

# 論文内容の要旨

## ***Pks*-positive *Escherichia coli* in tumor tissue and surrounding normal mucosal tissue of colorectal cancer patients**

大腸癌患者の腫瘍組織およびその周辺正常粘膜組織における *pks* 陽性大腸菌の発現

日本医科大学大学院研究科 消化器外科分野

大学院生 宮坂 俊光

*Cancer Science*, volume 115, Issue 4, page 1184-1195, January 31, 2024 掲載

## 【背景】

腸内細菌叢と大腸の発癌や大腸癌の進行には有意な関係性が存在する。polyketide synthetase (*pks*) island を保有する大腸菌は、遺伝子毒性を有するコリバクチンを産生し、大腸の発癌に寄与することが報告されているが、*pks*+大腸菌が大腸癌の発生、進行や転移にどのような役割を果たしているかは未だ不明である。これまでの研究では、大腸癌症例や大腸腺腫症例では、健常者と比べて *pks*+大腸菌保有率が高いことや大腸癌症例の粘膜細菌叢では、*pks*+大腸菌が健常例よりも多く発現していることが報告されている。我々は *pks*+大腸菌が大腸の発癌に関与しているのであれば、stage 0-I といった、より早期の大腸癌でも同定することができるという仮説をたてた。本研究の第一の目的は stage 0-I 大腸癌における *pks*+大腸菌の検出率が、Stage II 以上のより進行した大腸癌における検出率よりも高いかどうかを明らかにすること、第二の目的は *pks*+大腸菌が検出された腫瘍の臨床病理学的特徴を明らかにすることを目的とした。

## 【方法】

2017年1月から2021年3月に日本医科大学付属病院で原発腫瘍が外科的切除された結腸直腸癌の患者を対象とした。組織サンプルは腫瘍および正常粘膜組織（腫瘍口側30-50mmの粘膜組織）より採取した。組織サンプルからDNAを抽出し、Droplet Digital PCR法にて *pks*+大腸菌のコピー数を計測した。

## 【結果】

対象期間中、509例の手術が行われたが、術前化学療法施行例や遺伝性腫瘍、多重癌を除外し、413例が対象となった。また、正常粘膜組織は244例で採取された。うち、Stage 0-I 症例は74例、Stage II 症例は146例、Stage III 症例は133例、Stage IV 症例は60例であった。*pks*+大腸菌は腫瘍組織において271例(65.6%)、正常粘膜組織において152例(62.3%)で同定され、検出率や発現数に差はなかった。一方、同一症例で比較を行うと、Stage 0-I 症例において、正常粘膜と腫瘍組織における *pks*+大腸菌の発現数に有意差を認めた( $p < 0.001$ )。 *pks*+大腸菌コピー数は stage 0-I の腫瘍組織で、正常粘膜や stage II-IV の腫瘍組織よりも有意に多かった。

腫瘍組織における *pks*+大腸菌の発現数を高発現群、低発現群、陰性群の3群に分け比較すると、多変量ロジスティック解析にて深達度の浅い腫瘍(HR = 5.0, 95%CI = 2.3-11.3,  $p < 0.001$ )やリンパ節転移陰性例(HR = 3.0, 95%CI = 1.8-5.1,  $p < 0.001$ )が *pks*+大腸菌高発現と有意に関連していた(HR = 5.0, 95%CI = 2.3-11.3,  $p < 0.001$ )。

腫瘍組織における *pks+*大腸菌と予後について解析をすると、*pks+*大腸菌低発現群および陰性群は、高発現群と比較すると、有意に癌特異的生存期間(CSS)が短縮し( $p = 0.01$ )。Cox 比例ハザードモデルでも有意な CSS 不良因子として算出された(HR = 6.4, 95%CI = 1.7-25.6,  $p = 0.005$ )。また、Stage II-III 症例における無再発生存期間(RFS)についても解析を行ったところ、*pks+*大腸菌低発現群および陰性群は有意な RFS 不良因子であり( $p < 0.001$ )、Cox 比例ハザードモデルでも独立した RFS 不良因子であった(HR = 3.1, 95%CI = 1.3-7.0,  $p = 0.01$ )。

#### 【考察】

本研究は、腫瘍組織と正常粘膜組織における *pks+*大腸菌の発現量を比較・解析したこと、*pks+*大腸菌と大腸癌の予後との関係を解析したこと、*pks+*大腸菌の発現を digital PCR 法を用いて検討したこと、この3点がこれまでの報告と異なる初めての研究である。本研究の結果は、より早期の大腸癌組織には、正常粘膜組織やより進行した大腸癌組織と比較して、より多くの *pks+*大腸菌が存在することを示した。さらに、腫瘍組織中の *pks+*大腸菌が多い症例は、癌特異的生存期間、無再発生存期間が長かった。

今回の結果より、*pks+*大腸菌が大腸癌発癌に寄与する可能性はあるが、癌の進行には影響しない可能性が示唆された。本研究で、Stage 0-I 大腸癌症例では正常粘膜と比較して、腫瘍組織により多くの *pks+*大腸菌が存在することが明らかになった。早期大腸癌における *pks+*大腸菌は、選択的掃引によって増殖し、発癌に寄与している可能性が考えられるが、本研究ではこの仮説を裏付ける所見は得られず、動物モデルやオルガノイドを用いた更なる研究が必要である。

腫瘍組織における *pks+*大腸菌高発現は大腸癌の予後良好因子であった。この結果は、癌特異的生存期間だけでなく、無再発生存期間でも同様の結果であった。これまで *pks+*大腸菌と予後との関連を検討した研究はほぼなく、*pks+*大腸菌が関与する大腸癌は予後が良好である可能性が示唆された。その解明のため、本研究では *pks+*大腸菌と CD3 陽性細胞あるいは CD8 陽性細胞との関係を調べたが明らかな関連性は認めず、腫瘍微小環境と *pks+*大腸菌との関連は依然不明である。

本研究は単一施設の研究であった。生存解析では術後化学療法の影響を考慮しなかったが、これはサンプルサイズが十分でないためである。内視鏡的治療を受けた大腸癌症例は本研究に含まれていない。しかし、内視鏡治療を受けた症例から凍結検体を採取することは、その臨床診断に悪影響を及ぼす可能性がある。

#### 【結論】

Stage 0-I の大腸癌組織には、正常粘膜組織やより進行した大腸癌と比較して、より多くの *pks+* 大腸菌が発現していた。また、*pks+* 大腸菌の発現量は予後と関係していた。これらの結果は、*pks+* 大腸菌が大腸癌の発癌に関係する一方で、腫瘍の進行には影響を及ぼさない可能性が示唆された。