

令和 6 年 5 月 9 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K07886

研究課題名（和文）化学療法起因性の口内炎と口腔内細菌叢の関係を明らかにし予防方法を確立する研究

研究課題名（英文）A study aimed to elucidate the relationship between chemotherapy-induced oral mucositis (OM) and oral microbiota and establish preventive measures.

研究代表者

梶浦 新也 (Kajiura, Shinya)

富山大学・学術研究部医学系・講師

研究者番号：70456383

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,500,000円

研究成果の概要（和文）：化学療法起因性口内炎と口腔内細菌叢について、抗がん剤投与症例での口内炎発症者と非発症者の16SrRNA解析を比較し、口内炎非発症者に多い細菌を同定した。化学療法起因性の口内炎と支持療法に関して後方視的解析をしたが、乳酸菌製剤と口内炎に相関はなかった。がん悪液質の新規治療薬であるアナモレリン塩酸塩が、化学療法中においては長期の投与期間が得られるが、化学療法が困難となった場合には投与期間が得られないという副次解析が得られ、5th International Conference on Palliative Careで発表し、Journal of Palliative Medicineに採択された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学療法起因性口内炎と口腔内細菌叢について、口内炎非発症者に多い細菌を同定したことで、化学療法起因性口内炎と口腔内細菌叢との関連が示唆される学術的意義がある。乳酸菌製剤によるプロバイオテクスによる化学療法起因性口内炎の治療に結びつくと推定したが、本後ろ向き研究では乳酸菌製剤と口内炎に相関は指摘できなかったが、今後の前向き研究の課題を得る意義はあった。副次的な検討ではあるが、がん悪液質の新規治療薬であるアナモレリン塩酸塩は、化学療法中にこそ投与が検討されるべきであるという学術的社会的意義のある結果が得られた。

研究成果の概要（英文）：We compared 16S rRNA analysis between chemotherapy-induced oral mucositis (OM) patients and non-OM patients to identify bacteria more prevalent in non-OM patients. Despite conducting retrospective analysis on chemotherapy-induced OM and supportive care, no correlation was found between lactobacillus preparations and OM. However, secondary analysis revealed that Anamorelin hydrochloride, a novel treatment for cancer cachexia, showed potential efficacy with prolonged administration during chemotherapy but not feasible in cases where chemotherapy became challenging. These findings were presented at the 5th International Conference on Palliative Care and accepted for publication in the Journal of Palliative Medicine.

研究分野：緩和医療

キーワード：化学療法 口内炎 口腔内細菌叢 乳酸菌製剤 がん悪液質 アナモレリン プロバイオテクス

1. 研究開始当初の背景

化学療法中の口内炎は、疼痛の原因となるだけでなく、食事摂取量の低下、治療継続意欲の低下につながる重要な有害事象である。二次感染を引き起こせばさらに重篤化する。

国内で最も頻用されている経口フッ化ピリミジン系抗がん剤である S1 を例に挙げると、胃癌に対しての単独投与で 21%、cisplatin との併用では 29%の症例に口内炎が認められている (Koizumi W, et al. *Int J Cancer*. 2010 Jan 1;126(1):162-70.)。また、近年急速に臨床応用が進んでいる分子標的薬では、口内炎の発生頻度がさらに増し、膵神経内分泌腫瘍に対する分子標的薬 エベロリムスの投与では、52.9%の症例に口内炎が認められており (Yao JC, et al. *N Engl J Med*. 2011 Feb 10;364(6):514-23.)、特に日本人に限れば 73.9%の症例に認められていた (Ito T, et al. *Jpn J Clin Oncol*. 2012 Oct;42(10):903-11.)。

その一方で、口内炎に対する支持療法の開発は遅れている。現在の治療の主体は、口腔内清掃による口腔内環境の整備と、疼痛に対する対処療法 (具体的には局所麻酔薬含嗽、局所保護剤、ステロイド外用薬、NSAIDs の内服) 原因となる化学療法薬の減量・中止である。

口内炎の発生メカニズムは明らかとなっていない。ステロイドにより治療が促進されることから、アラキドン酸の代謝物が関与している可能性が示唆されているが、定かではない。

消化管潰瘍を起こす代表的疾患として炎症性腸疾患が挙げられるが、腸内細菌がその病因に関与していることが示唆されている。腸内細菌叢のパターンを、PCR を用いて定性的に測定・解析できる Terminal restriction fragment polymorphism (T-RFLP) 法を用いて、我々の施設では、活動期潰瘍性大腸炎患者では、腸内細菌叢の多様性が低下し、本来の常在細菌叢が喪失していることを示した (Nishikawa J, et al. *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(2):180-6.)。また、炎症性腸疾患の腸内細菌叢を改善する治療として糞便移植療法が報告されている (T.J. Borody, et al. *J Clin Gastroenterol*, 37 (2003), pp. 42-47)。さらに、胃潰瘍の発生予防に、ヘリコバクターピロリ菌の除菌治療が有効であることなどから、口腔内細菌叢のパターンが口内炎の発生原因に関与している可能性があり、動物実験では 5FU 起因性の口内炎と口腔内細菌叢の関係が示されている (Trindade LM, et al. *Benef Microbes*. 2018 Apr 25;9(3):477-486)。

口内炎の治療としてのブラッシングや含嗽による口腔ケアは、口腔内細菌叢が改善させ、口内炎を改善させている可能性がある。動物実験では、5FU 起因性の口内炎に口腔内細菌叢が関与し、乳酸菌の経口投与が有効であることが示唆されている (Gerhard D, et al. *Braz Oral Res*. 2017 Jul 3;31)。

ヒトでは、健康者 267 人による乳酸菌含有発酵乳を 100ml/日を 3 ヶ月間経口投与する群と、偽薬を投与する群をランダム化比較したところ、有効性が示され、乳酸菌含有発酵乳は口内炎の予防・治療薬として特許申請 (日本国特許庁出願番号特願平 5-81165) されている。

一方で口腔内への乳酸菌投与は齲歯の原因となる可能性がある。齲歯となりにくい乳酸菌として、健康なヒトの口腔内から *Lactobacillus salivarius* TI2711 が分離され、口腔内乳酸菌製剤として商品化されている (商品名乳酸菌 LS1、製造元株式会社湖池屋)。同口腔内乳酸菌は原材料としてデキストリン、マルチトール、エリスリトール、乳酸菌末、ソルビトール、香料、ショ糖エステル、微粒二酸化ケイ素からなるタブレット剤で、日本細菌学会のバイオセーフティーレベル 1 に分類される安全性があり、動物実験、及び臨床試験において齲蝕の発生や進行が無いことが確認され、非常に安全性が高いことから、医薬品としてではなく、食品として市販されている。口臭の軽減効果や歯周病の予防効果が示されており、主として歯科領域で販売・利用されている。口腔内乳酸菌は、安全な口内炎予防治療法の候補である。

2. 研究の目的

化学療法起因性の口内炎と、口腔内細菌叢の関係をヒトで初めて明らかにすることが特色である。当施設で従来から腸内細菌叢を評価するために用いてきた T-RFLP 法で評価する。

さらに口腔内細菌叢を改善する方法として、口腔内乳酸菌を用いることが独創的である。化学療法中の口内炎に対しての安全な支持療法が確立されれば、治療中の QOL は改善し、口内炎による化学療法の減量・中止が回避され、最終的には治療効果の改善、予後の改善も見込める可能性があり、その臨床的意義は大きい。特に、近年急速に臨床応用が進んでいる分子標的薬は、従来の抗がん剤に比べて口内炎の頻度が増してきており、本研究で口内炎の予防法が確立されれば、今後のがん治療開発において非常に重要な研究となると思われる。

3. 研究の方法

当院でフッ化ピリミジン系抗がん剤を使用した消化器がん化学療法が行われる症例のうち、20

歳以上 80 歳未満で、PS と臓器機能が保たれており、事前に申請承認された説明用紙を用いて本研究の意義・目的を十分に説明した上で文書による同意が得られた症例を対象とする。

登録された症例の口内炎の評価を経時的に行う。また、治療開始前と 3 ヶ月後に、対象症例の唾液を採取する。採取した検体は DNA 抽出処置を行うまで凍結保存され、検体が集積された段階で、16S rRNA 遺伝子を抽出し、T-RFLP 法により口腔内細菌叢のプロファイリングを行う。

T-RFLP 法では、蛍光標識したプライマーを用い、PCR で増幅した DNA を制限酵素で処理することで、DNA 断片のサイズごとの蛍光強度を得ることができる。この蛍光強度に定量性は無いため、ピークの検出数を細菌叢の多様性の指標とするフローラ解析が一般的に用いられる。本研究でも、口腔内フローラ解析にて口内炎の重症度と口腔内細菌叢の多様性（ピーク数）との間の相関係数（効果量として）およびその有意性を評価する。

同時に口腔内乳酸菌の投与を行う。口腔内乳酸菌投与は治療開始時から 3 ヶ月間とする。平成 31 年度の非投与例と比較検討することで、口腔内乳酸菌投与と口腔内細菌叢の関係や、口内炎の発生状況に影響するか統計学的手法を用いて明らかにする。また、全症例の有害事象を抽出して、文献的および過去の症例と比して有害事象の増減を検討し、口腔内乳酸菌投与による有害事象の増加の有無を明らかとする。

副次的解析として、口内炎の程度と治療継続期間、腫瘍縮小効果、全生存期間といった治療効果との関係を、統計学的手法を用いて検討し、口腔内乳酸菌投与による口内炎の予防効果と化学療法の治療効果との関係も推測する。

4. 研究成果

化学療法起因性の口内炎と口腔内細菌叢の関係について、5-FU が開始される消化器がん患者において、口内炎発症者と非発症者の 16SrRNA 解析のデータを比較し、口内炎非発症者に多く存在する細菌を同定することができた。化学療法起因性の口内炎と口腔内細菌叢の関係が示唆されるような結果と考察した。

プロバイオテクスにより化学療法起因性の口内炎の予防効果が見込めるかを明らかにすることについては、コロナ禍という想定外の事象も発生し病院での診療も逼迫したために、研究期間を延長しても予算の都合上でも前向き介入研究を行うことは難しいと判断し、後ろ向きの研究へと変更して研究を遂行することにした。当院の化学療法症例における化学療法起因性の口内炎と、化学療法に対する支持療法の状況について後方視的解析を行なった。乳酸菌製剤等によるプロバイオテクスと口内炎や治療効果との相関は指摘できなかった。

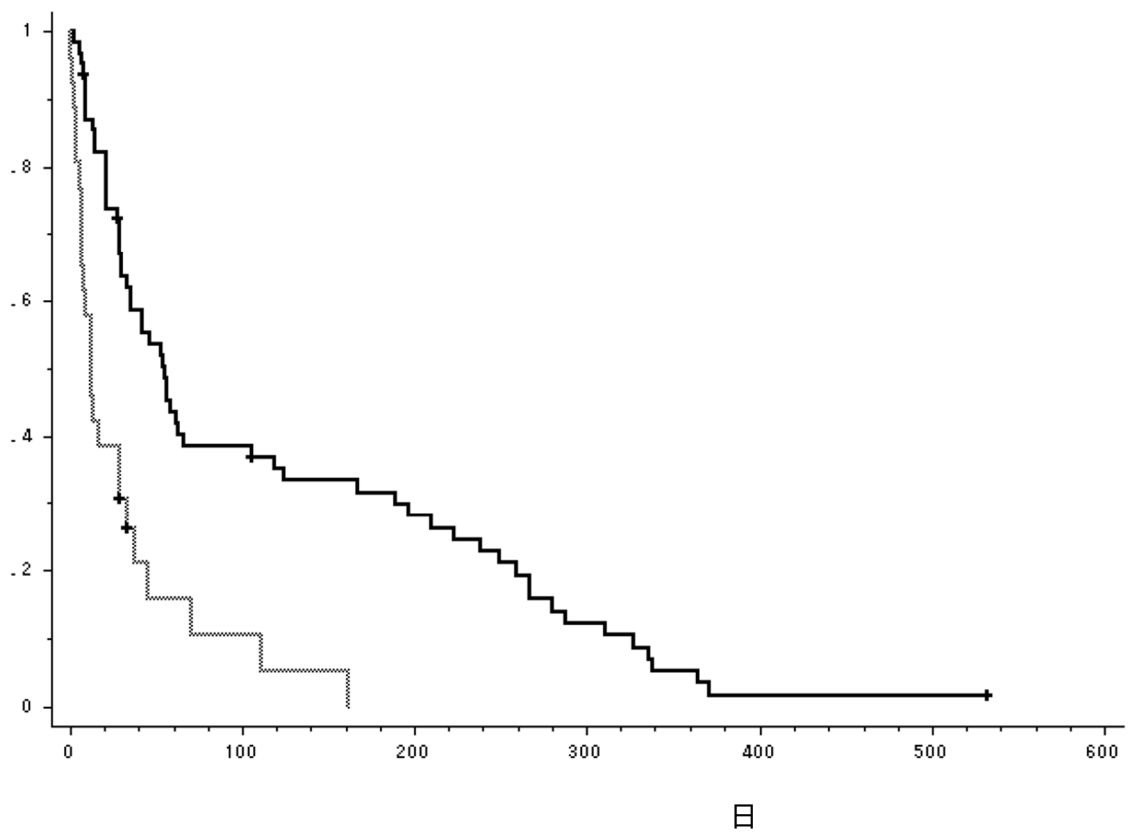
しかし同後方視的解析研究中に、がん悪液質に対する新規治療薬であるアナモレリン塩酸塩は、化学療法中の症例においては長期の投与期間が得られ効果が示唆されるものの、化学療法が困難となった症例においては投与できる期間が短く効果が示唆されないという副次的解析結果が得られた(図 1)。そこで、この結果を主とした解析の研究成果を 5th International Conference on Palliative Care にて発表し、「Prescription Pattern of Anamorelin; a Therapeutic Agent for Cancer Cachexia」として Journal of Palliative Medicine に投稿し採択された。

図 1. アナモレリン塩酸塩の投与期間

—— 化学療法中に開始した症例, n=62, 投与期間中央値 55 日 (範囲 2-532 日)

.....緩和ケアのみの時に開始した症例, n=26, 投与期間中央値 12 日 (範囲 1-161 日)

Logrank test $P < 0.0001$



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 Yoshihiro Tambo ¹ , Shinya Kajiura, Akihiro Yoshida, Shingo Chikaoka, Yuki Tanabe, Nahoko Kanai, Ando Takayuki, Akira Ueda, Iori Moto, Yurika Nakayama, Tomoko Shima, Yukiko Matsusita, Tatsuji Mizukami, Mosaburo Kainuma, Ichiro Yasuda, Ryuji Hayashi | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Prescription Pattern of Anamorelin; a Therapeutic Agent for Cancer Cachexia | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Palliative Medicine | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 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 1件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shinya Kajiura, Yoshihiro Tambo, Akihiro Yoshida, Shingo Chikaoka, Nobukazu Ryu, Yuta Yagi, Ayaka Kadota, Sakie Fukai, Takako Matsushita, Naomi Hayashi, Miyuki Ichikawa, Nahoko Kanai, Yukiko Matsushita, Tatsuji Mizukami, Mosaburo Kainuma, Ryuji Hayashi |
| 2. 発表標題 Prescription status of Anamorelin at Our Institution |
| 3. 学会等名 5th International Conference on Palliative Care（国際学会） |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 畝 好弘, 梶浦 新也, 吉田 明浩, 近岡 伸悟, 龍 伸和, 屋木 佑太, 門田 彩花, 深井 咲衣, 松下 孝子, 林 直美, 倉田 典子, 松下 有希子, 古市 厚志, 水上 達治, 貝沼 茂三郎, 林 龍二 |
| 2. 発表標題 当院におけるアナモレリンの初期処方状況 |
| 3. 学会等名 第28回日本緩和医療学会 |
| 4. 発表年 2023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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|