

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：37116

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22858

研究課題名（和文）膵癌における組織および消化管microbiomeの関連性解明と診断治療への応用

研究課題名（英文）Gastrointestinal microbiome in PDAC

研究代表者

厚井 志郎 (Kohi, Shiro)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：70886712

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：腸内細菌叢が膵発癌や膵癌の進展に関連していることが報告されたが、腸内細菌叢が如何にして膵癌に関連するかについては不明である。本実験では、膵癌における消化管および膵臓細菌叢解析を行なった。膵癌患者の唾液・十二指腸液・膵臓検体、およびコントロール患者の唾液を採取し、細菌DNAを回収、16SrRNA遺伝子シーケンスを行なった。今後、さらに症例数を増やして確認する必要があるが、十二指腸細菌叢は膵癌患者でコントロールとは異なっており、歯周病関連細菌が多い傾向を認めた。また膵臓組織を用いた細菌叢解析では、癌部と正常部で細菌叢が異なる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌において歯周病関連の細菌が膵癌進展のリスクファクターであると報告され、注目を集めている。しかしながら、膵癌腫瘍部microbiomeと消化管microbiomeがどのような関連を持っているのかについては不明である。本研究で、歯周病関連の細菌が膵癌の十二指腸microbiomeで多い傾向を認め、口腔内の歯周病関連細菌が膵癌と関係している可能性を認めた。今後、口腔内microbiomeと消化管microbiome、膵臓microbiomeの関連性の検討を行うことで、プロバイオティクスや抗生剤投与、さらには口腔内ケアによる膵癌の予防という画期的な治療戦略が期待される。

研究成果の概要（英文）：Recent studies have found that gut microbiome contributes to the pathogenesis of various diseases including PDAC. The outcome of patients with PDAC is associated with their tumor microbiome. However, how the gastrointestinal microbiome involved in pancreatic microbiome remains poorly understood. In this study, we investigated the microbiome alteration in PDAC. We performed 16SrRNA gene sequencing to analyze bacterial profiles. The duodenal microbiome of PDAC patients differed from that of controls. There was evidence of enrichment of periodontal disease-associated bacteria in the duodenal microbiome in patients with PDAC compared to controls. In addition, microbiome analysis using pancreatic tissue suggested that the microbiome may differ between cancerous and normal areas.

研究分野：膵癌

キーワード：microbiome 膵癌

1. 研究開始当初の背景

次世代シーケンサー (Next Generation Sequencer: NGS) の普及に伴い、ヒト microbiome 解析が広く行われ、多くの疾患との関連が解明されつつある。特に、癌において microbiome が、発癌や癌の進展、さらには化学療法や免疫療法の抵抗性に関連していることが分かってきている。

近年、膵癌における microbiome の関連について重要な論文が報告され、世界的に大きな注目を集めている。膵癌において歯周病関連の細菌が膵癌進展のリスクファクターであると報告された (Gut 2018)。マウスモデルでは、経口投与された細菌が消化管を通過し十二指腸から膵臓内に移行することや特定の細菌 (Bifidobacterium 属) が膵発癌に関連している可能性、そして抗生剤投与によって膵発癌が抑制される可能性が報告され (Cancer Discov. 2018)、さらに、膵癌の予後に膵癌部の細菌叢の乱れ (dysbiosis) が関連するといった新たな知見も見出された (Cell 2019)。膵癌における真菌叢解析の結果から、膵癌マウスモデルにおいて膵癌では特異的な真菌叢の変化が認められ、膵癌の進展に関わっている可能性が示唆された (Nature 2019)。

2. 研究の目的

膵癌とヒト microbiome の関連は世界的に大きな注目を集めている。しかしながら、消化管 microbiome と膵癌腫瘍部 microbiome とを比較した報告は見当たらず、ヒトにおいて膵発癌に関わる細菌が如何にして膵臓に達するのか、また膵癌腫瘍部 microbiome と消化管 microbiome がどのような関連を持っているのかについては不明である。本研究は、膵癌と消化管の細菌叢の関連および膵発癌に関連する細菌を解明することで、膵癌早期発見につながる新たなバイオマーカーの発見やプロバイオティクスや抗生剤投与による膵癌の予防という画期的な治療戦略も構築することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 膵癌患者および健常者の口腔内・腸内細菌叢解析、及び膵癌患者の膵切除標本を用いた膵臓 (正常部および腫瘍部) 細菌叢解析

膵癌患者およびコントロールの検体採取および DNA 抽出

口腔内 microbiome 解析に唾液、腸内 microbiome 解析に十二指腸液を採取する。DNA 抽出は酵素法 (リゾチームによる前処置) で行う。

次世代シーケンサーを用いた 16SrRNA 遺伝子解析

16S リボソーム RNA (rRNA) 遺伝子シーケンスを用い、細菌叢解析を行う。

Bioinformatics analysis (QIIME2 による microbiome 解析)

細菌叢解析には QIIME2 を用い菌種組成・解析を行う。

膵癌切除標本の検体 (正常部および腫瘍部) を採取上記方法にて microbiome 解析を行う

4. 研究成果

(1) 膵癌患者および健常者の口腔内および腸内細菌叢解析

膵癌患者およびコントロールの検体採取

	膵癌	コントロール	p 値
年齢	72.0歳	70.0歳	n.s.
性別 (男)	50%	40%	n.s.
BMI	21.6	21.7	n.s.
アルコール	25%	0%	n.s.
喫煙	12.5%	20%	n.s.
DM	62.5%	0%	P<0.05
PPI	37.5%	0%	n.s.

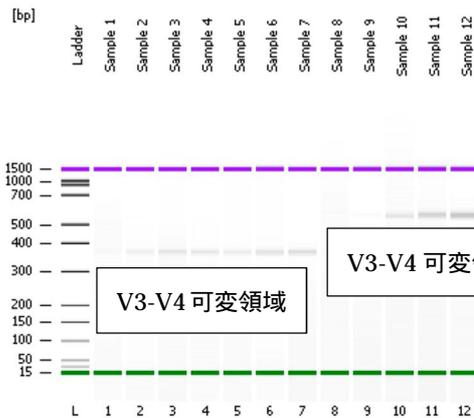
➤ 膵癌群でDM既往が多い結果

DNA採取及びシーケンスlibrary生成

	膵癌	コントロール	p 値
唾液			
Total DNA (ug/ml)	20.45	16.7	n.s.
Microbial DNA (ng/ml)	261.7	215.5	n.s.
十二指腸液			
Total DNA (ug/ml)	164	-	-
Microbial DNA (ng/ml)	0.35	-	-

➤ 膵癌群とコントロール群間での唾液中DNA量に有意差は認めず

➤ シーケンスlibrary生成

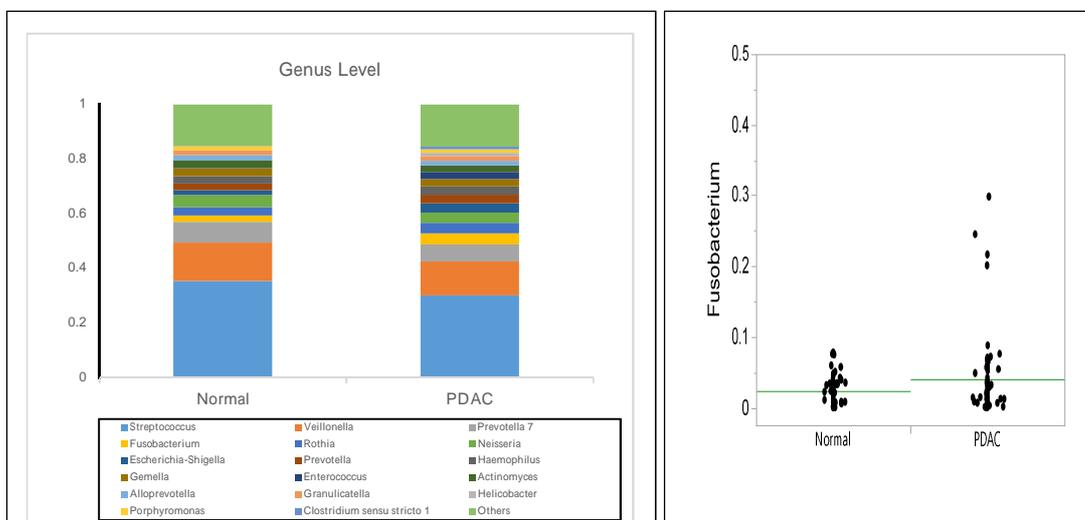


V3-V4 可変領域

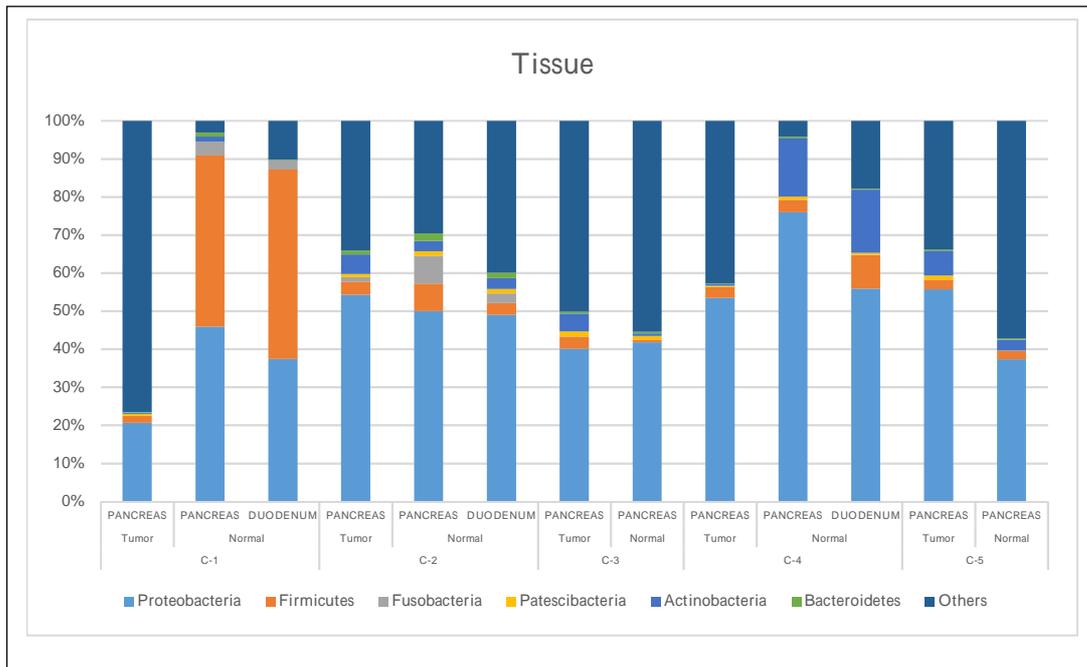
V4 可変領域

ともに、良好な PCR amplicon を認める

次世代シーケンサーを用いた16SrRNA遺伝子解析



- 今後、さらに症例数を増やして確認する必要があるが、十二指腸microbiome解析ではコントロール群と比較し膵癌群でFusobacteriumが多い傾向にあった。現在、検体を追加し、シーケンス解析を継続中である。



- 今後、さらに症例数を増やして確認する必要 (n=5) ではあるが、膵臓組織を用いたmicrobiome解析では、癌部と正常部でmicrobiomeが異なる可能性が示唆される。

今後、検体数を増やし、口腔内・腸内・膵臓内microbiome解析を進めていく方針である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Shiro Kohi
2. 発表標題 Duodenal microbiome in PDAC
3. 学会等名 The 26th Meeting of International Association of Pancreatology (IAP) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 厚井志郎、佐藤典宏、平田敬治、Micheal Goggins
2. 発表標題 膵癌における十二指腸細菌叢解析 外科切除例における意義
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 厚井志郎、佐藤典宏、平田敬治、Micheal Goggins
2. 発表標題 膵癌における十二指腸真菌叢解析
3. 学会等名 第76回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 厚井志郎、佐藤典宏、平田敬治
2. 発表標題 膵癌における十二指腸細菌叢解析
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shiro Kohi, Toshihisa Tamura, Norihiro Sato, Keiji Hirata
2. 発表標題 Duodenal microbiome in Pancreatic ductal adenocarcinoma
3. 学会等名 The 66th annual congress of international college of surgeons JAPAN section (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 厚井 志郎、佐藤 典宏、平田敬治
2. 発表標題 膵癌における十二指腸マイクロバイオーーム
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020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