

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：24701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K20957

研究課題名（和文）Probioticsによる腫瘍微小環境変化をもたらす膵癌免疫療法の新展開

研究課題名（英文）Pancreatic cancer Immunotherapy through modification of tumor microenvironment by probiotics

研究代表者

吉村 知紘（YOSHIMURA, Tomohiro）

和歌山県立医科大学・医学部・准客員研究員

研究者番号：70908764

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）：化学療法が腸内細菌叢に及ぼす影響を詳細に解明することで従来の治療にProbioticsを併用することの有用性を探索する臨床研究実施の基盤的データを収集することを目的とする。膵癌に対して化学療法が予定されている患者10例を登録した。男性は8例、女性は2例であった。年齢の平均は70.8歳、切除可能性分類はR膵癌2例、BR膵癌1例、UR膵癌7例であった。化学療法のレジメンはGnP5例、mFOLFIRINOX5例であった。化学療法の効果判定ではPR:4例、SD:6例であった。ヒト便検体は使用時まで-80℃で保管を行った。便検体および末梢血を現在解析中である。解析結果が揃い次第、論文化を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学療法が腸内細菌叢に及ぼす影響を詳細に解明することで従来の治療にProbioticsを併用することの有用性を探索する臨床研究実施の基盤的データを収集することを目的とする。本研究の結果をもとに、化学療法施行時にプロバイオテックス投与の必要性を検討することで、難治癌のひとつである膵癌患者の治療成績向上に寄与する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The purpose of the study is to collect basic data to prove the usefulness of using Probiotics in combination with conventional therapy by examining the effects of chemotherapy on the gut microbiota.

This study included 10 patients who planned chemotherapy for pancreatic cancer. Eight cases were male and two cases were female. The mean age was 70.8 years, and the resectability classification was R pancreatic cancer in 2 cases, BR pancreatic cancer in 1 case, and UR pancreatic cancer in 7 cases. Chemotherapy regimens were GnP in 5 cases and mFOLFIRINOX in 5 cases. The efficacy of chemotherapy was partial response in 4 cases, stable disease in 4 cases. Human stool specimens were stored at -80℃. Stool specimens and peripheral blood are currently being analyzed.

研究分野：膵癌

キーワード：膵癌 腸内細菌

1. 研究開始当初の背景

Immune checkpoint inhibitors (ICIs)は多くの癌種で既に臨床応用されその有効性が証明されているが、ICIsの臨床効果が得られない集団は多い。このため、ICIsの開発においては臨床的有効性に関するバイオマーカーの探索が実施されてきた。例えば、Mismatch repair deficiency (dMMR)はICIs奏功のバイオマーカーであることが知られている。dMMR症例は、Tumor Mutation Burden (TMB)が高いことが知られており、TMBによる多様なNeoantigen由来の腫瘍特異的細胞傷害性T細胞(cytotoxic T lymphocytes: CTL)の誘導によりTMEをHot tumorに改変することでICIsが奏功すると考えられている。近年、膵腺癌のdMMR症例においても、TMEはHot tumorとなっていることが報告されたが(Ann Surg Oncol. 27:3997-4006, 2020)、膵腺癌におけるdMMRの割合はわずか数%のみである。一方、多くのdMMRではない膵腺癌はCold tumorでありICIsの治療効果は限定的であるため、膵腺癌に対するICIsの開発は進んでいないのが現状である。したがって、我々は膵腺癌のTMEをHot tumorに改変する新規治療戦略の構築が膵腺癌に対するICIs開発のブレークスルーになりうると着想した。

近年になって、TMEと腸内細菌叢の関連を示す多くの報告がされている。まず、マウスの特定の腸内細菌に対するエピトープペプチドが、がん抗原を認識するCTLのT細胞受容体とcross-reactionすることが報告された(Science 369, 936-942, 2020)。このことは、腸内フローラの多様性が腫瘍特異的CTLの多様な誘導をもたらすことを意味し、したがって、腸内フローラを改変することでエピトープ抗原に対する腫瘍特異的CTLを誘導しTMEをHot tumorに改変できる可能性があることを示唆する。実際、マウス悪性黒色腫のモデルにおいて、Probiotics (Bifidobacterium)の投与がTMEを改変し、ICIsの治療効果を増強することが報告されている(Science 350:1084-9, 2015)。すなわち、悪性黒色腫では腸内フローラがTMEに影響すること、腸内フローラを改変することでTMEの改変を介してICIsの治療効果を増強できることが示された。また、ICIs治療を行ったヒト肺癌患者において、Probiotics (Clostridium butyricum)を内服していた患者は予後良好であったことが報告された(Cancer Immunol Res; 8:1236-1242, 2020)。このことは、肺癌において腸内フローラの改変がICIsの治療効果に影響する可能性を示唆する。さらに膵腺癌患者においては、長期生存者(long-term survival, LTS)と短期生存者(short-term survival, STS)で腸内細菌叢の多様性が異なり、LTSのTMEはHot tumorとなっていること、さらに、マウスへの便移植実験において、LTSの便移植ではHot TMEに、STSの便移植ではCold TMEに変化することが報告された(Cell 178:795-806, 2019)。すなわち、難治癌である膵腺癌においても、腸内フローラがTMEと関連していることが示唆されている。そこで我々は、dMMRではない難治性の膵腺癌においても、Probioticsを用いた腸内フローラの改変によりTMEをHot tumorにすることができ、その結果としてICIsの治療効果を増強できるという仮説を構築した。

2. 研究の目的

上記仮説を検証するために、膵腺癌患者に対してProbiotics投与による腸内細菌叢の構成・多様性の変化と関連する膵腺癌TMEの免疫環境を明らかにする必要がある。

膵癌治療において、化学療法による副作用として腸粘膜の障害が起こり、また、化学療法の副作用で有熱性好中球減少が発生すると、抗菌薬が投与される。その結果、腸内細菌も死滅・減少し、さらに腸内環境が悪化してバリア機能が低下する現象が引き起こされる。しかし、化学療法が腸内細菌叢に及ぼす影響および化学療法による腸内細菌叢の変化、さらにはTME、tumor microbiomeに与える影響、腸内細菌叢との関連性はいまだ不明である。

そのため、Probioticsによる腸内細菌フローラの能動的な介入がTMEをHot tumorに改変することができるか、その影響要因を分析し明らかにするため、化学療法が腸内細菌叢に及ぼす影響を詳細に解明することで従来の治療にProbioticsを併用することの有用性を探索する臨床研究実施の基盤的データを収集することを目的とする。

3. 研究の方法

膵癌に対して化学療法が予定されている患者を対象とした。

(1)本研究実施につき、倫理審査委員会の審査に基づく理事長の承認が得られた後、症例登録を開始する。

(2)担当医師は、文書による患者からの同意を取得した後、対象症例が選択基準を全て満たし、除外基準のいずれにも該当しないことを確認し、症例登録を行う。

選択基準

1.術前腫瘍組織の病理組織診でsuspicious of adenocarcinomaまたはadenocarcinomaである膵癌患者

2. 膵癌に対して化学療法が予定されている患者

除外基準

1. 同意を得られなかった患者
2. 登録時すでに整腸剤を内服している患者
3. ステロイド剤および免疫抑制剤の継続的な投与を必要とする患者

- (3) 担当医師は症例登録用紙を適切に保管する。
- (4) 該当患者に対して、化学療法開始前に血液、糞便を採取する。
- (5) 化学療法施行後に再び、血液、糞便を採取し、被験者の臨床情報と合わせて解析・検討を行う。
- (6) 手術を施行した際は切除腫瘍検体を用いて microbiome 解析、免疫学的解析を行う。

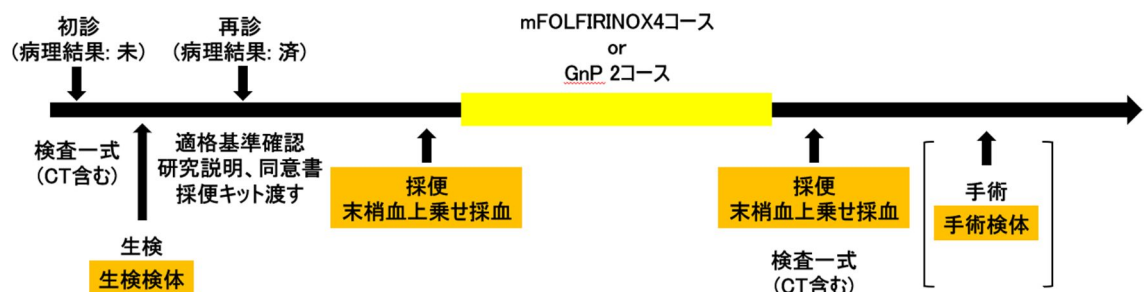
調査項目として、糞便(化学療法前後)、術前生検(FNAB)、手術検体を用いて、膵癌患者に対して化学療法が腸内細菌叢、切除組織の腫瘍微小環境に及ぼす影響を調査する。

・糞便：化学療法開始前後の糞便中 16sRibosomal RNA の次世代シーケンサーによるメタ解析、cluster 解析、alpha-diversity 解析

・腫瘍組織：術前生検、膵癌切除組織より採取する、CD8+Tcell、Treg、MDSC、DC、PD-L1 のIHC 解析、16sRibosomal RNA の次世代シーケンサーによるメタ解析

・末梢血：化学療法開始前後に採血を実施する(採血量；20ml/1回)
CD8+Tcell、Treg、myeloid derived suppressor cell (MDSC)のFlow cytometry 解析、NK 活性、Neutrophil-to-lymphocyte ratio、Platelet-to-lymphocyte ratio、Lymphocyte-to-monocyte ratio、Prognostic nutrition index

・臨床病理学的因子(年齢、性別、身長、体重、既往歴、画像診断、血液生化学検査、術式、手術時間、出血量、術前後補助化学療法、合併症、病理所見、再発日、再発形式、生命予後)



4. 研究成果

膵癌に対して化学療法が予定されている患者 10 例を登録した。男性は 8 例、女性は 2 例であった。年齢の平均は 70.8 歳、切除可能性分類は R 膵癌 2 例、BR 膵癌 1 例、UR 膵癌 7 例であった。化学療法のレジメンは GnP5 例、mFOLFIRINOX5 例であった。化学療法の効果判定では PR:4 例、SD:6 例であった。手術に至った症例は 2 例であった。

ヒト便検体は使用時まで -80 で保管を行った。便検体および末梢血を現在解析中である。解析結果が揃い次第、論文化を行う。

症例	年齢	性別	resectability	レジメン
1	69	男性	UR-LA	mFOLFIRINOX
2	78	男性	BR-A	GA
3	75	男性	UR-LA	mFOLFIRINOX
4	76	男性	UR-LA	GA
5	70	男性	R(DU)	GA
6	64	男性	UR-M	mFOLFIRINOX
7	63	男性	UR-LA	mFOLFIRINOX
8	75	女性	UR(M)	mFOLFIRINOX
9	74	女性	UR-M	GA
10	64	男性	R(PV)	GA

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計2件

1. 著者名 吉村知紘、川井学	4. 発行年 2024年
2. 出版社 医学図書出版	5. 総ページ数 4
3. 書名 【膵癌基礎研究の最前線RELOADED】腸内細菌変化が膵癌微小環境に与える効果 最近のアップデート	

1. 著者名 吉村知紘、宮澤基樹、川井学	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医学図書出版	5. 総ページ数 4
3. 書名 【胆膵疾患と腸内細菌の現状と展望】膵臓 腸内細菌を応用した膵癌微小環境変化	

〔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
---------	---------