.37 (95% CI 0.17-0.81)、 $P = 0.013$]。

【まとめ】

食道癌において、腫瘍内 *Fusobacterium nucleatum* は peritumoral lymphocytic reaction と有意な逆相関を示した。食道癌腫瘍微小環境内において *Fusobacterium nucleatum* が peritumoral lymphocytic reaction を制御する可能性が示唆され、免疫再活性化の標的としての応用が期待できる。

【今後】

本解析により、食道癌腫瘍微小環境内において *Fusobacterium nucleatum* が peritumoral lymphocytic reaction を抑制してる可能性が示唆され、今後は Systemic な免疫マーカー (末梢血液のデータ) との関連解析を行う。更に、がん代謝マーカーを含めた解析を行う。また、*Fusobacterium nucleatum* は予後不良・再発とも関連する可能性があるため、薬剤耐性との関連を解析する。

6. 研究成果の発表について

独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業の英文称：
「JSPS Fujita Memorial Fund for Medical Research」

研究者所属・職 熊本大学病院・非常勤診療医師
氏 名 小澄 敬祐

○論文発表 発表者名、テーマ名、発表誌名・巻号、発刊年月を記入してください。
また、別刷り2部を必ず添付してください。

1. **Kosumi K**, Mima K, Baba H, Ogino S. Dysbiosis of the gut microbiota and colorectal cancer: the key target of molecular pathological epidemiology. J Lab Precis Med. 2018
2. Hamada T, **Kosumi K**, Nakai Y, Koike K. Surrogate study endpoints in the era of cancer immunotherapy. Ann Transl Med. 2018

○口頭発表 発表者名、テーマ名、会合名、発表年月日を記入してください。

1. **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. 食道癌コホートをを用いた *Fusobacterium nucleatum* と腫瘍免疫の統合解析. 第74回日本消化器外科学会総会. (演題登録中). 2019.7.17~2019.7.19

○著 書 著者名、出版社名、刊行年月日、共著または単著の別を明記してください

注：

- (1) 研究成果を学会誌等で発表する場合には、独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業による助成を受けた旨を必ず明記して下さい。
また、その別刷り2部を「研究概要報告書」と共に必ず提出して下さい。
- (2) 本基金の助成に係る代表的な論文、口頭発表及び著書にはタイトルの前に○を付けて下さい。