

令和 2 年 5 月 11 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08950

研究課題名(和文) 抗がん薬による下痢・腸炎の病態解明と新治療法の開発

研究課題名(英文) Mechanism of diarrhea/enteritis caused by anticancer drugs and development of new treatment

研究代表者

安藤 雄一 (Ando, Yuichi)

名古屋大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：10360083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトの腸内細菌が循環血液中に移動する現象であるバクテリアルトランスロケーションに着目して、ヒト血液中の細菌を高感度に検出する検査法を用いて、抗がん薬の副作用の発症との関連を調べた。その結果、がん患者は抗がん薬の投与に関わらず常にバクテリアルトランスロケーションが発生しやすい状態であることが判明した。バクテリアルトランスロケーションは抗がん薬の副作用である発熱性好中球減少症や感染症、さらに下痢・腸炎の誘因となっている可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般に、抗がん薬の副作用は骨髄細胞をはじめとする正常細胞の傷害によって引き起こされる。本研究では、抗がん薬の投与による腸管壁細胞の傷害とは直接関係なく、がん患者ではバクテリアルトランスロケーションが常に発生しやすい状態であること、それが副作用の発症に関わっている可能性を見出した。抗がん薬の副作用の新しい治療法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：By focusing on bacterial-translocation, phenomenon in which human intestinal bacteria migrate into circulating blood in human body via intestinal wall, using highly-sensitive detection assay for viable bacteria, I investigated whether bacteria in the blood would be associated with the occurrence of adverse effects of cancer chemotherapy. The results revealed that patients with cancer were always prone to bacterial-translocations regardless of the administration of anticancer drugs, suggesting that bacterial-translocation would be the cause of febrile neutropenia, infection, and diarrhea/enteritis, which are caused by cancer chemotherapy.

研究分野：臨床腫瘍学，がん薬物療法，臨床薬理学

キーワード：バクテリアルトランスロケーション がん薬物療法 副作用 発熱性好中球減少

1. 研究開始当初の背景

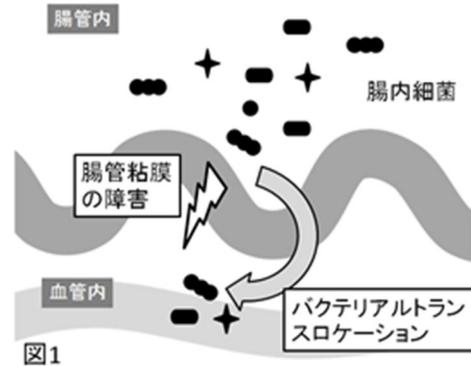
(1) がん薬物療法において副作用マネジメントは重要な課題である

がん薬物療法の治療効果の向上とともに、有効な治療をより長期間継続する必要性という観点から、副作用の適切なマネジメントは臨床における重要な課題となっている。とくに、発熱性好中球減少はときに致死的であり、細菌感染に関連すると考えられるが、70-80%は起因菌が不明である。下痢や腸炎は従来の殺細胞性抗がん薬では稀であったことや止痢薬や水分補給など保存的治療によって軽快することが多いため、その病態やマネジメントについては詳細に研究されていない。とくに経口分子標的薬、近年汎用される免疫チェックポイント阻害薬では下痢や腸炎の発症が問題となる。

(2) バクテリアルトランスロケーションの検討はがん薬物療法の副作用の病態解明につながる

近年、腸内細菌叢と全身の病態の関係が注目されている。がん薬物療法においては、抗がん薬によって腸管粘膜が障害されると、全身免疫力の低下や栄養不全なども影響して、腸内細菌が腸管粘膜上皮のバリアーを超えて血流やリンパ流を介して体内に移行する状態、すなわちバクテリアルトランスロケーションが起こる(図1)。

がん薬物療法による重要な副作用である発熱性好中球減少症は、障害を受けた腸粘膜を腸管内細菌が通過し腸管外組織に移行して菌血症を起こすことがそのリスク因子と考えられている。抗がん薬の副作用リスクが高いとされる高齢者、進行した病期、手術後、過去に治療歴のある患者では、すでに無症候性に菌血症になっている可能性がある。



(3) 高感度の rRNA RT-qPCR 法によって患者血液中の細菌を検出・定量できる

本研究で使用した定量的逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖反応法(rRNA RT-qPCR 法)は、生きている細菌中に多コピー存在するリボソーム RNA(rRNA)分子を標的とするため、一般診療で行われる血液培養検査と比較して、高感度に細菌を検出することができる。すなわち、無症候性の状態でも菌血症を直接証明することが可能である。また、従来の血液培養では困難であった偏性嫌気菌の検出も可能である。通常の採血時に同時に検体を採取することができ、患者への侵襲も少ない。小児がんの発熱性好中球減少症を対象にした既報の研究では、従来の血液培養では16%であった血液中の細菌検出率が、rRNA RT-qPCR 法では約70%であった。

以上より、本研究ではがん薬物療法を受けている患者、副作用として下痢・腸炎を発症した患者、またはその副作用リスクの高い患者の血液中の細菌を同定し定量することにより、副作用とバクテリアルトランスロケーションとの関連を検討することにした。

2. 研究の目的

本研究では、ヒトの腸内細菌が循環血液中に移動する現象であるバクテリアルトランスロケーションに着目して、血液中の細菌を高感度に検出する検査法を利用して、抗がん薬の副作用、とくに発熱性好中球減少症および下痢・腸炎の発症との関連を調べた。

血液中から細菌が検出される頻度と菌種、それらと臨床症状や重症度との関連、さらに抗がん薬の種類による特徴を明らかにすることは、抗がん薬による副作用の病態解明につながり、さらに発症を予測するバイオマーカーの開発、乳酸菌やビフィズス菌などの投与によって腸内細菌叢をコントロールするなどの新治療法の開発につながる可能性がある。

3. 研究の方法

抗がん薬の投与を受ける患者、副作用リスクの高い治療を受ける患者、副作用を発症した患者から得られる血液中の細菌を rRNA RT-qPCR 法を用いて同定・定量し、細菌検出率、抗がん薬の別による細菌検出率、細菌菌種の特徴、それらと年齢や既治療歴などとの関係を調べた。

(1) 発熱性好中球減少症に着目した解析

名古屋大学医学部附属病院で初回のがん化学療法を受ける20歳以上の患者を対象とした。全身治療を要する感染症を有する患者、コントロール不良(HbA1c(NGSP 値)7.4%以上)の糖尿病を有する患者、ヨードアレルギーの患者は除外した。化学療法開始前(開始前日または当日)および化学療法中(開始後8日目から22日目の間)の計2回で血液検体(各1.0ml)を採取した。皮膚常在菌の混入を防ぐため、周囲をポピドンヨードで消毒し、滅菌手袋を着用して血液採取を行った。

採取した血液は検体安定剤の入ったスピッツに入れ-80℃にて保管し、3週間以内にヤクルト中央研究所に冷凍便で輸送し rRNA RT-PCR 法を用いて細菌を検出した。なお、ヤクルト本社中央研究所は本法の特許を有している。本研究に關係してヤクルト本社またはその関連企業から資金の提供はない。

主要評価項目はがん化学療法前後の血液検体からの細菌検出率、副次評価項目は発熱性好中球減少症、発熱、感染症(有害事象共通用語基準 第4版)、同定菌種とした。

(2) 下痢・腸炎に着目した解析

下痢・腸炎を発症、またはその発症リスクが高い治療を受ける20歳以上の患者を対象とした。グレード2以上の下痢または大腸炎の発症時に血液検体(1.0mL)を採取した。下痢・腸炎の発症リスクが高い治療を受ける患者では、抗がん薬投与直前の採血時と、バクテリアルトランスロケーションが起こると予想される治療開始後8~28日目の間の計2回で血液検体(各1.0mL)を採取した。同意が得られた患者では細菌学的検索のための便も採取した。検体採取後の処理は(1)と同じ。主要評価項目は、抗がん薬による下痢・腸炎を発症した患者またはその発症のリスクの高い治療を受ける患者から得られる血液検体からの細菌検出率とした。本解析は50例を予定したが、症例集積が計画通りに進まなかった。

(3) 倫理面への配慮

本研究は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を経た後に実施する。個々の患者(被験者)への説明と同意では、研究協力の任意性と撤回の自由、研究計画、患者にもたらされる利益および不利益、個人情報保護(データおよび試料は匿名化ののちパスワードを設定したファイルに記録し、それらを保存する記憶媒体は鍵の掛かるキャビネットに保管する)、研究成果の公表、研究から生じる知的財産権の帰属、研究終了後の試料の取扱方針、費用負担に関する事項について患者自身に十分に説明し、文書にて同意を得る。すべての研究者は指定された研究倫理の講義を受講することにより、名古屋大学臨床研究認定者制度による資格を取得する。

4. 研究成果

(1) 発熱性好中球減少症に着目した解析

表1 患者背景

Age (years)	
Median (range)	58 (23-80)
< 65 years (n)	26
≥ 65 years (n)	13
Gender (n)	
Male	7
Female	32
Performance status (n)	
0	35
1	4
Cancer origin (n)	
Breast	14
Uterus	8
Ovary	3
Pancreas	7
Malignant lymphoma	6
Germinoma	1
Chemotherapy regimen (n)	
Dose-dense epirubicin + cyclophosphamide	14
Paclitaxel + carboplatin	10
Docetaxel + carboplatin	1
FOLFIRINOX	7
R-CHOP	5
R-COP	1
ICE	1

FOLFIRINOX fluorouracil, levofolinate, irinotecan, oxaliplatin, R-CHOP rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisolone, R-COP rituximab, cyclophosphamide, vincristine, prednisolone, ICE ifosfamide, carboplatin, etoposide

2017年12月までに50例から同意を取得した。ある時期に検体の一部から *Pseudomonas aeruginosa* が検出されたが、これは水中にも存在する環境菌で血液から検出されることは非常に稀であり、また同時期に検出が集中したことから輸送までの間にコンタミネーションが起こった可能性が考えられた。そのため、同時期に輸送した10例の検体はすべて解析から除外した。1例は血小板減少によりがん化学療法が中止になったため解析から除外した。

解析した39例は、男性は7例、女性は32例、年齢中央値は58(23-80)歳であった。治療レジメンは乳癌 dose dense EC 療法が14例、膵癌 FOLFIRINOX 療法が7例、悪性リンパ腫 R-C(H)OP 療法が6例、子宮体癌 TC/DC 療法が8例、卵巣癌 TC 療法が3例、ジャーミノーマ ICE 療法が1例であった(表1)。細菌の検出は化学療法開始前に10例(25.6%)、開始後に11例(28.2%)で認められた。同定菌種は *Enterobacter* 属、*Escherichia* 属、*Clostridium* 属、*Collinsella* 属などの腸内細菌であり、口腔内の常在菌である *Streptococcus* 属も検出された(表2, 表3)。原発臓器、レジメンによる細菌検出率の差は認められなかった。

発熱性好中球減少を発症した5例(ジャーミノーマ、膵癌、悪性リンパ腫、子宮体癌、乳癌それぞれ1例)のうち3例(60%)で化学療法の開始後に細菌が検出された。検出された菌種

は *Escherichia* 属、*Collinsella* 属、*Streptococcus* 属であった(表3)。

65歳以上の13例のうち6例(46.1%)で細菌を検出した。化学療法前に3例(23.1%)、化学療法中に5例(38.5%)で細菌を検出した。65歳未満の12例(46.1%)と比較し細菌検出率に有意差は認めなかった。

表2 血液中から細菌を検出した患者(発熱性好中球減少を発症した患者を除く)

Age	Sex	Regimen	Before chemotherapy (cells/ml)	During chemotherapy (cells/ml)
37	F	R-CHOP	-	<i>Collinsella intestinalis</i> , <i>stercoris</i> (1.6), <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>pyogenes</i> (3.0)
41	F	FOLFIRINOX	<i>Enterobacteriaceae</i> (2.5)	-
46	F	ddEC	-	<i>Escherichia coli</i> (27.5)
47	F	ddEC	-	<i>Clostridium leptum</i> subgroup (3.6)
50	F	ddEC	<i>Streptococcus mitis</i> , <i>dentisani</i> (3.0)	-
51	F	ddEC	<i>Escherichia coli</i> (1.2)	-
55	M	FOLFIRINOX	<i>Enterobacter ludwigii</i> , <i>cloacae</i> , <i>asburiae</i> (2.1)	-
57	F	TC	-	<i>Escherichia coli</i> (3.8)
58	M	FOLFIRINOX	<i>Escherichia coli</i> (2.0)	-
59	F	ddEC	-	<i>Collinsella aerofaciens</i> (2.0), <i>Escherichia coli</i> (5.0)
62	F	TC	<i>Ruminococcus obeum</i> , <i>Blautia obeum</i> (1.3)	-
65	F	TC	<i>Clostridium leptum</i> subgroup (3.6)	-
69	F	TC	<i>Enterobacter xiangfangensis</i> , <i>hormaechei</i> , <i>cloacae</i> (23.7)	<i>Clostridium leptum</i> subgroup (3.6)
78	F	TC	-	<i>Streptococcus mitis</i> (64.5), <i>Staphylococcus capitis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (3.0)
80	M	R-COP	-	<i>Enterobacter ludwigii</i> , <i>cloacae</i> , <i>asburiae</i> (1.6)

M male, F female, dose-dense EC epirubicin, cyclophosphamide, TC paclitaxel, carboplatin, DC docetaxel, carboplatin, FOLFIRINOX fluorouracil, levofolinate, irinotecan, oxaliplatin, R-CHOP rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisolone, R-COP rituximab, cyclophosphamide, vincristine, prednisolone, ICE ifosfamide, carboplatin, etoposide

表3 発熱性好中球減少を発症した患者と血液中から検出された細菌

Age	Sex	Regimen	Before-chemotherapy (cells/ml)	During-chemotherapy (cells/ml)	Neutrophil count (μl) ^a	Blood culture
23	M	ICE	-	-	100	Unexecuted
46	M	FOLFIRINOX	-	-	200	Negative
50	F	R-CHOP	<i>Enterobacteriaceae</i> (1.2)	<i>Collinsella intestinalis</i> , <i>stercoris</i> (2.2), <i>Streptococcus mitis</i> (2.0)	100	Negative
66	F	DC	-	<i>Escherichia coli</i> (2.7)	300	Unexecuted
71	F	ddEC	<i>Enterobacteriaceae</i> (1.2)	<i>Escherichia coli</i> (1.5)	100	Unexecuted

M male, F female, dose-dense EC epirubicin, cyclophosphamide, DC docetaxel, carboplatin, FOLFIRINOX fluorouracil, levofolinate, irinotecan, oxaliplatin, R-CHOP rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisolone, ICE ifosfamide, carboplatin, etoposide

^aNeutrophil count when FN occurred

以上より、細菌検出は化学療法開始前に10例(25.6%)、開始後に11例(28.2%)で認められ、その頻度は化学療法前後でほぼ同等であった。主な同定菌種は *Escherichia* 属、*Enterobacter* であり、注目すべき点として化学療法前後で同定菌種が異なっていた。担がん患者では、化学療法を受けているかどうかに関わらず、腸内や口腔内の細菌が絶えず血液循環に出入りするバクテリアルトランスロケーションが発生していると考えられた。おそらく免疫不全状態の患者においても同様の現象が起こっていると考えられ、実際、本研究と同じ高感度アッセイを使用した既報の研究では、2型糖尿病患者50例のうち14例(28%)、および食道がん患者21例のうち5例(23.8%)で血液中に細菌が検出されていた。一方、健常者50例のうち細菌が検出されたのは2例(4%)のみであった。

(2) 下痢・腸炎に着目した解析

2018年度より、免疫チェックポイント阻害薬による下痢・腸炎を発症した患者を対象に、同じrRNA RT-PCRを用いて血中の細菌検出頻度を検討する研究を開始した。しかし、症例集積が想定通りに進まず中断した(検体は2例)。理由として、支持療法の改善により薬剤性の下痢・腸炎の頻度が少なくなったこと、患者の大半が外来治療であるため下痢発症時に検体を採取することが予想以上に困難であったこと等があげられる。

(3) 結語

腸内細菌が循環血液中に移動する現象であるバクテリアルトランスロケーションに着目して、ヒト血液中の細菌を高感度に検出する検査法を用いて、抗がん薬の副作用の発症との関連を調べた。その結果、がん患者は抗がん薬の投与に関わらず常にバクテリアルトランスロケーションが発生しやすい状態であることが判明した。バクテリアルトランスロケーションは抗がん薬の副作用である発熱性好中球減少症や感染症、さらに下痢・腸炎の誘因となっている可能性が考えられた。一般に、抗がん薬の副作用は骨髄細胞をはじめとする正常細胞の傷害によって引き起こされる。本研究では、抗がん薬による腸管壁細胞の傷害とは直接関係なく、がん患者ではバクテリアルトランスロケーションが常に発生しやすい状態であること、それが副作用の発症に関わっている可能性を見出した。抗がん薬の副作用の新しい治療法の開発につながる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akiko Ota, Sachi Morita, Ayumu Matsuoka, Tomoya Shimokata, Osamu Maeda, Ayako Mitsuma, Tetsuya Yagi, Takashi Asahara, Yuichi Ando	4. 巻 25
2. 論文標題 Detection of bacteria in blood circulation in patients receiving cancer chemotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 210-215
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10147-019-01521-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大田亜希子, 横山幸浩, 山田豪, 八木哲也, 菊森豊根, 廣岡芳樹, 吉川史隆, 満間綾子, 安藤雄一
2. 発表標題 がん化学療法前後における血液中の細菌ribosomal RNA同定の臨床的意義
3. 学会等名 第16回 日本臨床腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	満間 綾子 (Mitsuma Ayako) (10467326)	名古屋大学・医学部附属病院・病院講師 (13901)	
研究分担者	前田 修 (Maeda Osamu) (20378053)	名古屋大学・医学部附属病院・病院准教授 (13901)	
研究分担者	水谷 武史 (Mizutani Takeshi) (60765519)	名古屋大学・医学部附属病院・病院助教 (13901)	

