

2024年1月31日

東京大学

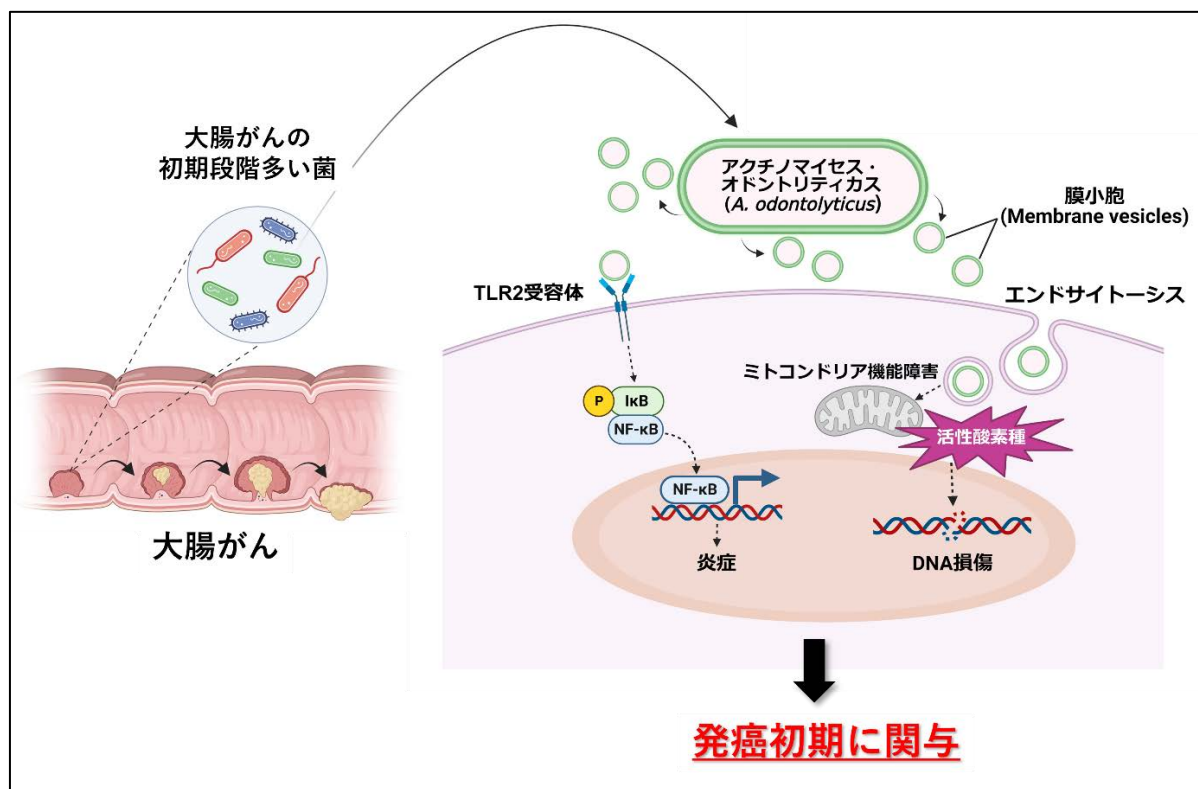
岡山大学

科学技術振興機構（JST）

腸内細菌の“飛び道具”が大腸がんの原因に ——腸内細菌が産生する膜小胞が引き起こす大腸がん発生メカニズムの解明——

発表のポイント

- ◆口腔内細菌の一種であるアクチノマイセス・オドントリティカス (*A. odontolyticus*) が大腸がんの初期段階の発癌過程に関与することを見出しました。
- ◆*A. odontolyticus* が菌体外に放出する細胞外小胞が、大腸上皮細胞での炎症やDNA損傷を惹起し、発癌に関わることを証明しました。
- ◆今後これらの結果を踏まえた新たな大腸がん予防策開発への貢献が期待されます。



腸内細菌による大腸がんの新たな発生機序を解明！

概要

東京大学医学部附属病院光学医療診療部の宮川佑特任臨床医、同院消化器内科の大塚基之講師（研究当時、現 岡山大学学術研究院医歯薬学域 教授）、藤城光弘教授らの研究グループは、口腔内細菌の一種であるアクチノマイセス・オドントリティカス (*A. odontolyticus*、注1)が大腸がんの発癌初期の過程に密接に関与することを明らかにしました。これまでの腸内細菌のゲノム解析の結果から、*A. odontolyticus*が大腸がんの発癌早期の患者の便中に多

く見られることが知られていましたが、この細菌の大腸がん発症への関与について（がんの原因なのか結果なのか）は不明でした。今回の研究で、*A. odontolyticus* が産生する細胞外小胞（注2）である膜小胞（Membrane vesicles : MVs）が、腸管上皮細胞の炎症を惹起すること、また腸管上皮細胞内の活性酸素種（注3）を増加させ DNA 損傷をもたらすことで、発癌を惹起する可能性が示されました。そのメカニズムとして、*A. odontolyticus* 由来の MVs が Toll 様受容体 2（TLR2、注4）を介して大腸上皮に炎症性シグナルを誘導するとともに、MVs が腸管上皮細胞内に取り込まれてミトコンドリアの機能障害を引き起こすことで活性酸素種の過剰な産生をもたらし、その結果大腸上皮細胞の DNA 損傷を惹起して、発癌に関与していることを同定しました（図1）。

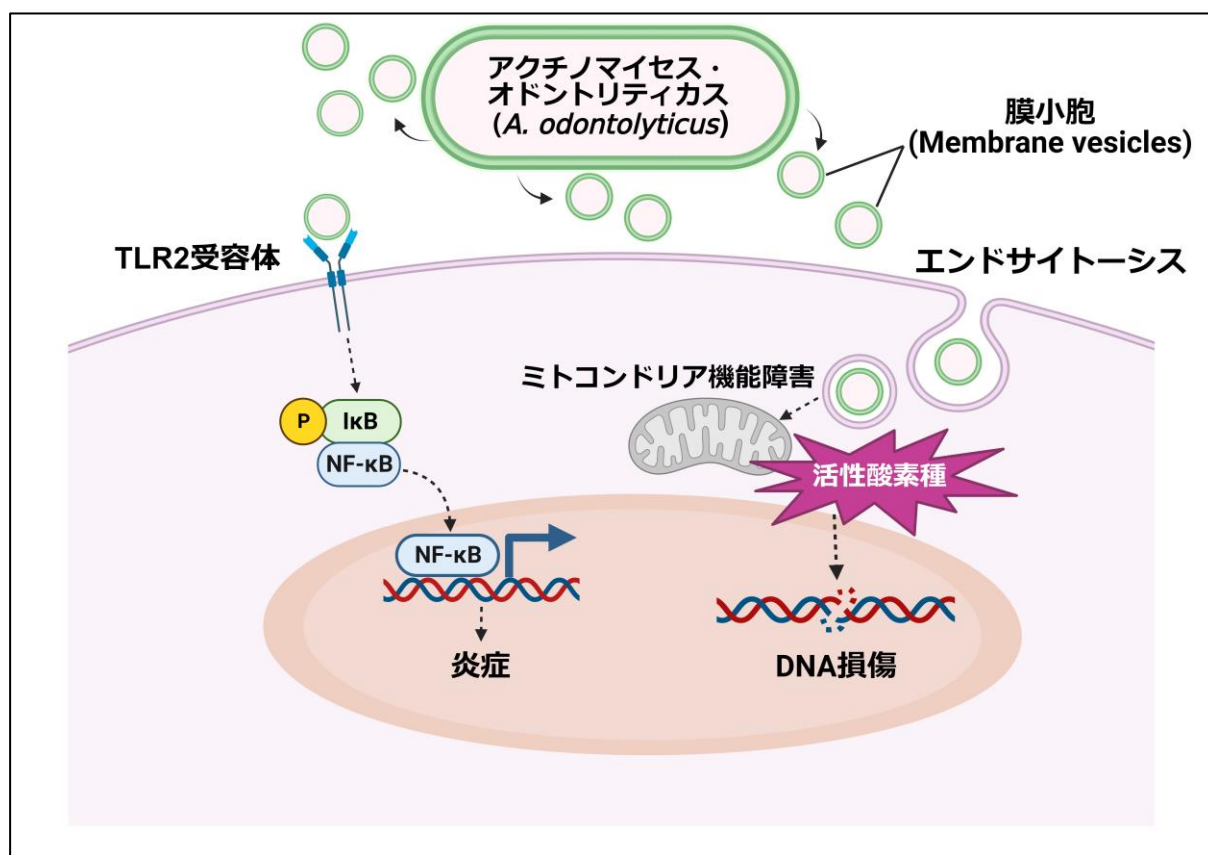


図1：本研究の概要

発表内容

【研究の背景】

大腸がんは世界で3番目に多い癌で年間約190万人が新たに罹患しています。近年、腸内細菌が大腸がんの進展に大きく関与していることが知られてきています。人の腸内には約30～100兆個の腸内細菌が存在し、大腸の腸管上皮細胞（大腸上皮細胞）と相互に作用しあっています。中でもフソバクテリウム・ヌクレアタム（*F. nucleatum*、注5）という口腔内細菌が大腸がんの進展に関与することはこれまでも数多く報告されています。そうした中、2019年に同じく口腔内細菌である *A. odontolyticus* が大腸がんの発癌初期段階の患者の便に特徴的に多く存在することが報告されました。しかし、発癌との因果関係は不明でした。

【研究内容】

研究グループは、*A. odontolyticus*が大腸がんの発症に直接的に関与するという仮説を立て、まず腸管上皮細胞に与える影響を調べるために *A. odontolyticus* と不死化ヒト大腸上皮細胞（注6）との共培養実験を行ったところ、*F. nucleatum*と同様にNF- κ Bシグナル（注7）を亢進し大腸上皮細胞で炎症を惹起することがわかりました。しかし、*F. nucleatum*の病原性において重要とされる腸管上皮細胞との接着性を評価したところ、*F. nucleatum*とは異なり *A. odontolyticus*の大腸上皮細胞への接着性は低く、*A. odontolyticus*が大腸上皮細胞に影響を及ぼす際には *F. nucleatum*とは異なるメカニズムが存在すると考えて、さらに検討を進めました。

近年、細胞が放出する細胞外小胞が細胞間の情報伝達や疾患に関与することが知られてきていますが、腸内細菌も「膜小胞（MVs）」と呼ばれる細胞外小胞を産生することが報告されてきました。研究グループは、*A. odontolyticus*が菌体外に放出するMVsが病原因子となるのではないかと考え、この細菌のMVsを抽出し、細胞のノックアウト（注8）実験から、MVsがToll様受容体2（TLR2）に作用し炎症性シグナルを亢進させることを示しました（図2）。

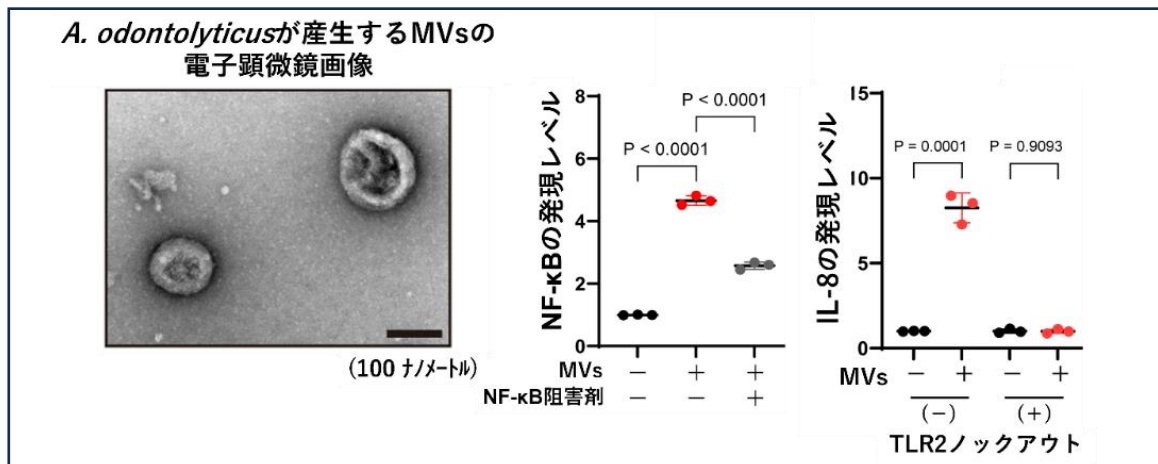


図2: *A. odontolyticus*が産生するMVsは、TLR2 依存的に炎症性シグナルを活性化する

*A. odontolyticus*が産生するMVsを細胞に添加すると、炎症性シグナルであるNF- κ Bシグナルが活性化し炎症性シグナルである炎症性サイトカイン（IL-8）の発現が亢進した。TLR2ノックアウトによってTLR2の発現を抑えるとIL-8の増加が抑制されたことから、MVsが大腸上皮細胞に炎症を起こす作用はTLR2依存的であることが分かった。

さらに、*A. odontolyticus*由来のMVsは大腸上皮細胞に炎症を惹起するだけでなく、腸管上皮細胞内で活性酸素種の産生亢進を介してDNA損傷を引き起こすことを見出しました。培養細胞株だけでなく、ヒトiPS細胞由来のミニ腸（注9）においても腸管上皮細胞にDNA損傷が惹起されました。さらに、*A. odontolyticus*由来のMVsをマウスの大腸に経肛門的に注入し続けると、腸管上皮細胞にDNA損傷が惹起されるとともに大腸に異形成（注10）が発生しました（図3）。また、DNA損傷につながる活性酸素種の増加には、*A. odontolyticus*由来のMVsの大腸上皮細胞内への取り込み（エンドサイトーシス、注11）が必須であることを同定しました。エンドサイトーシスによって腸管上皮細胞内に取り込まれたMVsは細胞内のミトコンドリアに局在し、ミトコンドリアの機能障害を引き起こすことによってミトコンドリアでの活性酸素種の過剰な産生をもたらす分子機構が示されました（図4）。これらの結果から、*A. odontolyticus*が関与する大腸がん発症メカニズムの一端が明らかになりました。

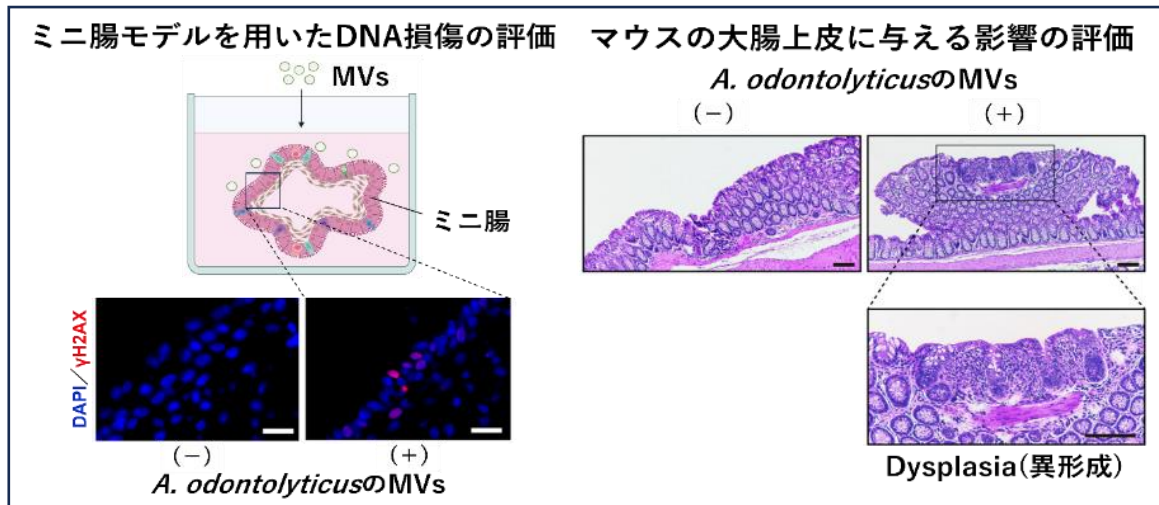


図3: *A. odontolyticus* 由来の MVs は、大腸上皮細胞の DNA 損傷を惹起し腸管上皮の異形成をもたらす
 (左) *A. odontolyticus* 由来の MVs を添加したミニ腸では、細胞の核 (DAPI で染色: 青色) の内部に、損傷した DNA (γ H2AX で染色: 赤色) が観察された。
 (右) *A. odontolyticus* 由来の MVs を投与したマウスの大腸上皮には、前がん病変の初期段階とされる異形成が形成された。

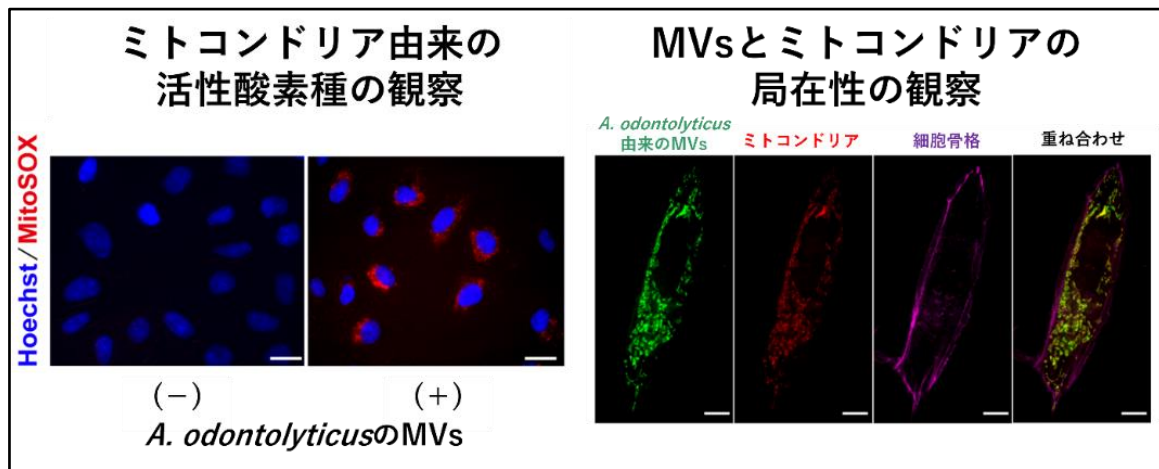


図4: *A. odontolyticus* 由来の MVs は腸管上皮細胞内のミトコンドリアに局在し活性酸素種を産生させる
 (左) ヒト不死化大腸上皮細胞に *A. odontolyticus* 由来の MVs を投与すると、細胞の核 (Hoechst: 青色) の外に、ミトコンドリア由来の活性酸素種 (MitoSOX: 赤色) が過剰に産生された。
 (右) ヒト不死化大腸上皮細胞内に取り込まれた MVs (緑色) はミトコンドリア (赤色) と共局在することが示された。

【社会的意義】

これらの研究結果は、慢性炎症と DNA 損傷惹起を介した、*A. odontolyticus* が放出する MVs と大腸がん発症初期段階との関連性を明らかにするものです。これらの経路の理解は、大腸がん発症に対する介入や予防戦略の開発に新たな道を開く可能性があります。また、大腸がんにおける腸内細菌の役割に関する研究の発展や、新規治療法や診断法の開発の基盤になる可能性があります。

発表者・研究者等情報

東京大学

医学部附属病院 光学医療診療部

宮川 佑 特任臨床医

研究当時：東京大学大学院医学系研究科 内科学専攻 消化器内科学 医学博士課程

大学院医学系研究科 内科学専攻 消化器内科学

藤城 光弘 教授

兼：東京大学医学部附属病院 消化器内科 科長

岡山大学

学術研究院医歯薬学域 消化器・肝臓内科学

大塚 基之 教授

兼：岡山大学病院 消化器内科 科長

研究当時：東京大学大学院医学系研究科 内科学専攻 消化器内科学 講師

東京大学医学部附属病院 消化器内科

論文情報

雑誌名：Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology

題名：Gut bacteria-derived membrane vesicles induce colonic dysplasia by inducing DNA damage in colon epithelial cells.

著者名：宮川 佑、大塚基之*、柴田智華子、清宮崇博、山本恵介、石橋 嶺、岸川孝弘、田中恵理、砂河孝行、武田憲彦、神尾宜昌、今井健一、藤城光弘

*：責任著者

DOI：10.1016/j.jcmgh.2024.01.010

URL：<https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2024.01.010>

注意事項（解禁情報）

日本時間2月2日午前5時（米国東部標準時：1日15時）以前の公表は禁じられています。

研究助成

本研究は、JSPS 科研費「肝星細胞由来の分泌膜小胞の超精密分析を基盤とした老化に伴う肝疾患の病態解明（課題番号：20J20625）研究代表者：柴田智華子」、「血中循環腫瘍細胞を用いた大腸癌遠隔転移を規定する遺伝子群の同定（課題番号：21K15916）研究代表者：石橋嶺」、科学技術振興機構（JST）CREST の「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」領域（研究課題名「細胞外微粒子の1粒子解析技術の開発を基盤とした高次生命科学の新展開」研究代表者：渡邊力也、研究分担者：大塚基之、課題番号：JPMJCR19H5）などの支援により実施されました。

用語解説

(注1) アクチノマイセス・オドントリティカス (*A. odontolyticus*) :

口腔内の常在菌の一種で歯周病との関連があるとされる菌。大腸癌の初期段階の患者の腸内に多く存在することが2019年に報告された。

(注2) 細胞外小胞 :

細胞が放出する、脂質に覆われた径100 nm前後の粒子。この小胞には多彩な生理活性物質が含まれており、他の細胞との情報伝達の役割を担っていると考えられている。細菌も同様の構造物である膜小胞(Membrane vesicles: MVs)という独自の細胞外小胞を産生するが、その産生機構や生理活性についてはわかっていないことが多い。

(注3) 活性酸素種 :

酸素を用いてエネルギーにする際の副産物として産生される、反応性の高い分子群。過剰に産生されると酸化ストレスによりDNA損傷の原因の一つになる。

(注4) Toll様受容体2 (TLR2) :

ヒトの細胞に発現し微生物などの病原体のセンサーとして働くToll様受容体の一つで、これまでに10種類が同定されている。TLR2は主に細菌の細胞壁の成分を認識し、免疫反応を起こす下流シグナルへ伝達する。

(注5) フソバクテリウム・ヌクレアタム (*F. nucleatum*) :

口腔内の常在菌の一種で、歯周病の原因菌の一つ。近年、大腸がんとの関連が多数報告されている。

(注6) 不死化ヒト大腸上皮細胞 :

研究用途のために、がん化していない正常なヒト大腸上皮細胞を、細胞分裂を制限する能力を失わせることで不死化させた細胞。

(注7) NF- κ Bシグナル :

炎症応答を制御する重要なシグナルの一つで、特定の刺激に応答して炎症性サイトカインの発現を調節する。慢性炎症に関与し腫瘍の形成や進行に関わる。

(注8) ノックアウト :

特定の遺伝子の発現を抑制する技術。

(注9) ヒトiPS細胞由来のミニ腸 :

2017年に開発された、ヒトのiPS細胞から創られた腸の立体臓器モデル。本研究で用いたミニ腸は腸上皮が外側に配向しているのが特徴。

(注10) 異形成 :

前がん病変の初期段階とされる、形態が正常から異なった状態。

(注11) エンドサイトーシス :

細胞が細胞外の物質を包み込んで取り込む機構の一つ。

問合せ先

〈研究内容に関するお問い合わせ先〉

東京大学医学部附属病院 光学医療診療部

特任臨床医 宮川 佑 (みやかわ ゆう)

岡山大学学術研究院医歯薬学域 消化器・肝臓内科学

教授 大塚 基之 (おおつか もとゆき)

電話 : 086-235-7218

〈JST事業に関すること〉

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ

保田 睦子 (やすだ むつこ)

電話 : 03-3512-3524

〈広報担当者連絡先〉

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター

担当 : 渡部、小岩井

電話 : 03-5800-9188 (直通)

岡山大学総務・企画部広報課

担当 : 山本

電話 : 086-251-7292

科学技術振興機構 広報課

電話 : 03-5214-8404