

令和元年6月7日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11742

研究課題名（和文）マルチオミックス技術を用いた口腔癌・前がん病変唾液バイオマーカーの探索的研究

研究課題名（英文）Identification of salivary biomarkers for oral cancer and pre-cancer screening with multi-omics data

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） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、口腔癌患者および口腔癌の前段階である口腔前がん病変患者の唾液中の様々な物質に着目し、健常者・非口腔癌患者・非口腔前がん患者との違いを明らかにすることを目的とした。またそれらを用いて、口腔癌・口腔前がん病変を健常者から高精度にスクリーニングするバイオマーカーを発見することを目的とした。唾液中の代謝物は、約50種類、また唾液中のタンパク質は約140種類が、口腔癌・口腔前がん病変患者と健常者・非口腔癌患者・非口腔前がん病変患者で大きく異なっていることを明らかにした。またそれらを組み合わせることで、高精度に口腔癌・口腔前がん病変患者をスクリーニングできる可能性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、唾液中の代謝物およびタンパク質が口腔癌および口腔前がん病変患者と健常者・非口腔癌患者・非口腔前がん病変患者で異なることを明らかにした。またこれらの物質を組み合わせることで、高精度に口腔癌・口腔前がん病変を対照者から判別することができることも明らかにした。口腔癌・口腔前がん病変は、直視できる口腔内の病変であり、容易に検出できると考えられがちではあるが、実際の病態は多種多様であり、専門医であっても判別に苦慮する症例も少なくない。本研究によって、非侵襲性が簡便性に優れた唾液検査が実用化すれば簡便なスクリーニング方法として普及し、口腔癌・口腔前がん病変の早期発見に寄与できる可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：In this study, we discover the salivary metabolomic and proteomic biomarkers for the discrimination of oral cancer and pre-cancer from controls. Approximately 50 metabolites and 140 proteins were significantly different between the oral cancer/pre-cancer group and controls. Furthermore, the combinations of the above biomarkers have the high discrimination ability of the oral cancer/pre-cancer from controls. Our candidate salivary metabolites and proteins have the potential for non-invasive screening to discriminate oral cancer/pre-cancer from controls.

研究分野：歯科口腔外科学

キーワード：唾液 口腔癌 口腔前がん病変 スクリーニング バイオマーカー マルチオミックス

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-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、患者数は年々増加傾向にある。近年の治療技術の向上に伴い口腔癌の治療成績は向上してきているものの、進行癌の 5 年生存率は決して高くはない。また口腔癌治療の主体は手術であるが、口腔は顔面の一部であるばかりでなく、咀嚼・会話といった QOL に直結する機能を担当しているため、手術により顔面の変形や日常生活に重大な支障が生じる症例も少なくない。また白板症などといった口腔前がん病変は、10 年で約 20%程度が癌化することが報告されており、癌を切除するよりも少ない安全域で切除することができるため、機能障害を最小限にするためにも多くの施設で癌化する前に切除されている。そのため口腔癌だけでなく口腔前がん病変についても、早期発見・早期治療は極めて重要である。

口腔癌・口腔前がん病変患者の多くが最初に受診する医療機関は開業歯科医院であり、歯科医師は視診や触診で癌・前がん病変を診断しなければならない。しかし口腔癌や口腔前がん病変の病態は極めて多様であり、口腔癌・口腔前がん病変を熟知している専門医でも判断が付きにくい病態を呈することも稀ではない。よって、口腔癌だけでなく口腔前がん病変の簡便かつ有効なスクリーニング法の確立は急務である。

2. 研究の目的

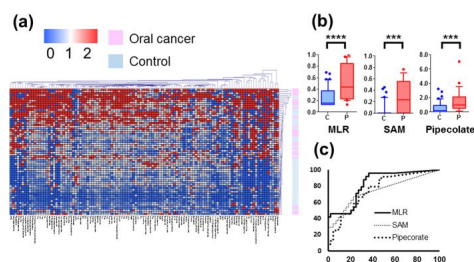
本研究では、口腔癌・口腔前がん病変患者および健常者の唾液を用いて、転写産物を測定するトランスクリプトミクス、タンパク質を測定するプロテオミクス、そして代謝物を測定するメタボロミクスを同時かつ網羅的に行うことで(マルチオミクス)、これまで明らかにした候補バイオマーカーのバリデーションを行うと同時に、新たな口腔癌・口腔前がん病変スクリーニング用マーカーを探索することを目的とする。

3. 研究の方法

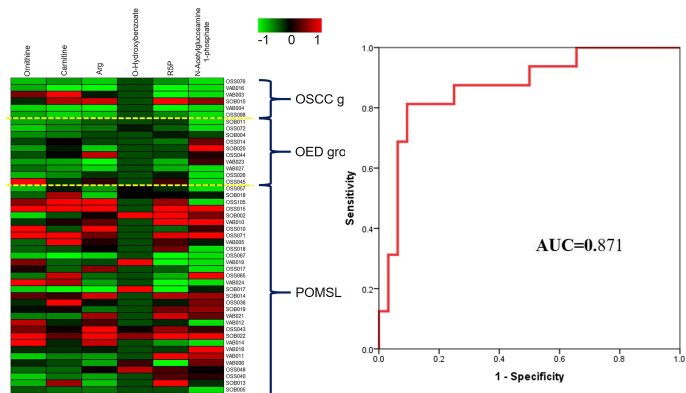
山形大学医学部歯科口腔外科を受診した口腔癌患者約 100 名・口腔前がん病変患者約 100 名および比較的既往歴の少ない歯周病患者約 100 名などの非口腔癌・非口腔前がん病変患者を対象に唾液の採取を行った。そしてその唾液中に含まれる転写産物、タンパク質、代謝物をターゲットとして網羅的に測定を行った。なおタンパク質は、液体クロマトグラフィー・質量分析装置(LC-MS)を用いて、また代謝物は、キャピラリー電気泳動・質量分析装置(CE-MS)を用いて一斉測定を行った。また年齢、性別、既往歴、喫煙・飲酒習慣などの生活習慣および詳細な臨床情報(病理組織型、TNM 分類など)を取得した。これらのデータを用いて統計処理を行い、口腔癌・口腔前がん病変を高感度に検出できるマーカーを探索した。具体的には、口腔癌・口腔前がん病変患者と健常者群の唾液中の各種転写産物、タンパク質、代謝物の濃度を比較して、統計学的な有意差を認めるバイオマーカーを同定した。さらには、その有意差を認めたバイオマーカーを用いて、ROC (Receiver Operatorating Characteristic) 曲線を作成し、ROC 曲線下面積(AUC)を算出する。この算出については、単独のバイオマーカーのみでなく、複数の組み合わせのバイオマーカーも用いて算出し、最も高い AUC を持つバイオマーカーを同定した。また上記のような 2 群間の比較以外にも、口腔癌患者におけるステージ分類や組織学的分化度、そしてリンパ節転移と唾液中バイオマーカー濃度との関連性、唾液採取条件など様々な観点からも検討した。

4. 研究成果

口腔癌患者と健常者で唾液中の代謝物が有意に異なることを明らかにした。特に S-adenosylmethionine (SAM) と pipercolate が口腔癌患者で高値を示し、唾液中のこの 2 物質を測定することによる口腔がん患者と健常者の判別能は AUC = 0.822 と高値を示した。



また口腔癌および口腔前癌病変患者の唾液中代謝物が非癌患者・非前がん病変患者と有意に異なることを明らかにした。ヒートマップおよび ROC 曲線を示す。鑑別能は AUC = 0.871 と高値を示した。

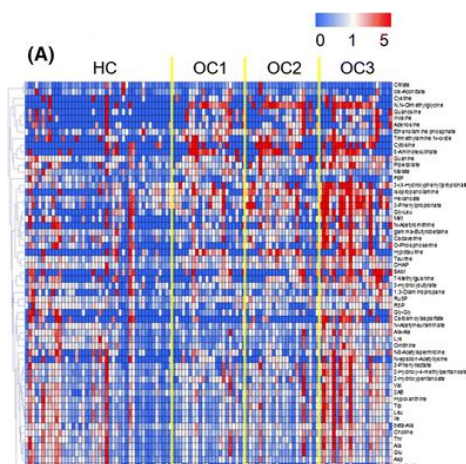


なお本研究では、唾液の採取条件でこれらの判別能がどのように異なるかについても、検討を行った。

同一口腔癌患者より、食後 1.5 時間、食後 3.5 時間、そして食後 12 時間の状態で、それぞれ唾液を採取し、代謝物を測定したところ、12 時間後に唾液を採取したほうが、唾液中の物質濃度が全体的に高値を示し、判別能も高くなることを明らかにした。

(OC1: 食後 1.5 時間、OC2: 食後 3.5 時間、OC3: 食後 12 時間)

また網羅的なタンパク質測定により約 140 種類の唾液中タンパク質が、口腔癌、口腔前がん病変患者、そして健常者でそれぞれ異なることを明らかにした。



これらを合わせることで、口腔癌、口腔前がん病変患者を非口腔癌、非口腔前がん病変患者より高精度に判別できる可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Ishikawa S, Wong DTW, Sugimoto M, Gleber-Netto FO, Li F, Tu M, Zhang Y, Akin D, Iino M. Identification of salivary metabolites for oral squamous cell carcinoma and oral epithelial dysplasia screening from persistent suspicious oral mucosal lesions. Clin Oral Investig. 査読有 2018 Dec 11. doi: 10.1007/s00784-018-2777-3. [in press]

Ishikawa S, Sugimoto M, Kitabatake K, Tu M, Sugano A, Yamamori I, Iba A, Yusa K, Kaneko M, Ota S, Hiwatari K, Enomoto A, Masaru T, Iino M. Effect of timing of collection of salivary metabolomic biomarkers on oral cancer detection. Amino Acids. 査読有 2017 49(4):761-770.

Ishikawa S, Sugimoto M, Kitabatake K, Sugano A, Nakamura M, Kaneko M, Ota S, Hiwatari K, Enomoto A, Soga T, Tomita M, Iino M. Identification of salivary metabolomic biomarkers for oral cancer screening. Sci Rep. 査読有 2016;19;6:31520. doi: 10.1038/srep31520.

〔学会発表〕(計 2 件)

石川恵生、飯野光喜ら 第 62 回 日本口腔外科学会総会・学術大会・2017 年 10 月 20 日・N02-4・唾液中代謝物による口腔がんスクリーニングに関する研究

石川恵生、飯野光喜ら 第 71 回日本口腔科学会学術集会・松山市・2017 年 4 月 28 日・唾液中代謝物を測定する際の唾液採取条件に関する研究～口腔癌スクリーニングのために～

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：石川恵生

ローマ字氏名：Ishikawa Shigeo

所属研究機関名：山形大学医学部

部局名：歯科口腔外科

職名：助教

研究者番号（8桁）：00466640

研究分担者氏名：杉本昌弘

ローマ字氏名：Sugimoto Masahiro

所属研究機関名：慶応義塾大学

部局名：政策・メディア研究科

職名：特任教授

研究者番号（8桁）：30458963

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。