

公益財団法人 セコム科学技術振興財団
研究成果報告書

研究課題名

腸内細菌由来新規大腸がんリスク要因、コリバクチンの発がん機序解明と予防法の確立

Understanding a mechanism of an onset of colorectal cancer by colibactin and
its cancer prevention

研究期間

平成 31 年 10 月 ～ 令和 5 年 9 月

報告年月

令和 5 年 9 月

研究代表者

静岡県立大学 薬学部 教授

渡辺 賢二

Department of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka
Professor Kenji Watanabe

概 要

本研究の目的は大腸がん患者数を減少させることにある。その目的を達成するための方法として、腸内細菌由来大腸がん原因物質コリバクチンが大腸がんを誘起するメカニズムの解明とコリバクチン生産抑制法の考案に取り組んだ。コリバクチン化学構造解析およびコリバクチン産生菌の感染ルート解明に加え、コリバクチンの高感度検出法の確立のためのコリバクチン産生菌に対する抗体の探索、コリバクチン産生菌の増殖抑制およびコリバクチン産生阻害因子の探索で得られた研究成果について報告する。

大腸がんの罹患数、死亡者数はともに増加傾向にある。しかし、そのリスク因子については未解明の部分が多い。近年、一部の腸内大腸菌が産生するコリバクチン (colibactin、図 1) が遺伝毒性、発がん性を有していることが報告され、この物質が大腸がんのリスク要因になっていることが指摘されている (Nougayrede, J.-P. et al. Science 2006, Pleguezuelos-Manzano, C. et al. Nature, 2020, Dziubańska-Kusilbab, P.J. et al. Nature Medicine, 2020)。

我々の AMED 等の先行研究成果として、日本人における大腸がん患者の 64% (健常成人コリバクチン産生菌保菌率 27%) が本菌の保有者であることを明らかにした。また、我々はヒトの大腸がん組織検体より数十株のコリバクチン産生菌の分離、培養に成功し、ある種の株 (E. coli-50 と命名) は既報のコリバクチン産生菌と比較して数 10 倍もの高生産量を示した (Hirayama, Y. et al. Org. Lett. 2019)。更に、E. coli-50 は哺乳動物細胞に小核を誘発するとともに、コリバクチン特異的な DNA 鎖切断活性を示し (Kawanishi, M. et al. J. Toxicol. Sci. 2019)、マウス大腸にも遺伝子傷害を誘発した (Narita, T. et al. In Vivo 2022)。また、ヒト大腸がん由来の E. coli-50 の培養液より分離したコリバクチンの化学構造を明らかとした (Zhou, T. et al. JACS 2021)。更に、疫学およびヒト介入試験より乳酸菌がコリバクチン産生菌の阻害因子であることを明らかにするとともに (Watanabe, D. et al. Sci. Rep. 2020)、コリバクチン産生菌の感染は新生児から乳児期における母子感染が主な感染ルートであることを強く示唆する結果を得た (Tsunematsu, Y. et al. BMC Microbiol. 2021)。

続いて、大腸がん組織から分離したコリバクチン高生産株 E.coli-50 を用いて目的化合物の探索を試みた。その方法として、colibactin 生合成遺伝子の一つ clbP を破壊した clbP 欠損株を作製し、野生株との比較解析を通じて、野生株特異的代謝産物を探索した。解析の結果、分子式 $C_{37}H_{40}O_8N_8S_2$ を示す化合物コリバクチン 788 を見出した。続いてコリバクチン 788 を各種クロマトグラフィーを用い精製した後、NMR 解析を行ったが、化学構造の解明には至らなかった。この時、重メタノール中にて、コリバクチン 788 の分解およびメタノリシス分解物 420 および 430 の生成が観測された。同様に野生株培養液のメタノール抽出物中にも対応する軽メタノリシス分解物 420 および 430 が見出されたため、精製を行った。一方、分解の原因であるコリバクチン 788 のジケトン部分を安定化したキノキサリン誘導体化合物キノキサリン 860 を調製した後、NMR 解析を行い化学構造の解析に成功した。本研究では、野生型の生産菌から世界で初めてコリバクチン類の化学構造解析に成功し、コリバクチンが容易に他の化学構造へと変化するメカニズムの一端を明らかにした。