

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670904

研究課題名(和文)膵臓がんの重症度と口腔内状態との関係

研究課題名(英文)Relation between oral health status and pancreatobiliary tract cancer

研究代表者

森田 学(Morita, Manabu)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：40157904

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：膵臓がん・胆管がん、胆嚢がん患者と診断された患者を追跡し、治療後の生命予後に口腔の疾患が関連しているか検討した。分析は、生命予後が1年未満の者と1年以上の者に分けて、臨床の指標を比較した。その結果、C反応性蛋白、肥満度(BMI)、および歯周病重症度が、生命予後と関連していた。また、血液中の腫瘍マーカーのみならず、唾液中にも強く発現する腫瘍マーカー(マイクロRNA)の存在が確認された。

研究成果の概要(英文)：Patients diagnosed with pancreatobiliary tract cancer were analyzed. Factors affecting the prognosis of pancreatobiliary tract cancer were evaluated. The results demonstrated that low body mass index, high concentration of serum C-reactive protein (CRP) and severe periodontitis were significant prognostic factors for survival rate. It was also found that micro-RNAs in salivary exosomes could be candidate biomarkers for pancreatobiliary tract cancer.

研究分野：予防歯科学

キーワード：膵臓がん 生命予後 歯周病 腫瘍マーカー

1. 研究開始当初の背景

わが国において、膵臓がんによる死亡者数は、肺がん、胃がん、大腸がん、肝臓がんによる死亡者数に次いで多く、1年間に約28,000人が亡くなっている。また、膵臓がんは自覚症状に乏しいうえ、進行が速く、わが国における5年生存率は約10~20%と低い。

膵臓がん発症リスク因子として喫煙・糖尿病・肥満などが指摘されているが、どのような機序で関与しているのかについて不明な点が多い。そのため、膵臓がんの発症原因、生存率の向上に寄与する因子の検討が急がれる。

近年、がんと口腔内状態との関連が注目されてきた。我々は過去の臨床研究において、「肝臓がんの重症度」と「歯周病の進行度」との間に関連があることを報告した。そこで、膵臓がんにおいても、口腔内状態と関連があるのではないかとこの着想に至った。

一方、体液中に存在するマイクロRNA(mRNA)が、生活習慣病をはじめとする各種疾患で情報伝達を行っていることが報告されている。そこで、すい臓がんと口腔内の状態に関連があるのであれば、唾液中に存在する何らかの mRNA が、すい臓がんの患者には強く発現しているのではという仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究では、膵臓がんの重症度と口腔内状態との関連性、および唾液中 mRNA がすい臓がんのマーカーになり得る可能性があるか、この2点について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)膵臓・胆管・胆嚢がんと口腔内状態との関連

岡山大学病院消化器内科にて膵臓がん・胆

管がん、胆嚢がんと診断された患者22名を対象とした。がん治療開始前に、口腔内状態を診査した。具体的には以下の項目である。

- ・う蝕の有無(DMF 歯数)
- ・歯周状態(歯周ポケット深さ、クリニカルアタッチメントレベル、プロービング時出血の有無、動揺度)
- ・口腔清掃状態(O'LearyのPlaque Control Record)

また、診療録からBMI、喫煙歴、HbA1c、C反応性蛋白(CRP)、アルブミン、血清中膵臓がんマーカー(CEA: carcinoembryonic antigen、CA19-9: carbohydrate antigen 19-9)を記録した。

統計解析では、生命予後が1年未満の者(11名)と1年以上の者(11名)に分けて、変数を比較した。また、カプランマイヤー法、Cox比例ハザードモデルを用いて、生命予後に関連する因子を求めた。

(2)膵臓がん・胆管がん、胆嚢がんに関連した唾液中 mRNA の検討

年齢、性別に差の無い膵胆管がん患者12名と健常者13名から、非刺激唾液を採取した。唾液中エキソソームを分離し、そこに含まれるRNAを抽出した後に、RT-qPCR法を用いてmRNAを定量した。そして、膵胆管がん患者に有意に高く認められたmRNAを特定した。その後、ROC曲線を用いて、特定された唾液中mRNAが、膵胆管がん患者と健常者を分類(ふり分け)できる能力があるかについて調べた。

4. 研究成果

(1)膵臓・胆管・胆嚢がんと口腔内状態との関連

2群間でCRP、CEA、CAL、歯周病重症度に有意な差が認められた(表1)。カプランマイ

ヤール法での分析では、BMI,CRP,歯周病重症度が1年後の生存率と関連していた(図1)。

Cox 比例ハザードモデルでは、CA19-9およびCRPが予後と有意に関連する因子であった(表2)。また、CRPは歯周病重症度と関連していた(表3)。

以上のことから、歯周病が「炎症状態」を通じて、間接的に膵臓がん・胆管がん・胆嚢がんに影響している可能性が示唆された。

表1 生存率(1年以上/未満)別にみた各指標の比較

変数	生存率 1年 (n=11)	生存率 <1年 (n=11)	有意差
年齢 (歳)	68.4 ±10.5	69.1 ±7.6	NS
男性 人(%)	7 (63.6)	7 (63.6)	NS
がん ステ ージ (%)	1 (9.1)	0 (0.0)	NS
	1 (9.1)	0 (0.0)	
	2 (18.2)	1 (9.1)	
	a 5 (45.5)	4 (36.4)	
	b 2 (18.2)	6 (54.5)	
化学療法 (%)	9 (81.8)	10 (90.9)	NS
HbA1c (%)	5.9 (5.5, 6.1)	6.0 (5.5, 6.3)	NS
CRP (mg/dl)	0.15 (0.07, 0.23)	0.81 (0.15, 1.54)	*

アルブミン (g/dl)	4.0 (3.7, 4.3)	3.6 (3.4, 4.0)	NS	
CEA (ng/ml)	4.6 (2.1,8.3)	13.3 (6.0, 82.3)	*	
CA19-9 (U/ml)	184 (11,443)	183 (47,1748)	NS	
現在 歯数	24.3 ±5.2	20.9 ±6.5	NS	
PPD (mm)	1.93 ±0.38	2.18 ±0.59	NS	
CAL (mm)	2.33 ±0.55	3.26 ±1.16	+	
BOP %	7.4 ±6.6	13.5 ±16.0	NS	
PCR %	26.9 ±22.0	36.9 ±24.4	NS	
歯 周 病 重 症 度 (%)	中 等 以 下	8 (72.7)	3 (27.3)	\$
	重 度	3 (27.3)	8 (72.7)	

HbA1c、CRP、アルブミン、CEA、CA19-9は中央値(25%、75%タイル値)で標記
NS:有意差無し

*: p<0.05(Mann-Whitney U test)
+: p<0.05(対応の無いt検定)
\$: カイ2乗テスト

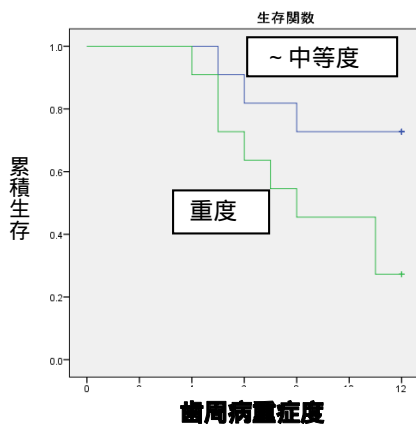
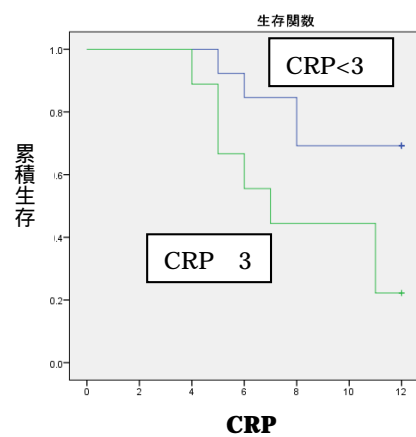
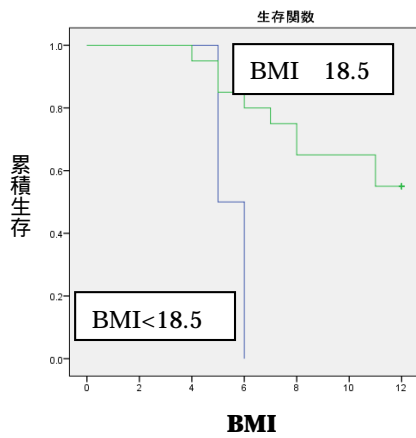


図1 BMI, CRP, 歯周病重症度別にみた生存曲線 (発表論文¹⁾を改変)

表2 Cox 比例ハザード解析による予後関連因子

因子	ハザード比	95% 信頼区間	P 値
年齢	0.87	0.75-1.00	0.060
HbA1c (%)	1.96	0.96-3.98	0.064
CA19-9 (U/ml)	1.002	1.000-1.004	0.030
CRP (mg/dl)	2.57	1.15-5.74	0.022

表3 歯周病の重症度別にみた CRP、アルブミン、HbA1c

変数	~中等度 (n=11)	重度 (n=11)	有意差
CRP (mg/dl)	0.12 (0.07, 0.34)	0.54 (0.15, 1.54)	*
アルブミン (g/dl)	4.0 (3.8, 4.3)	3.5 (3.3, 3.7)	*
HbA1c (%)	6.0 (5.5, 6.1)	5.9 (5.1, 7.0)	NS

*: p<0.05 (Mann-Whitney U test)

中央値 (25%、75%タイル値) で標記

(2) 膵臓がん・胆管がん、胆嚢がんに関連した唾液中 mRNA の検討

miR-1246 と miR-4644 の発現が、膵胆管がん患者に有意に高く認められた (図2)。

ROC 曲線を用いて、特定された唾液中 mRNA が、膵胆管がん患者と健常者を分類(ふるい分け)できる能力があるかについて調べた。miR 1246 の場合、ROC 曲線から得られた AUC(Area Under the curve)は 0.814 であった。一方、miR-4644 の場合の AUC は 0.763 であった。さらに、miR 1246 と miR-4644 を同時に高く発現している場合、AUC は 0.833 と

なった。

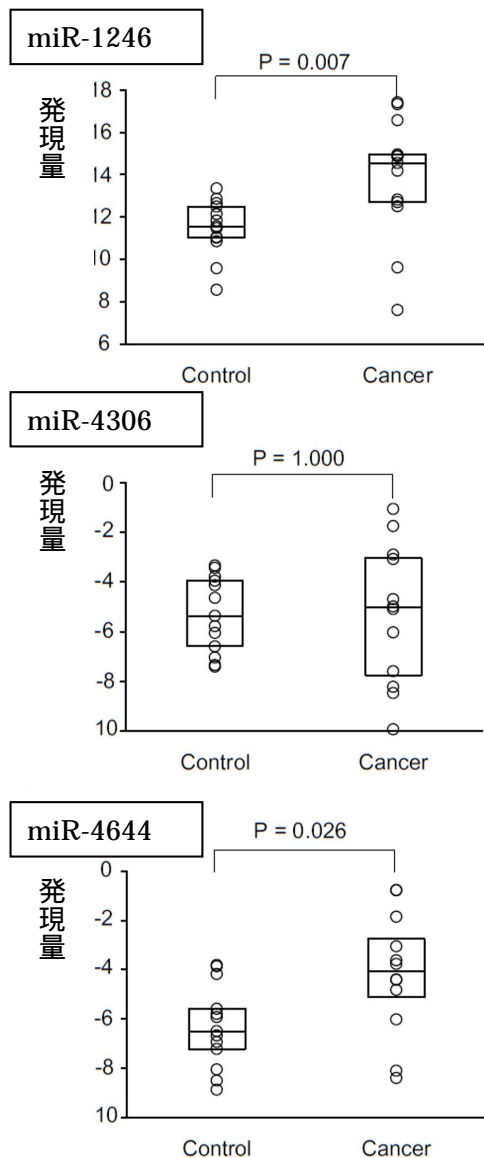


図2 がん患者と健常者の唾液中 mRNA の発現 (発表論文²⁾を改変)

また、膵胆管がん患者群では、C 反応性蛋白 (CRP) とがんのステージとの間に有意な正の相関 ($r=0.582$)、アルブミンと HbA1c との間に有意な正の相関 ($r=0.582$)、アルブミンと CRP の間に有意な負の相関 ($r=-0.711$) が認められた。

さらに、既知の代表的な膵胆管がんマーカ

ーである CA19-9 レベルと miR 1246 発現量との間に、有意な正の相関 ($r=0.818$) も確認された (表 4)。

以上のことから、人数が少なく、パイロット的な研究の域ではあるが、唾液中エクソソームに含まれる miR 1246 と miR-4644 は、膵胆管がんのバイオマーカである可能性が示唆された。

表 4 唾液中 mRNA と既存の血清中指標との相関係数

変数	CRP (mg/dl)	CA19-9 (U/ml)	miR- 1246	miR- 4306
CA19-9 (U/ml)	0.231 NS			
miR- 1246	0.116 NS	0.818 ***		
miR- 4306	0.049 NS	0.336 NS	0.510 NS	
miR- 4644	-0.315 NS	0.406 NS	0.671 *	0.790 **

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

- 1) Maruyama T, Tomofuji T, Machida T, Kato H, Tsutsumi K, Uchida D, Takaki A, Yoneda T, Miyai H, Mizuno H, Ekuni D, Okada H, Morita M: Relationship between periodontitis and prognosis of pancreatobiliary tract cancer: A pilot study. *Molecular and Clinical Oncology* 6; 683-87, 2017.
DOI:10.3892/mco2017.1220. 査読有
- 2) Machida T, Tomofuji T, Maruyama T, Yoneda T, Ekuni D, Azuma T, Miyai H, Mizuno H, Kato H, Tsutsumi K, Uchida

D, Takaki A, Okada H, Morita M. miR-1246 and miR-4644 in salivary exosome as potential biomarkers for pancreaticobiliary tract cancer. *Oncology Report*. 2016; 36: 2375-81.
DOI: 10.3892/or.2016.5021. 査読有

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

森田 学 (MORITA, Manabu)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：40157904

(2) 研究分担者

友藤 孝明 (TOMOFUJI, Takaaki)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：80335629

江國 大輔 (EKUNI, Daisuke)

岡山大学・大学病院・講師
研究者番号：70346443

丸山 貴之 (MARUYAMA, Takayuki)

岡山大学・大学病院・助教
研究者番号：30580253