

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10304

研究課題名（和文）サリバオミクス解析による唾液を用いた口腔癌スクリーニングに関する研究

研究課題名（英文）Salivaomics for oral cancer screening

研究代表者

飯野 光喜（Iino, Mitsuyoshi）

山形大学・医学部・教授

研究者番号：50212717

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、唾液中のタンパク質、代謝物、そして口腔細菌叢を網羅的に測定・解析（サリバオミクス解析）することで、口腔癌患者と健常者とを高精度に判別することができる唾液中の物質・菌叢を同定することを目的とした。そして唾液を用いた口腔癌のスクリーニング検査を確立することを最終的な目的とした。本研究期間に口腔癌患者100名と健常者100名から安静時唾液を採取し、それらの唾液に含まれる代謝物、タンパク質、口腔細菌叢を測定・解析した。本研究により、口腔癌患者と健常者で有意に異なり、かつ高精度な判別能を有する6種類のタンパク質、12種類の代謝物、そして6種類の口腔細菌叢を同定することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔癌のスクリーニング検査として確立している検査は、視診・触診のみである。しかしながら視診・触診の精度は検診医の経験によるところが大きいため、経験に寄らない客観的な検査が望まれている。本研究は、これまで経験に頼るしかなかった口腔癌のスクリーニング検査を、非侵襲性に優れた唾液を用いて行うことができる可能性を有している。さらに本研究は、これまで単一のシステムで行われていたオミクス解析を複数のシステムで行うサリバオミクス解析を行っており、これまでよりも高精度なスクリーニングができる可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：The current study aimed to identify biomarkers for differentiating between patients with oral cancer (OC) and healthy controls (HCs) on the basis of comprehensive analyses of saliva samples. Unstimulated saliva samples were collected from 100 patients with OC and from 100 HCs. Metabolites, proteins, and microbiota in the saliva were comprehensively analyzed. Eight metabolites, six proteins, and six microbiotas differed significantly between OC and HCs. Furthermore, using those, we confirmed the high accuracy for discriminating between patients with OC and HCs. The current study results showed that our identified biomarkers are potential non-invasive biomarkers for OC screening.

研究分野：歯科口腔外科学

キーワード：口腔癌 スクリーニング 唾液 サリバオミクス 代謝物 タンパク質 口腔細菌叢

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔癌は舌癌や歯肉癌など口腔に発生する癌の総称である。発生頻度は癌全体の5%程度でそれほど高くはないものの、日本においては口腔癌の罹患数だけでなく、死亡率が高止まりしている現実がある。欧米では口腔癌罹患数が日本同様に増加傾向にあるにも関わらず、死亡率が減少傾向にあることを考えると、日本におけるこの傾向は深刻な問題といえる。

口腔癌死亡率を減少させるために、口腔癌の早期発見は極めて重要である。口腔癌の早期発見のために、口腔癌の集団検診や個別検診が行われているが、その検診方法は歯科医師による視診・触診がほとんどである。しかしながら視診・触診による検診は、検診を行う歯科医師の経験によるところが大きく、簡便性、効率性という点からも決して優れたスクリーニング方法とは言えない。また視診・触診以外の口腔癌スクリーニング方法として、蛍光観察装置や染色による観察法などが現在用いられているが、いずれにしても視診という主観が入るため、簡便で効率のかつ高精度なスクリーニング法とは言いがたい。すなわち口腔癌死亡率を減少させるために、簡便で効率のかつ高精度な口腔癌スクリーニング法の確立は急務であるといえる。

2. 研究の目的

本研究では、口腔癌患者と健常者を対象として唾液を採取し、その唾液中に含まれる代謝物、タンパク質、そして口腔細菌叢を網羅的に測定・解析することで、口腔癌患者と健常者で異なる物質・菌叢を同定する。さらにそれらの物質・菌叢を用いて、口腔癌患者と健常者を判別するモデルを作成し、高精度な判別モデルを作成することを目的とした。そして究極的には、非侵襲性に優れた唾液を用いた、簡便な口腔癌のスクリーニング検査を確立させることを目的とした。

3. 研究の方法

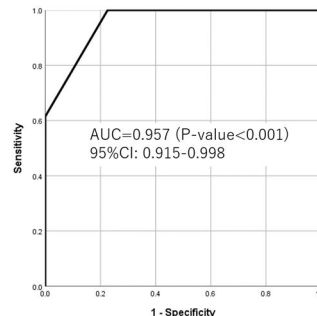
山形大学医学部附属病院歯科口腔外科を受診した口腔癌患者 100 名と、人間ドックを受診する健常者 100 名を対象として安静時唾液を採取した。なお唾液採取の 1.5 時間以上前から飲食や喫煙などは禁止とした。採取した唾液は、4、2600g で遠心分離を行い、その上清をもちいてタンパク質および代謝物の測定を行った。また沈殿したペレットを用いて、口腔細菌叢解析を行った。タンパク質は、液体クロマトグラフィー・質量分析装置 (LC-MS/MS)、代謝物は、キャピラリー電気泳動クロマトグラフィー・質量分析装置、そして口腔細菌叢は次世代シーケンサーを用いた 16SrRNA 遺伝子の増幅および塩基配列の解読を行い、菌種の同定・分布の解析を行った。なお統計解析は、マンホイットニーU検定で2群比較を行い、それらで有意な差を認められた物質・菌叢を用いてロジスティック回帰モデルを作成後、ROC(Receiver Operating Characteristic)曲線を作成し、ROC 曲線下面積(AUC)を算出して、判別能を評価した。

4. 研究成果

**[タンパク質]**

口腔癌患者 39 名と健常者 31 名を対象として唾液中のタンパク質の網羅的測定を行い、23 種類のタンパク質が、口腔癌患者と健常者で有意に異なることを明らかにした。さらにこの 23 種類のタンパク質のうち、6 種類のタンパク質 (Alpha-2-macroglobulin-like protein 1, cornulin, hemoglobin subunit beta, Ig kappa chain V-II region VKappa167, kininogen-1, transmembrane protease serine 11D) を用いたロジスティック回帰モデルで、約 95%の精度で口腔癌と健常者を判別できることが明らかになった(下表:ロジスティック回帰モデルによる AUC、下図:ROC 曲線)。

物質	判別能		95%信頼区間	
	AUC	P 値	Low	High
上記 6 種類のタンパク質	0.957	<0.001	0.915	0.998



**[代謝物]**

口腔癌患者 100 名と健常者 100 名を対象として唾液中のタンパク質の網羅的測定を行い、32 種類の代謝物が、口腔癌患者と健常者で有意に異なることを明らかにした。さらにこれらの物質の内、プロリンなど既に報告されている物質を含む 12 種類の代謝物を用いて約 90%の精度で、口腔癌と健常者を判別できることを明らかにした。

**「口腔細菌叢」**

口腔癌 22 名と健常者 100 名を対象として口腔細菌叢の比較を行い、歯周病菌などでよく知られるフゾバクテリウム属など 6 種類の属で、口腔癌患者と健常者で有意に異なることを明らかにした。さらに機械学習を用いることで、約 80%の判別精度が得られることも明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shigeo Ishikawa, Mitsuyoshi Iino et al.	4. 巻 35
2. 論文標題 Identification of Salivary Proteomic Biomarkers for Oral Cancer Screening.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 541-547
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/invivo	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ishikawa Shigeo, Sugimoto Masahiro, Edamatsu Kaoru, Sugano Ayako, Kitabatake Kenichiro, Iino Mitsuyoshi	4. 巻 26
2. 論文標題 Discrimination of oral squamous cell carcinoma from oral lichen planus by salivary metabolomics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oral Diseases	6. 最初と最後の頁 35～42
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/odi.13209	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 -
1. 著者名 Ishikawa Shigeo, Sugimoto Masahiro, Konta Tsuneo, Kitabatake Kenichiro, Ueda Shohei, Edamatsu Kaoru, Okuyama Naoki, Yusa Kazuyuki, Iino Mitsuyoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Salivary Metabolomics for Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 789248
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fonc.2021.789248	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ishikawa Shigeo, Hiraka Toshitada, Kirii Kazukuni, Sugimoto Masahiro, Shimamoto Hiroaki, Sugano Ayako, Kitabatake Kenichiro, Toyoguchi Yuuki, Kanoto Masafumi, Nemoto Kenji, Soga Tomoyoshi, Tomita Masaru, Iino Mitsuyoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Relationship between Standard Uptake Values of Positron Emission Tomography/Computed Tomography and Salivary Metabolites in Oral Cancer: A Pilot Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 3958～3958
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm9123958	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shigeo Ishikawa, Masahiro Sugimoto, Kaoru Edamatsu, Ayako Sugano, Kenichiro Kitabatake, and Mitsuyoshi Iino
2. 発表標題 Discrimination of oral squamous cell carcinoma from oral lichen planus by salivary metabolomics
3. 学会等名 Asian congress on oral and maxillofacial surgery(ACOMS) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 口腔がんの発症可能性の評価方法	発明者 石川恵生 飯野光喜 ら	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-114257	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 口腔がんの発症可能性の評価方法	発明者 石川恵生 飯野光喜 ら	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-114258	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	石川 恵生  (Ishikawa Shigeo)  (00466640)	山形大学・医学部・講師   (11501)	
研究分担者	杉本 昌弘  (Sugimoto Masahiro)  (30458963)	慶應義塾大学・政策・メディア研究科(藤沢)・特任教授   (32612)	

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
---------	---------