

## 坂本 悠樹 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

Relationship between *Fusobacterium nucleatum* and antitumor immunity in colorectal cancer liver metastasis  
(大腸癌肝転移における細菌 *Fusobacterium nucleatum* と腫瘍免疫の関連)

大腸癌は日本においては年間15万人以上が罹患し、癌による死亡数の男性で3位、女性では1位の要因となっている。これまでの研究から、食餌（赤身肉など）、肥満、炎症性腸疾患などがリスク要因として明らかになっており、また最近ではそれらの要因と腸内細菌叢の関わりが注目されている。なかでも、歯周病に関連する口腔内常在菌である *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) が大腸癌の発育・進展を促進する可能性が数多く報告され、大腸癌研究で注目されている。マウスモデルでは大腸癌原発巣において腫瘍免疫を抑制することが報告されている。一方、*F. nucleatum* は大腸癌肝転移においても認められ、*F. nucleatum* が大腸癌肝転移の進展においても関わる可能性があるが、その詳細についてはほとんどわかっていない。本研究では、ヒト大腸癌肝転移組織に検出される *F. nucleatum* を解析するとともに、転移局所における腫瘍免疫に対する影響を解析し、大腸癌肝転移におよぼす *F. nucleatum* の作用を明らかにすることを目的とした。

2001年1月から2018年1月に大腸癌肝転移に対して切除を施行した181例の大腸癌肝転移パラフィン包埋切片からDNAを抽出し、quantitative polymerase chain reaction法(qPCR法)で *F. nucleatum* の存在量を評価した。大腸癌肝転移組織切片中のCD8陽性T細胞、myeloid derived suppressor cell (MDSC, CD33陽性細胞)、tumor-associated macrophage (TAM, CD163陽性細胞)を免疫組織化学染色で評価した。炎症性サイトカイン(インターロイキン-6 [IL-6])、腫瘍壊死因子 $\alpha$  (TNF $\alpha$ )を免疫組織染色にて評価した。

解析した181例のヒト大腸癌肝転移組織中、8例(4.4%)で *F. nucleatum* がqPCRにより検出され陽性例と判断された。*F. nucleatum* の存在と臨床因子との相関を解析した結果、年齢、性別、腫瘍局在(右側、左側)、腫瘍径、腫瘍個数、腫瘍マーカー(GEA, CA19-9)との間に相関は見られなかった。肝転移巣腫瘍境界部に浸潤しているCD8陽性T細胞数を検討したところ、浸潤細胞数が少ない症例では肝切除後無再発生存率が有意に不良であることがわかった。また、大腸癌肝転移に *F. nucleatum* が検出された症例は腫瘍境界部に浸潤するCD8陽性T細胞が有意に少なかった( $P = 0.033$ )。さらに *F. nucleatum* 陽性症例では、陰性症例と比べて肝転移巣に浸潤したMDSCが多いこと( $P = 0.001$ )が明らかとなった。一方、*F. nucleatum* の有無と肝転移巣に浸潤するTAMには相関を認めなかった( $P = 0.70$ )。以上の結果から、肝転移巣に存在する *F. nucleatum* は腫瘍免疫に作用することで、大腸癌肝転移の予後に影響を及ぼす可能性が示唆された。

審査では、1) *F. nucleatum* に着目した理由、特に他の腸内細菌叢との関連、2) MDSCの増加とCD8陽性T細胞が減少する理由、3) 必須アミノ酸と腸内細菌叢の影響と予防との関連、4) 肝転移の経路・メカニズム、5) 術前化学療法との関連、6) 肝切除と予後の関連、7) PCR偽陽性に対する検討、8) CD8陽性T細胞と予後の関連、9) 細菌病原因子(接着因子)との関連、10) 口腔内 *F. nucleatum* 保菌率との関連、など多くの質問がなされ、申請者からは概ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、大腸癌肝転移組織に存在する *F. nucleatum* が腫瘍免疫を抑制し、癌の進展に影響を与えている可能性を明らかにした有意義な研究であり、学位の授与に値するものと評価された。

審査委員長 微生物学担当教授

(署名)

澤 智裕