



# 大腸がん和腸内環境のダイナミクス

みず たに さ や か や ま だ た く じ  
 水 谷 紗 弥 佳<sup>1,2)</sup> : 山 田 拓 司<sup>1)</sup>  
 Sayaka MIZUTANI Takuji YAMADA

## I. 大腸がんの多段階発がん和腸内細菌の関わり

日本では大腸がんによる死亡率が過去30年で著しく増加し、2014年に胃がんを抜いて本邦で最も罹患率の高いがん種となった<sup>1)</sup>。大腸がん罹患率は世界でも最も高い国の一つとなっている。食生活習慣の欧米化が原因の一つと考えられているが、そのメカニズムは明らかにされていない<sup>2-4)</sup>。散発性大腸がんの多くは、大腸ポリープ(腺腫)、粘膜内がんを経て進行がんへと進展する<sup>5)</sup>(図1)<sup>6)</sup>。このプロセスは多段階発がんとして知られている。

ヒトの体には約40兆個も細菌が生息していると言われている<sup>7)</sup>。その中でも、ヒトの腸管に生息する腸内細菌は、炎症性腸疾患など様々な腸疾患と関係することが知られ、近年、注目を集めている<sup>8)</sup>。散発性大腸がんの約2%は、炎症性腸疾患から発生

することが知られており<sup>9)</sup>、そのような症例では、enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* と adherent-invasive *Escherichia coli* NC101 株の関与が報告されている<sup>10,11)</sup>。炎症性腸疾患とは関連のない散発性大腸がんでは2012年に、菌周病の原因として知られる口腔内細菌である *Fusobacterium nucleatum* が大腸がん患者の便中に特徴的に多数存在することが報告され<sup>12,13)</sup>、マウス実験により、その発がん機構が次々に明らかになった。その後、次世代シーケンサの発達により、糞便試料を用いた大規模メタゲノム解析が容易になり、次々に新しいがん関連菌が発見されるようになった。さらに、腸内細菌の代謝物であるコリバクチンやデオキシコール酸は、遺伝毒性であることが以前から知られている<sup>14,15)</sup>。

しかしながら、腸内細菌が発がんの原因か結果であるか(または進展に寄与しているのか)については、十分に解明されていない。また、食事の傾向や、細菌の栄養源となる腸内の化合物が、発がんとの

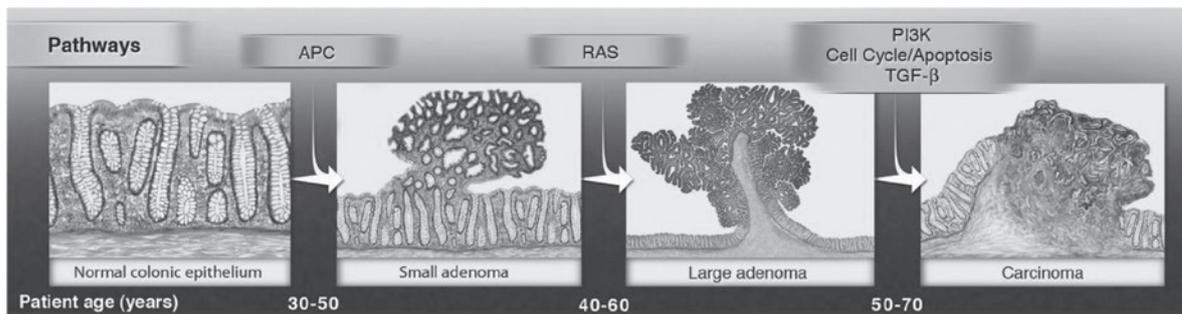


図1 多段階発がんの模式図

散発性大腸がんの多くは、APC や RAS などの特定の遺伝子への変異の蓄積に伴い、adenoma (腺腫) から carcinoma (悪性のがん) へと進展する。

(Vogelstein B., et al., Science. 2013; 339: 1546-1558. 文献6)より)

1) 東京工業大学生命理工学院  
 2) 日本学術振興会特別研究員  
 ☎152-8550 東京都目黒区大岡山2-12-1 M6-3

1) School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, Tokyo, Japan

2) Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science, Japan (2-12-1 M6-3, Ookayama, Meguro-ku, Tokyo)

ように関係しているか、というような全体的な理解は未だ断片的にしか進んでいない。われわれのグループでは、この2つの問題を明らかにすることを目指し、大規模なコホート研究を立ち上げ、大腸がん患者を対象に、糞便試料や、食事等の「生活習慣に関するアンケート」などのデータを収集し、食生活習慣、メタゲノム、メタボロームなどを用いたマルチオミクス解析を行ってきた<sup>16)</sup>。ここでは、今までの解析から得られた知見の一部を紹介する。大腸がんの早期の段階でがんを内視鏡的に除去することは、がんの治療の優先事項である。われわれの研究では、早期発見のためのマーカーとしての腸内環境データの応用の可能性についても評価した。

## II. これまでの研究から明らかになった大腸がんの関連細菌

### 1. *Fusobacterium nucleatum* の発がん機構

*F. nucleatum* は、歯周炎を引き起こす口腔嫌気性グラム陰性菌である。マウスモデルとヒト細胞株を用いた研究により、*F. nucleatum* がいくつかの異なる経路を介して大腸がんを加速することが明らかになってきた<sup>17-19)</sup>。Kostic らは、*APC*<sup>Min/+</sup> マウスを用いた実験により、*F. nucleatum* が腸炎を伴う発がんとは別経路の発がん機構を持つことを検証し、*F. nucleatum* が腫瘍の発生を促進し、腫瘍浸潤性骨髓系細胞を誘導することを示した<sup>17)</sup>。Rubinstein らは、*F. nucleatum* が持つ病原性因子である細胞接着性のタンパク質 FadA が、腸管上皮細胞の E-cadherin への結合を介して Beta-catenin シグナル伝達経路を活性化し、がんを促進することを示した<sup>18)</sup>。Gur らは、*F. nucleatum* の Fap2 タンパク質が、抑制性受容体 TIGIT を介して、腫瘍殺傷性の NK 細胞を抑制することを示した<sup>19)</sup>。これらの証拠は、*F. nucleatum* が大腸がんに関与しているだけでなく、発がんの初期段階で「作用」することを示唆している。

### 2. ヒトを対象とした大規模コホート研究からの大腸がん関連菌の同定

次世代シーケンサを用いた 16S ribosomal RNA (rRNA) アンプリコン配列や、ショットガンシーケンサ法によるメタゲノム配列の解析により、ヒトの糞

便に存在する細菌や細菌由来の遺伝子を大規模に同定することが可能になった。近年、糞便試料や大腸粘膜試料を用いた大規模なコホート研究が行われ、大腸がんに関連する菌が次々に同定された<sup>20-23)</sup>。中でも *Parvimonas micra*, *Peptostreptococcus stomatis*, *Peptostreptococcus anaerobius* などのグラム陽性嫌気性球菌 (GPAC) が新たに同定された。その発がん機構は、*F. nucleatum* ほど分かっておらず、さらなる解明が期待される。例を挙げると、Tsoi らは、アゾキシメタン腫瘍誘発マウスを *P. anaerobius* に曝露する実験を行い、大腸粘膜の異形成を確認した<sup>24)</sup>。また、Yu らは *P. micra* を強制飼養した *APC*<sup>Min/+</sup> マウスで腫瘍の発生を確認した<sup>25)</sup>。

## III. 大規模コホート研究による日本人の腸内環境の全容解明と大腸がんへの関与

### 1. 日本人の大規模コホート研究

これまでのコホート研究から、大腸がんに関連する細菌がいくつか特定されてきたが、その多くは進行の進んだがん (Stage I/II/III/IV) に関連するもので、大腸ポリープ (腺腫) や、がんのごく初期 (Stage 0) と関連する細菌や代謝物質に関するデータはあまり収集されてこなかった。本研究では、国立がん研究センター・中央病院で大腸内視鏡検査を受けた 631 被検者 (健常者、多発ポリープ (腺腫)、粘膜内がん (Stage 0)、各ステージのがん (Stage I/II/III/IV)) を対象とし、糞便サンプルを収集した<sup>16)</sup>。そのうち、Stage I/II/III の計 28 患者からは、腫瘍切除の前後で糞便を収集した。また、「生活習慣などに関するアンケート」を用いた調査を実施し、食事や、既知のリスク要因 (年齢、性別、喫煙習慣、飲酒習慣など) も解析の対象とした。その結果、*F. nucleatum* の上昇が、今までのコホート研究で知られていたような Stage I/II/III/IV だけでなく、Stage 0 から上昇し、がんの進行に伴い段階的に上昇することを示した (図 2)。これは、上記のマウス実験が示しているように、*F. nucleatum* が多段階発がんのごく初期の段階でがんの進行に寄与していることを示唆している。一方、*P. stomatis*, *P. micra* は Stage I/II、Stage III/IV のグループで占有率の上昇が見られたが、腫瘍切除後に占有率が低下したため、発がんの

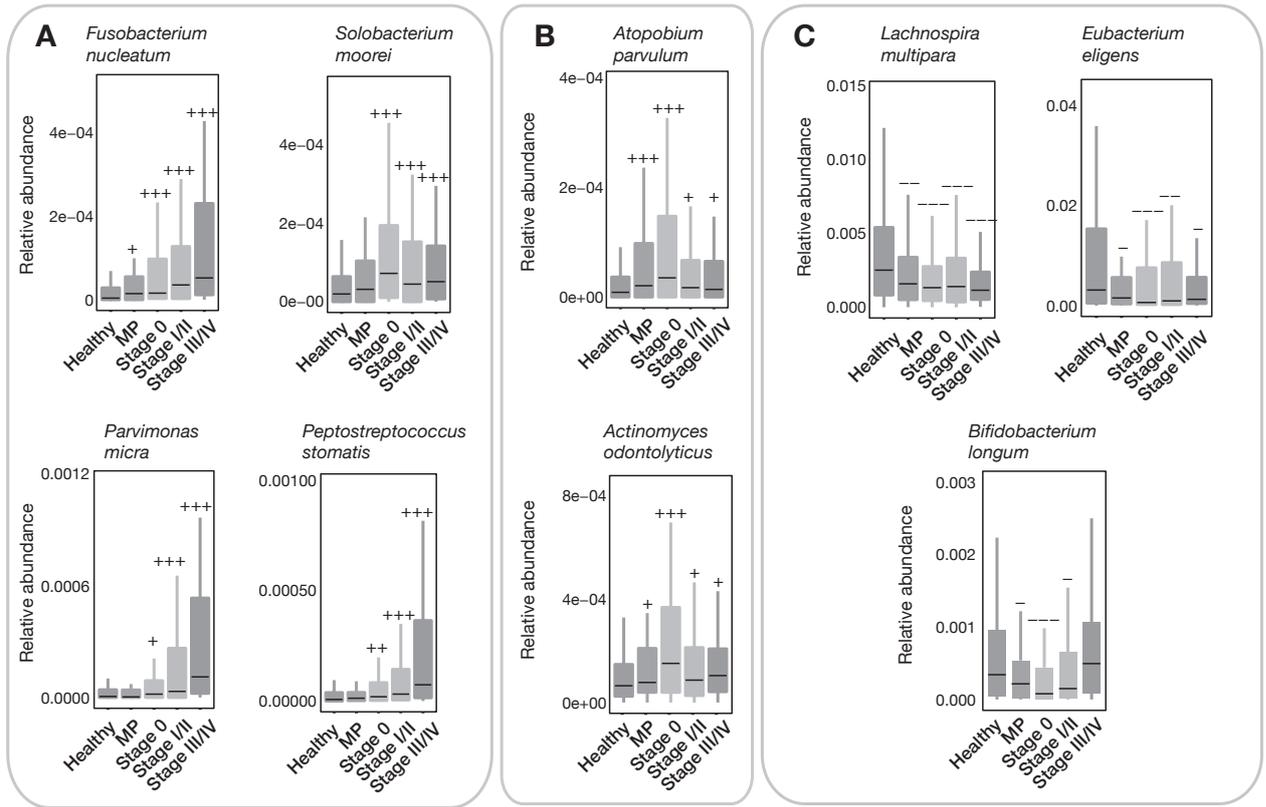


図2 大腸がんの多段階発がん和腸内細菌の変化

(A) 既報の大腸がんに関連する腸内細菌の例

(B) 多発ポリープを有する患者または Stage 0 の患者の糞便中に高い占有率を示した腸内細菌の例

(C) がん患者の糞便中で占有率の低かった腸内細菌の例

+++ , 上昇 ( $P < 0.005$ ) ; ++ , 上昇 ( $P < 0.01$ ) ; + , 上昇 ( $P < 0.05$ ) ; --- , 下降 ( $P < 0.005$ ) ; -- , 下降 ( $P < 0.01$ ) ; - , 下降 ( $P < 0.05$ ) (マンホイットニーの U 検定を用いた健常者との比較)

MP, 多発ポリープ

原因ではなく、腫瘍のある環境に適応する菌であると解釈することができる。われわれはさらに、大腸ポリープ (腺腫) や Stage 0 でのみ高い占有率を示す菌 *Atopobium parvulum* と *Actinomyces odontolyticus* を新たに特定した。これらの菌はがんのごく初期に関係する、すなわち発がんの要因の一つである可能性が示唆される。また、酪酸産生菌の *Lachnospira multipara* や *Eubacterium eligens*、*Bifidobacterium longum* は大腸がん患者では低い占有率を示した。

## 2. 硫酸塩還元菌は腸壁のバリア機能を減損し、腸炎や大腸がんを引き起こす

*A. parvulum* は、ヒトの口腔内から分離されるグラム陽性の偏性嫌気性細菌であり、口臭の原因となる臭気化合物を産生する。臭気化合物には硫化水素 ( $H_2S$ ) も含まれる。クローン病のモデル動物である IL-10<sup>-/-</sup> マウスを用いた実験では、*A. parvulum* が  $H_2S$  を介して腸炎を引き起こすことが報告されてい

る<sup>26)</sup>。大腸がんでも粘液層の欠陥が病気を引き起こすことが示されており<sup>27)</sup>、その原因の一つとして、腸内細菌やその生産物である  $H_2S$  が粘膜壁のバリア機能の損傷による微生物の侵入を引き起こし、その結果として腸管の過形成や腫瘍の成長を促進することが報告されている<sup>9, 28, 29)</sup>。われわれのコホート研究で、大腸がんのごく初期に *A. parvulum* の占有率の上昇が見られたことから、腸炎を伴わない散発性の大腸がんでも、初期の段階では、腸壁の損傷が起こっている可能性が示唆された。

## 3. デオキシコール酸は発がんを促進する

われわれのメタボローム解析の結果、大腸ポリープ (腺腫) を有する被験者の糞便中に発がん性の腸内細菌産物であるデオキシコール酸が高い濃度で検出された (図3)。デオキシコール酸は、腸管内に分泌された一次胆汁酸の一部が特定の腸内細菌の代謝によって生産された二次胆汁酸である<sup>30)</sup>。デオキ

シコール酸は、以前から、大腸がんとの関連が指摘されていた<sup>31-34)</sup>が、ヒトの糞便を用いた網羅的な解析で検証されたことは画期的なことである。

#### 4. 大腸がんのステージ特異的な腸内細菌代謝の変動と早期診断への応用

メタボローム解析の結果からは、上記のデオキシシコール酸の他に、粘膜内がんを有する患者の糞便から高い濃度の分枝鎖アミノ酸（バリン、ロイシン、イソロイシン）や芳香族アミノ酸（フェニルアラニン、チロシン）が検出された。大腸がんによりアミノ酸の上昇が見られることは、大腸がんの手術検体を用いたメタボローム解析により示され、がん細胞のアミノ酸代謝の変化が議論されている<sup>35)</sup>。われわれは、同じ糞便試料から腸内細菌叢のデータの他に様々な代謝物の濃度データを取得することで、腸内細菌の代謝が上記の分枝鎖アミノ酸や芳香族アミノ酸の上昇にどう関わっているかを調べた。その結果、大腸がんの各ステージで、腸内細菌が持つ代謝機能にダ

イナミックな変化が見られた。特に、フェニルアラニン合成に関与する *pheC* 遺伝子は粘膜内がんでは顕著に上昇していたほか、フェニルアラニンの代謝物であるフェニル酢酸の分解経路の遺伝子クラスターの上昇が見られた。また、複数のコホートをまたいだ研究では、大腸がんのメタゲノムで、アミノ酸分解モジュールの存在量が高いことが示されている<sup>36)</sup>。本研究で行った大規模なコホート研究は、腸内細菌や便中の代謝物の変化が大腸がん発症のごく初期の段階から起こり、発がん機構の解明や診断に有用である可能性が示唆された。また、上記の分枝鎖アミノ酸や、*pheC* 遺伝子は粘膜内がんの被験者を健常者から区別するマーカーとして同定され、大腸がん初期の診断マーカーとしての応用可能性が示唆された（図4）。高タンパク質食は大腸がんの危険因子であることが示唆されており、アミノ酸の腐敗菌との関係を研究し、がん予防へ応用することが期待される。

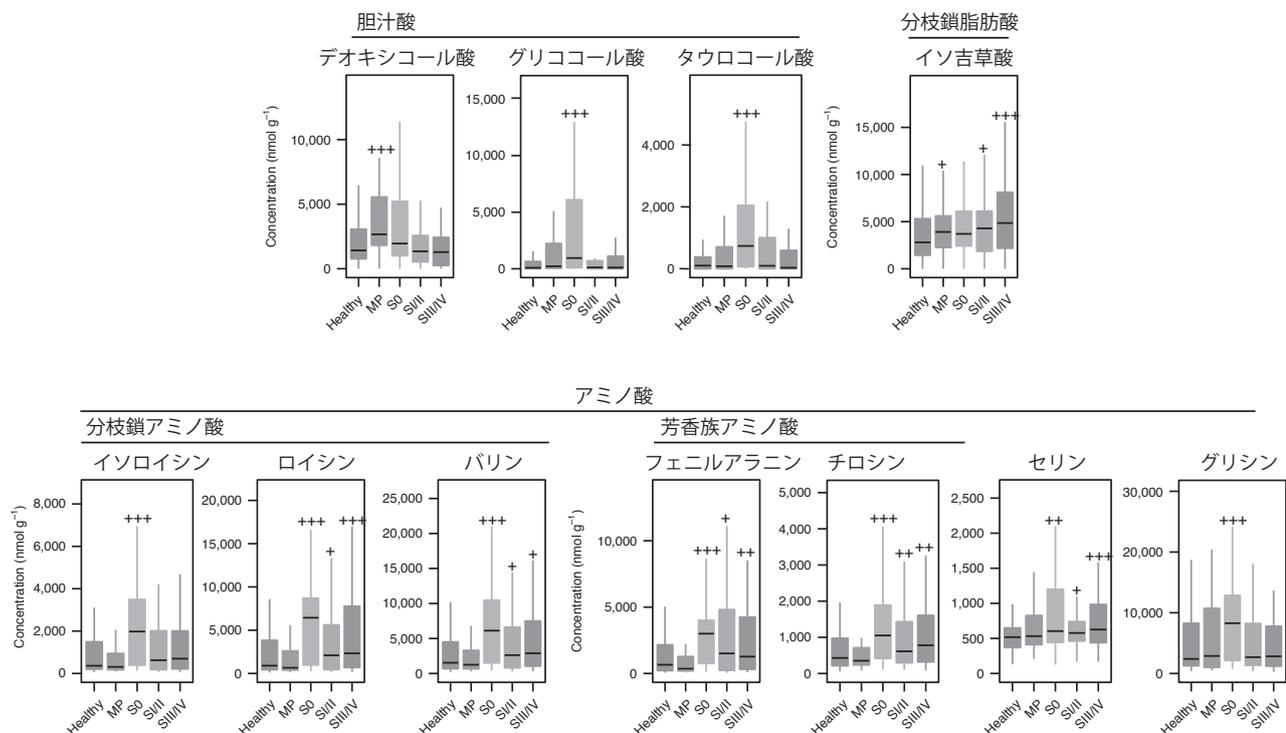


図3 大腸がんの多段階発がん腸内代謝物の変化

胆汁酸、分枝鎖脂肪酸、アミノ酸の一部はがん患者の糞便中に高い濃度で検出された。  
 +++, 上昇 ( $P < 0.005$ ) ; ++, 上昇 ( $P < 0.01$ ) ; +, 上昇 ( $P < 0.05$ ) ; ---, 下降 ( $P < 0.005$ ) ;  
 --, 下降 ( $P < 0.01$ ) ; -, 下降 ( $P < 0.05$ ) (マンホイットニーの U 検定を用いた健常者との比較)  
 MP, 多発ポリープ ; S0, Stage 0 ; SI/II, Stage I/II ; SIII/IV, Stage III/IV

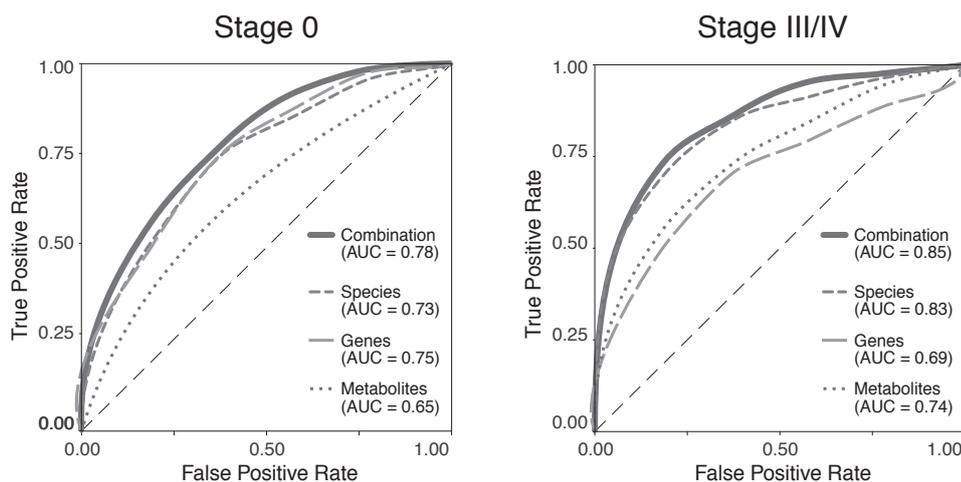


図4 大腸がん早期発見のため腸内環境データの応用可能性

メタゲノムおよびメタボロームデータを用い、Stage 0 (左) および Stage III/IV (右) の患者を健常者から分類するための分類器を機械学習の手法により作成した。分類器は細菌種、細菌の遺伝子、代謝物、およびそれらの組み合わせを用いたところ、組み合わせによる分類器がもっとも高い精度 (AUC; 受信者操作特性曲線化面積) を示した。

#### IV. おわりに

今までの知見から、腸内細菌が免疫のさまざまな機構によって、がんの発生や進展に関与していることが分かってきた。特に、*F. nucleatum* は上皮細胞の増殖に関わるシグナル伝達経路やがんの免疫機構に作用することでがんを促進することが示されてきた。われわれのコホート研究では、腸内細菌組成や腸内代謝物のプロファイルが、がんの進行に伴いどのように変化するかを観察するために、大規模なメタゲノムデータ、およびメタボロームデータを収集した。その結果、これまでマウス実験で示されていたような *F. nucleatum* の変化や、デオキシコロール酸の上昇が大腸がんのごく初期の段階から起こっていることを示した。腸内細菌の発がん機構の研究は、免疫学の側面では研究は進んでいるが、腸内細菌の代謝という生化学的な研究は断片的にしか進んでいない。また、食生活とがんの発症にかかわる腸内細菌がどのように関係しているのかという研究は始まったばかりである。われわれの大規模マルチオミクス解析は、その第一歩となる。

#### 文 献

1) 国立がん研究センター, がん情報サービス「がん登録・統計」

[https://ganjoho.jp/reg\\_stat/](https://ganjoho.jp/reg_stat/) (引用2019/11/21)

- 2) 国立研究開発法人 国立がん研究センター, 社会と健康研究センター 予防研究グループ「食事パターンと大腸がんリスクとの関連について」| 現在までの成果 | 多目的コホート研究 | <https://epi.ncc.go.jp/jphc/outcome/7948.html> (引用2019/11/21)
- 3) Kolonel, L. N., Altshuler, D. & Henderson, B. E. The multiethnic cohort study: exploring genes, lifestyle and cancer risk. *Nat. Rev. Cancer* 4, 519-527 (2004).
- 4) Kuriki, K. & Tajima, K. The increasing incidence of colorectal cancer and the preventive strategy in Japan. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 7, 495-501 (2006).
- 5) Fearon, E. R. & Vogelstein, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61, 759-767 (1990).
- 6) Vogelstein, B. et al. Cancer genome landscapes. *Science* 339, 1546-1558 (2013).
- 7) Sender, R., Fuchs, S. & Milo, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 14, e1002533 (2016).
- 8) Aggeletopoulou, I., Konstantakis, C., Assimakopoulos, S. F. & Triantos, C. The role of the gut microbiota in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Microb. Pathog.* 137, 103774 (2019).
- 9) Grivennikov, S. I. et al. Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. *Nature* 491, 254-258 (2012).
- 10) Wu, S. et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nature Medicine* 15, 1016-1022 (2009).
- 11) Arthur, J. C. et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* 338, 120-123 (2012).

- 12) Castellarin, M. *et al.* Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res.* **22**, 299-306 (2012).
- 13) Kostic, A. D. *et al.* Genomic analysis identifies association of Fusobacterium with colorectal carcinoma. *Genome Res.* **22**, 292-298 (2012).
- 14) Wilson, M. R. *et al.* The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA. *Science* **363**, eaar7785 (2019).
- 15) Ridlon, J. M. *et al.* The 'lifestyle' of bile acid 7 $\alpha$ -dehydroxylating bacteria: comparative genomics, metatranscriptomic, and bile acid metabolomics analysis of a defined microbial community in gnotobiotic mice. *Gut Microbes* **1-24** (2019).
- 16) Yachida, S. *et al.* Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer. *Nat. Med.* **25**, 968-976 (2019).
- 17) Kostic, A. D. *et al.* Fusobacterium nucleatum potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe* **14**, 207-215 (2013).
- 18) Rubinstein, M. R. *et al.* Fusobacterium nucleatum promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ $\beta$ -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe* **14**, 195-206 (2013).
- 19) Gur, C. *et al.* Binding of the Fap2 protein of Fusobacterium nucleatum to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack. *Immunity* **42**, 344-355 (2015).
- 20) Zeller, G. *et al.* Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Mol. Syst. Biol.* **10**, 766 (2014).
- 21) Feng, Q. *et al.* Gut microbiome development along the colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Nature Communications* **6**, (2015).
- 22) Yu, J. *et al.* Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. *Gut* **66**, 70-78 (2017).
- 23) Nakatsu, G. *et al.* Gut mucosal microbiome across stages of colorectal carcinogenesis. *Nat. Commun.* **6**, 8727 (2015).
- 24) Tsoi, H. *et al.* Peptostreptococcus anaerobius Induces Intracellular Cholesterol Biosynthesis in Colon Cells to Induce Proliferation and Causes Dysplasia in Mice. *Gastroenterology* **152**, 1419-1433.e5 (2017).
- 25) Yu, J. *et al.* The role of *Parvimonas micra* in intestinal tumorigenesis in germ-free and conventional APC<sup>min/+</sup> mice. *Journal of Clinical Oncology* **37**, no. 4\_suppl (February 01, 2019) 531-531.
- 26) Mottawe, W. *et al.* Altered intestinal microbiota-host mitochondria crosstalk in new onset Crohn's disease. *Nat. Commun.* **7**, 13419 (2016).
- 27) Velcich, A. *et al.* Colorectal cancer in mice genetically deficient in the mucin Muc2. *Science* **295**, 1726-1729 (2002).
- 28) Ijssennagger, N. *et al.* Gut microbiota facilitates dietary heme-induced epithelial hyperproliferation by opening the mucus barrier in colon. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, 10038-10043 (2015).
- 29) Ijssennagger, N., van der Meer, R. & van Mil, S. W. C. Sulfide as a Mucus Barrier-Breaker in Inflammatory Bowel Disease? *Trends Mol. Med.* **22**, 190-199 (2016).
- 30) Ridlon, J. M. *et al.* The 'lifestyle' of bile acid 7 $\alpha$ -dehydroxylating bacteria: comparative genomics, metatranscriptomic, and bile acid metabolomics analysis of a defined microbial community in gnotobiotic mice. *Gut Microbes* **1-24** (2019).
- 31) Bernstein, H., Bernstein, C., Payne, C., Dvorakova, K. & Garewal, H. Bile acids as carcinogens in human gastrointestinal cancers. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* **589**, 47-65 (2005).
- 32) Payne, C. M. *et al.* Deoxycholate induces mitochondrial oxidative stress and activates NF-kappaB through multiple mechanisms in HCT-116 colon epithelial cells. *Carcinogenesis* **28**, 215-222 (2007).
- 33) Cao, H. *et al.* The secondary bile acid, deoxycholate accelerates intestinal adenoma-adenocarcinoma sequence in Apc min/ mice through enhancing Wnt signaling. *Familial Cancer* **13**, 563-571 (2014).
- 34) Pai, R., Tarnawski, A. S. & Tran, T. Deoxycholic acid activates beta-catenin signaling pathway and increases colon cell cancer growth and invasiveness. *Mol. Biol. Cell* **15**, 2156-2163 (2004).
- 35) Hirayama, A. *et al.* Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. *Cancer Res.* **69**, 4918-4925 (2009).
- 36) Wirbel, J. *et al.* Meta-analysis of fecal metagenomes reveals global microbial signatures that are specific for colorectal cancer. *Nat. Med.* **25**, 679-689 (2019).