

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11408

研究課題名(和文)食道癌発現促進因子としての口腔細菌叢機能の網羅的解析

研究課題名(英文)Comprehensive analysis in oral microbiome as a promoting factor for esophageal cancer

研究代表者

丹田 奈緒子(TANDA, NAKO)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：00422121

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：アセトアルデヒドは食道がん発現要因の一つである。本研究では胸部食道がんにおける周術期口腔ケアが口腔細菌叢のアセトアルデヒド産生能に与える影響を健常対照者と比較検討した。食道がん患者群では対照者群に比較し長期にわたる飲酒・喫煙習慣とともに口腔環境の悪化が認められた。患者群の口内気体中のアセトアルデヒド濃度は、術前の口腔ケア後は口腔ケア前に比し、術後は術前に比し、減少した。食道がん患者では周術期口腔管理により口腔細菌叢全体としてのアセトアルデヒド産生能が低下することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Acetaldehyde is a powerful carcinogen in thoracic esophageal cancer. The aim of this study is to evaluate perioperative change of mouth acetaldehyde and its causal oral bacteria in thoracic esophageal cancer patients under intensive oral care. Analysis was done compared to control cases. Drinking and smoking histories were longer and oral condition was worse in patients group than in control. Acetaldehyde in mouth air of thoracic esophageal cancer patients decreased after oral intensive care before operation. It also decreased after operation. It is suggested that intensive oral care for perioperative thoracic esophageal cancer patients decreases acetaldehyde produced in oral microbiome.

研究分野：予防歯科 周術期口腔管理 口臭

キーワード：acetaldehyde esophageal cancer intensive oral care

1. 研究開始当初の背景

食道癌は 2015 年現在わが国で年間 23900 人が罹患するがその半数近くの 11400 人が死亡すると予測される難治性癌である (国立がん研究センター2015)。その 90%以上は扁平上皮癌であり、喫煙と飲酒、アセトアルデヒドがそのリスク要因とされている (WHO 2009)。罹患率、死亡率ともに男性のほうが高く、女性の 5 倍以上であるが、1975 年以降男性の罹患率は上昇傾向にある。日本人の約半数はアセトアルデヒド代謝能の低い aldehyde dehydrogenase 2 型 (ALDH2) ヘテロ欠損であるため食道癌罹患リスクが高く、その対策が喫煙の課題である。食道は生命に直接関係する重要臓器 (肺、心臓、大動脈、気管、迷走神経、反回神経等) に隣接するため手術による生体への侵襲が大きい。胸壁破壊の小さな胸腔鏡手術でも胸部操作中の片肺換気による肺への影響、気管周囲の操作による咳反射の減弱、反回神経麻痺などにより術後誤嚥性肺炎を発生しやすい。術後肺炎は QOL の低下、生存率の低下をもたらす。

食道癌患者の多くは長年の喫煙・飲酒習慣のために口腔環境が劣悪である。周術期の口腔ケアは術後肺炎合併率を低下させ生存率の向上に寄

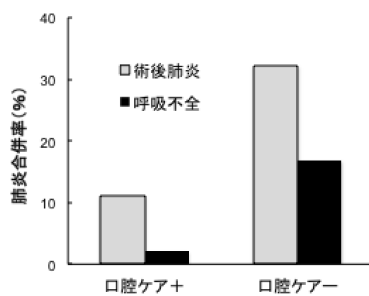


図1. 食道癌術後肺炎合併症と周術期口腔ケアの有無

与している (全国共通がん医科歯科連携講習会テキスト 図 1) が、近年口腔内細菌がエタノールの存在下でアセトアルデヒドを産生することが報告されており、喫煙・飲酒による劣悪な口腔環境自体が食道がんの発生・進展に關与する可能性が示唆されている。

呼吸採取は非侵襲性であることから、呼吸を利用した糖尿病やがんの新しい診断技術を目指し世界的に研究が進んでいる。我々はポータブルタイプのアセトン検知ガスクロマトグラフを応用し、飢餓、糖尿病などのストレス時、呼気中アセトンが血中ケトン体の変動を反映し上昇することを報告した (Tanda N, et al. Journal of Breath Research 2014;046008)。またアセトンのみならずアセトアルデヒドも同時に測定できるポータブルガスクロマトグラフを応用し、周術期肺癌肺切除患者に対し、術前口腔ケア前後と術後の時系列で唾液中細菌数、健康な口腔に多いとされる連鎖球菌比率、呼気・口内気体について解析した。アセトアルデヒドは飲酒のない入院患者の口腔からも確認された。術後肺炎非発症例においては口内気体中のアセトアルデヒドは口腔ケア後減少し、連鎖球菌比率の上昇ならびに細菌数の低下を伴うこと、呼気中アセトンは手術侵襲後の炎症程度と連動することを報告した (科研費基盤(C)20592447)。アセトアルデヒドは口腔環境の、アセトンは生体の炎症反応の指標となり得、飲酒・喫煙歴の長い食道癌周術期患者においてその解析は重要であると判断した (図2)。

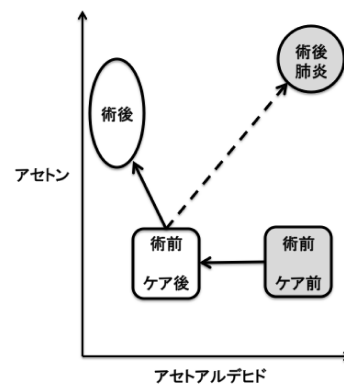


図2. 周術期呼吸・口内気体概念図

口腔ケアによって、口腔細菌叢全体としての機能にどう影響を受けるのかはこれまで明らかにはされていない。日本での食道がん発現促進因子であるアセトアルデヒド産

生能を口腔細菌叢全体として抑制できるのであれば、難治性といわれる食道癌の術後合併症による死亡率低下の観点のみならず、発癌予防の観点からも医科歯科連携の意義は高いと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、食道がん手術予定者の周術期（術前・術後）において口腔管理下に口腔細菌叢全体としてのアセトアルデヒド産生能を解析し、食道癌治療に役立てることである。具体的には以下ようになる。

(1) 宿主因子としてのアルコール感受性遺伝子型を検索すること。

(2) 周術期口腔ケア前後の呼気・口内気体の変化をみること。

(3) 周術期口腔ケア前後での口腔細菌叢のアセトアルデヒド産生能変化をみること。

(4) 健常対照者と比較して食道がん患者としての特色を把握すること。

3. 研究の方法

『胸部食道癌への口腔ケアの有効性に関する患者群と健常者群の非無作為化前向き比較試験』という研究名称で東北大学大学院歯学研究科研究倫理委員会より研究内容の承認を得、平成27年12月にUMIN-CTR登録を行ってから対象症例への研究を開始した。

(1) 宿主因子としてのアルコール分解酵素遺伝子型を検索すること。

含嗽後の頬粘膜を綿棒により軽く擦過したものを匿名化した上で日本遺伝子研究所臨床検査サービス（仙台）へアルコール分解酵素遺伝子型の解析を外注した。同研究所では個人情報の取り扱いについて倫理委員会を規定しその内容を遵守している（内容は日本遺伝子研究所ホームページ上に公開）。

(2) 周術期口腔ケア前後の呼気・口内気体の変化をみること。

口腔ケア前後において口の中に滞留する気体をシリンジで吸引し、呼気はガスバツ

グに吐き出し採取。採取後有機溶媒系物質検出用分析装置（新コスモス電機、大阪）にてアセトアルデヒド、アセトン濃度を測定した。口腔清掃自体あるいは食事内容の影響を考慮し採取時間は食後2時間以降とした。

(3) 周術期口腔ケア前後での口腔細菌叢のアセトアルデヒド産生能変化をみること。

呼気・口内気体を採取する際、専用パラフィンワックスを3分間噛みながら唾液を採取。4度で保存。

唾液を遠心分離、洗浄し沈降したものを細胞ペレットとし、重量測定後再懸濁させ細菌カウンター（パナソニック、東京）にて細菌数を確認。

エタノール溶液、グルコース溶液それぞれに懸濁液を入れ密閉。この際嫌気ボックス内での嫌気化有無により嫌気・好気条件とし一定時間培養後、試験管内に発生した気体を吸引、濃度測定。単位細菌数あたりのアセトアルデヒド濃度を、採取した唾液由来細菌叢のアセトアルデヒド産生能とした。

(4) 健常対照者と比較して食道がん患者としての特色を把握すること

対照健常者の口腔ケア前後についても同様に、アルコール分解酵素遺伝子型の検索、呼気・口内気体の測定、唾液由来の細菌叢からのアセトアルデヒド濃度測定を行った。

4. 研究成果

(1) 宿主因子としてのアルコール感受性遺伝子型を検索すること。

アルコール分解酵素遺伝子検査では、アルコール分解酵素 ADH1B とアルデヒド分解酵素 ALDH2 がともに強い B 型と、アルコール分解酵素 ADH1B は強いがアルデヒド分解酵素 ALDH2 が弱い D 型の二つのタイプの遺伝子型が報告された。

胸部食道がん患者と対照健常者の間で B 型と D 型の出現頻度に大きな差はなかった。

(2) 周術期口腔ケア前後の呼気・口内気体の変化をみること。

呼気中アセトンは胸部食道がん患者、対照健常者ともに口腔ケア前後に統計的有意差はなかった。胸部食道がん患者では術後飲水あるいは経口摂取可能となった時点で呼気・口内気体・唾液の採取を行った。術後の呼気中アセトン濃度も術前と有意差がなかったことから、術後全身状態が比較的安定した時期にサンプリングを施行したと考える。

呼気中のアセトアルデヒド濃度はがん患者、健常者ともにアルコール分解酵素遺伝子検査でD型の群の平均値がB型の群の平均値を上回っていた。

口内気体中のアセトアルデヒド濃度は、胸部食道がん患者では、口腔ケア後は口腔ケア前に比べて有意に減少していた。また、術後はさらに減少していた。健常者では口腔ケア前後において有意差は認められなかった。
(3) 周術期口腔ケア前後での口腔細菌叢アセトアルデヒド産生能変化をみること。

胸部食道がん患者では、エタノール基質の場合、好気条件下アセトアルデヒド産生能は術前口腔ケア前後に有意差はなく、術後で減少傾向にあった。嫌気条件下アセトアルデヒド産生能は術前口腔ケア前後に有意差はなかったが、術後は術前に比べ有意に低下していた。

胸部食道がん患者では、グルコース基質でのアセトアルデヒド産生能はエタノール基質に比べ少なかったが、好気条件下嫌気条件下ともに術前口腔ケア前後に有意差はなかったが、術後は術前に比べ有意に低下していた。

健常対照者では、エタノール基質の場合、好気条件下嫌気条件下ともに口腔ケア前に比し口腔ケア後でアセトアルデヒド産生能が有意に低下していた。

健常対照者では、グルコース基質でのアセトアルデヒド産生能はエタノール基質に比べ少なかったが、好気条件下嫌気条件下ともに口腔ケア前後において有意な変化は認

められなかった。

(4) 健常対照者と比較して食道がん患者としての特色を把握すること

本研究で対象とした食道がん患者群では健常者群に比較し男性の比率が高かった。喫煙歴ならびに飲酒歴は食道がん患者群で顕著であった。アルコール分解酵素遺伝子型の比率に有意差はなかった。

口腔内の状況として、歯頸部への歯垢付着状況ならびに歯肉からの出血の程度は食道がん患者群で顕著であり、残存歯数も少なかった。義歯装着率については健常者群と差はなかった。

食道がん患者群では長期にわたる飲酒・喫煙習慣とともに口腔環境の悪化が認められた。周術期口腔ケアにより口内気体中のアセトアルデヒド濃度が減少したことは、食道がん患者群において口腔衛生管理が口腔細菌叢全体としてのアセトアルデヒド産生能を低下させる可能性を示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

丹田 奈緒子, Perioperative Oral Care Decreased Mouth Acetaldehyde In Esophageal Cancer Patients, 96th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research (IADR), 2018年7月28日, ロンドン(イギリス)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

丹田 奈緒子 (TANDA, Naoko)

東北大学・大学病院・助教
研究者番号：00422121

(2)研究分担者

亀井 尚 (KAMEI, Takashi)
東北大学・医学系研究科・教授
研究者番号：10436115

高橋 信博 (TAKAHASHI, Nobuhiro)
東北大学・歯学研究科・教授
研究者番号：60183852

小関 健由 (KOSEKI, Takeyoshi)
東北大学・歯学研究科・教授
研究者番号：80291128

鷺尾 純平 (WASHIO, Jumpei)
東北大学・歯学研究科・講師
研究者番号：20400260

細川 亮一 (HOSOKAWA, Ryouichi)
東北大学・医学系研究科・非常勤講師
研究者番号：40547254
(平成29年3月15日まで分担)

菅崎 将樹 (SUGAZAKI, Masaki)
東北大学・大学病院・助教
研究者番号：50444013
(平成28年3月17日まで分担)

末永 華子 (SUENAGA, Hanako)
東北大学・歯学研究科・助教
研究者番号：00508939
(平成29年3月15日まで分担)

佐久間 陽子 (SAKUMA, Yoko)
東北大学・歯学研究科・助教
研究者番号：90735531
(平成29年4月19日まで分担)

(3)連携研究者

伊藤 恵美 (ITO, Emi)
東北大学・歯学研究科・技術一般職員
研究者番号：80596817
(平成28年9月1日まで連携)