

160. 肥満による肝がん発症機構の解明と予防法の開発

吉本 真

Key words : Deoxycholic acid, 細胞老化, 腸内細菌,
大腸がん

がん研究会 がん研究所 がん生物部

緒 言

近年の疫学調査により、肥満は糖尿病や心筋梗塞だけでなく、様々ながんの発症率を高めることが明らかになってきている。このため、がん予防の観点からも肥満の防止が重要であることは明らかであるが、先進国を中心に肥満人口は増加の一途をたどっており、日本もその例外ではない。このため、がんを含めた肥満関連疾患の克服には肥満そのものの防止だけでなく、肥満しても疾患発症に至らないようにする予防的な取り組みも必要であると考えられる。そのためには、まず、肥満すると何故このような疾患を発症するようになるのか？その分子メカニズムを解明することが重要である。我々は、マウスにおいて肥満により増加した腸内細菌が産生する二次胆汁酸 Deoxycholic Acid (DCA) が、腸肝循環を介して肝がんの発症を促進することを見出した。さらに、その分子機構として、DCA が肝臓の肝星細胞に細胞老化と SASP (senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれる炎症性サイトカインなどの分泌を引き起こすことにより肝がんの発症を促進することを明らかにした¹⁾。興味深いことに、ヒトの場合も肥満に伴い発症する NASH (non-alcoholic steatohepatitis) を素地とする肝がんの一部において肝星細胞に細胞老化と SASP が誘導されていることがわかった。そこで、我々は、ヒトにおいても肥満に伴って DCA を産生する腸内細菌が増加することにより血中の DCA 濃度が上昇することが、肥満に伴うがんの発症促進の原因の一つなのではないかと考えた。実際に、ヒトにおいても肥満に伴い腸内細菌叢が変化することや²⁾、高脂肪性の食事を摂取し続けると糞便中に含まれる DCA 濃度が上昇することがすでに明らかにされている³⁾。また、過去の報告から、DCA は大腸がんのリスクファクターの一つであることが示されている⁴⁾。しかしながら、大腸がんを促進する DCA 産生菌は同定されておらず、DCA の上昇メカニズムについても明らかにされていない。本研究では、大腸がん患者の腸内フローラと血中胆汁酸を解析することで大腸がんの発症を促進する DCA 産生菌を同定し、DCA による大腸がんの発症機構を明らかにすることを目的としている。

方 法

公益財団法人がん研究会有明病院において、大腸がん患者 67 人から糞便及び血液サンプルを収集した。糞便からは DNA を抽出し、次世代シーケンサー MiSeq (Illumina) を用いた腸内細菌叢のメタ 16S rRNA 遺伝子解析を行った。血中胆汁酸については、株式会社 LSI メディエンスにおいて超高速液体クロマトグラフィー質量分析計 (UPLC-MS/MS) を用いた胆汁酸測定を行った。

結果および考察

1. 大腸がん患者における *Fusobacterium nucleatum* について

大腸がんにおいては、発がんのリスクファクターとなるバクテリアとして *Fusobacterium nucleatum* が報告されており、発がんの分子機構も明らかにされている⁵⁾。そこで、大腸がん患者における *Fusobacterium nucleatum* の存在量を調べたところ、全 67 サンプル中 47 サンプルで *Fusobacterium nucleatum* の存在が確認された。さらに、大腸がんのステージが進行するほど *Fusobacterium nucleatum* の存在量が多いことがわかった。

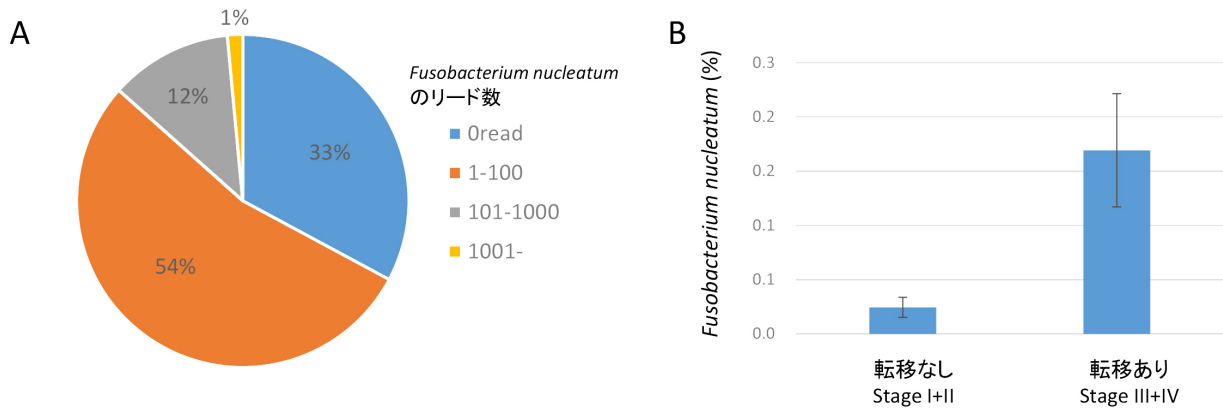


図1. 大腸がん患者における *Fusobacterium nucleatum*.

A) 大腸がん患者における *Fusobacterium nucleatum* のリード数と患者の割合. 大腸がん患者 67 人において, 約 2/3 の患者に *Fusobacterium nucleatum* が観察された. B) *Fusobacterium nucleatum* を持つ大腸がん患者において, *Fusobacterium nucleatum* の存在量は大腸がんの進行度 (ステージ) に比例する. $P < 0.01$.

このことから, 日本人の大腸がんの約 2/3 が *Fusobacterium nucleatum* によって発症が促進される大腸がんである可能性が示された.

2. 大腸がん患者における DCA 産生菌について

次に, 大腸がん患者における血中 DCA 濃度と糞便中の DCA 産生菌について調べてみた. これまでに DCA 産生菌として, *Clostridium scindens*, *Clostridium hylemonae*, *Clostridium hiranonis*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium leptum* の 5 種類が既に報告されていることから, これらの菌が大腸がん患者の腸内に存在しているかどうか調べたところ, 既知の DCA 産生菌そのものが大腸がん患者の腸内に観察された. しかし, これらの菌の存在量と血中 DCA 濃度との間に相関関係は認められなかった. 一方で, 我々はマウスの解析において, マウスを肥満させると腸内で著しく増加する *Clostridium Ariake* という菌を見出しており, 肥満マウスにおける新規の DCA 産生菌ではないかと推察された¹⁾. そこで, 大腸がん患者における *Clostridium Ariake* の存在を調べてみたところ, 大腸がん患者の腸内で *Clostridium Ariake* の存在が確認され, さらに既知の DCA 産生菌よりも豊富に存在していることがわかった.

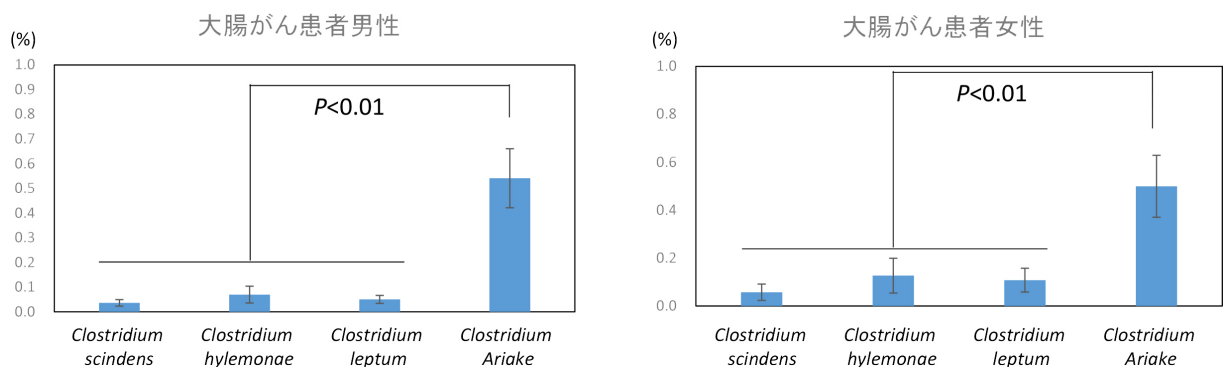


図2. 大腸がん患者における DCA 産生菌と *Clostridium Ariake* の割合.

大腸がん患者において, 既知の DCA 産生菌よりも *Clostridium Ariake* の存在量が多い.

次に, 我々は, *Fusobacterium nucleatum* を持たない大腸がん患者において DCA 産生菌や DCA が, がんの発症を促進する可能性について検討した. *Fusobacterium nucleatum* を持つ大腸がん患者と持たない大腸がん患者で血中 DCA 濃度を比較してみたものの, 有意な差は確認されなかった. しかし, *Fusobacterium nucleatum* だけでなく, 同じく大腸がんを促進することが報告されている *E. coli* についても着目すると, 両バクテリアを豊富に持つ大腸がん患

者に比べ、両バクテリアを持たない大腸がん患者では血中 DCA 濃度の上昇傾向や、*Clostridium Ariake* の存在量が高い傾向が見られた。さらに、それらの大腸がん患者においては血中 DCA 濃度と *Clostridium Ariake* の存在量との間に中程度の相関関係が見られた。

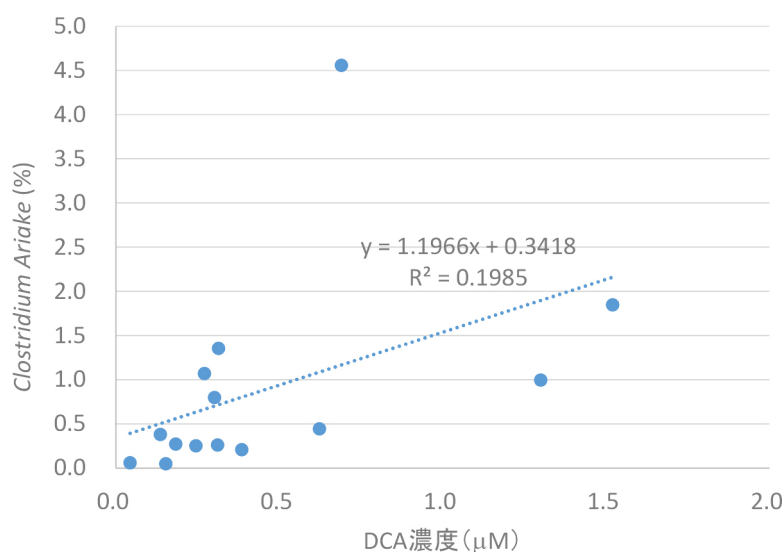


図3. 大腸がん患者における血中 DCA 濃度と *Clostridium Ariake* の割合.

一部の患者（*Fusobacterium nucleatum*, *E. coli*を持たない）において、血中 DCA 濃度と *Clostridium Ariake* の間に相関関係が見られた。

以上の解析結果から、*Fusobacterium nucleatum*や *E. coli*が関与しない大腸がんの発症においては、DCA が発がんに関与している可能性が考えられた。さらに、その DCA の産生に *Clostridium Ariake* が重要な役割を担っていることが示唆された。

今後、解析サンプル数を増やすとともに、健常人の解析結果と比較することでより明瞭な結果が得られると期待される。*Clostridium Ariake* は肥満マウスにおける肝がんの発症にも重要な菌であることが示されていることから、*Clostridium Ariake* を単離し、生化学的性質を明らかにすることは肝がんだけでなく大腸がんの診断や予防法の開発にもつながる重要な課題である。

共同研究者

本研究の共同研究者は、がん研究会がん研究所がん生物部部長の原 英二、東京理科大学理工学部応用生物科学科教授の大谷直子、がん研究会有明病院消化器外科の長山 聡である。最後に、本研究のご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Yoshimoto, S., Loo, T. M., Atarashi, K., Kanda, H., Sato, S., Oyadomari, S., Iwakura, Y., Oshima, K., Morita, H., Hattori, M., Honda, K., Ishikawa, Y., Hara, E. & Ohtani, N. : Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature*, **499** : 97-101, 2013.
- 2) Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S. & Gordon, J. I. : Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, **444** : 1022-1023, 2006.
- 3) Rafter, J., Bennett, M., Caderni, G., Clune, Y., Hughes, R., Karlsson, P. C., Klinder, A., O'Riordan, M., O'Sullivan, G. C., Pool-Zobel, B., Rechkemmer, G., Roller, M., Rowland, I., Salvadori, M., Thijs, H., Van Loo, J., Watzl, B. & Collins, J. K. : Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *Am. J. Clin. Nutr.*, **85** : 488-496, 1978.
- 4) Payne, C. M., Weber, C., Crowley-Skillicorn, C., Dvorak, K., Bernstein, H., Bernstein, C., Holubec, H., Dvorakova, B. & Garewal, H. : Deoxycholate induces mitochondrial oxidative stress and activates NF-kappaB through multiple mechanisms in HCT-116 colon epithelial cells. *Carcinogenesis*, **28** : 215-222, 2007.

- 5) Rubinstein, M. R., Wang, X., Liu, W., Hao, Y., Cai, G. & Han, Y. W. : *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe*, **14** : 195-206, 2013.