

令和 2 年 5 月 24 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09462

研究課題名（和文）胆膵癌発癌リスク因子としての腸内環境の解明と新たな予防的治療の開発

研究課題名（英文）Investigating intestinal environments as risks for pancreatico-biliary cancers

研究代表者

高木 章乃夫（Takaki, Akinobu）

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：80359885

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）：腸内細菌叢解析では、便の解析で、膵癌では細菌叢の多様性が低下、抗がん剤治療の副作用を生じにくい可能性がある菌の減少があり、この菌は食事中的繊維摂取により増加する可能性があることから、膵癌発症後でも繊維成分の摂食を増やすことで、治療経過を改善できる可能性があると考えられた。また大腸癌などでもリスク菌である可能性が報告されている菌が増加していることから、予防的治療ターゲットになる可能性が示された。また口腔内の細菌叢解析よりは、膵癌症例で歯周病菌の中でも口腔癌のリスクである可能性を報告されている菌が増加、予防歯科系診療科との今後の共同作業による検討が必要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌と膵癌リスクを有するIPMNの間で腸内細菌叢解析を比較、膵癌では細菌叢の多様性が低下、抗がん剤治療の副作用を生じにくい可能性がある菌の減少が明らかになった。この菌は食事中的繊維摂取により増加する可能性があることから、膵癌発症後でも繊維成分の食事を増やすことで、経過を改善できる可能性があると考えられた。膵癌で、大腸癌でも発癌リスクの可能性が報告されている菌が増加しており、予防的治療ターゲットになる可能性がある。口腔内の細菌叢解析よりは、膵癌で歯周病菌の中でも口腔癌のリスクであると報告されている菌が増加、歯周病対策などにより膵癌リスクを低下させることが出来る可能性があることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Aim: The aim of this study was to investigate microbiome analysis of the stool and saliva in pancreatic cancer patients and high risk patients defining the high risk microbiome for the prevention of the pancreatic cancer development. Methods: We collected 24 cases of pancreatic cancer (PK), 16 cases of intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN). Results: From the stool analysis, the diversity of the PK showed low and there was a reduced genus, Lachnospira, which has been reported to be favorable for guarding patients from side effects under chemotherapy. There was another genus which showed increased frequency in PK group, Mogibacterium, which is known as risk bacteria for colon cancer development. From the saliva analysis, a gingival cancer risk periodontitis related bacteria, Atopobium genus was predominant. Conclusion: The risk bacteria genus were determined from both saliva and stool. To control these microbiome is the next step to decrease the development of PK.

研究分野：消化器内科

キーワード：膵癌 腸内細菌叢 腸内環境

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 肝胆膵癌の近年の動向：近年、胆道癌・膵癌などの非常に予後が悪く、リスク因子も明らかでない癌腫が増加傾向となっている。胆膵癌は腹痛・黄疸症状などで発見された時には既に進行していることが多く、早期発見・早期治療が望まれている。しかし、現状を鑑みると、早期発見に繋げるために必要な困り込みの為のリスク因子の評価すら十分とは言えない。胆道癌の高リスク要因とされているものは、膵・胆管合流異常・原発性硬化性胆管炎 (Primary Sclerosing Cholangitis : PSC) 等である。その他の中リスク要因としては、潰瘍性大腸炎・肝硬変・糖尿病・肥満・喫煙などが挙げられている (Tyson, et al. Hepatology 2011.)。膵癌のリスク因子としては膵嚢胞性疾患 (代表例：IPMN; Intraductal papillary mucinous neoplasm)・慢性膵炎・膵癌家族歴などがあり、更に胆道癌と同様、喫煙・糖尿病・肥満が挙げられている (Matsubayashi, et al. J Gastroenterol. 2011)。特に肥満・糖尿病患者は増加を続けており、母集団が巨大であるだけに、胆膵癌増加に対する影響が目立っている可能性がある。

(2) 近年注目されている腸内細菌叢の胆膵疾患への影響：胆道癌・膵癌ともに肥満・糖尿病などがリスク因子になっているが、一方で多くの肥満・糖尿病患者は胆膵癌にならないことから、ひとくりに肥満・糖尿病といっても、心血管系障害を発症するのか、胆膵癌を発症するのか、合併症の行く末は様々である。このような合併症の方向性を決める因子として、口腔内及び腸内環境や免疫応答・酸化ストレスなどの関連が指摘されている。しかし、高リスク患者が何故胆膵癌に至るのか、また予後にどのように関連するのか、という視点での検討は少ない。分担研究者森田等は PSC 患者と健常者および潰瘍性大腸炎患者 (Ulcerative Colitis : UC) の腸内細菌叢解析の結果、PSC の腸内細菌叢の菌種組成が UC とも健常者とも異なり特徴的であることを発見している (Iwasawa K, Morita K, et al. Gut. 2016)。主任研究者高木等は、特に酸化ストレスの消化器疾患の病態への影響を検討し、膵癌においては抗酸化力マーカーが予後に影響することを発見している (Uchida D, Takaki A, et al. Free Radic Res. 2016)。

高リスク患者・担癌者において網羅的な腸内細菌叢解析による胆膵癌リスク菌の同定を行い、胆膵発癌に至る環境を明らかにし、また膵癌発症後の予後に関係するかを、他の免疫応答関連マーカー・酸化ストレスなども含めて検討した。

## 2. 研究の目的

膵癌のリスクになり得る腸内細菌バランスを便の腸内細菌叢網羅的解析により明らかにし、膵癌組織よりも同細菌の抽出・同定を試み、更に動物モデルへの移入により、その機能的な影響について検討することを目的とした。また、膵癌の予後に関係する可能性につき、他の免疫関連マーカーなどの意義も含めて検討を行い、予後改善に寄与する環境要因を明らかにすることも目的とした。

## 3. 研究の方法

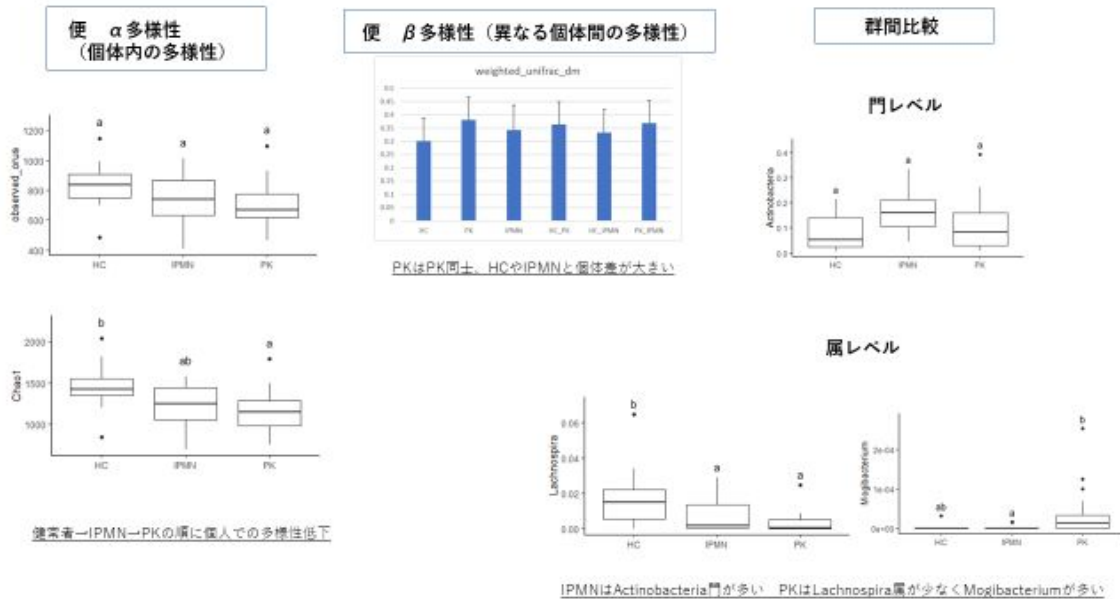
(1) 膵癌患者 (診断時症例と術後症例) (PK)、高リスク IPMN 患者 (IPMN)、健常者 (HC) の唾液・便の細菌叢解析：  
各病態の患者唾液・便を採取し、急速冷凍後 -80℃ 保存した。高速シーケンサーを用いて 16S rRNA 遺伝子解析により同定した。得られた個体の配列情報につき配列類似度を指標にしてクラスタリングを行い、これを主成分分析することにより、症例間の近縁関係を同定した。まず健常者と各病態間で異なる菌種・代謝産物を比較し、胆膵癌患者と高リスク患者の共通項を同定した。便は HC10 例・PK24 例・IPMN16 例での検討、唾液は HC5 例・PK24 例・IPMN16 例での検討となった。

(2) 膵癌患者の予後解析：膵癌の予後に関連する因子として腸内細菌叢・一般データ・酸化ストレスマーカー dROM・抗酸化力マーカー免疫抑制分子 PD-L1 発現など様々な要因での検討を行った。術後経過症例において腸液での腸内細菌叢解析により結石合併の有無に寄与する細菌叢についての検討も行った

## 4. 研究成果

### (1) 膵癌患者と IPMN 患者の腸内細菌叢の比較検討

#### 便での検討



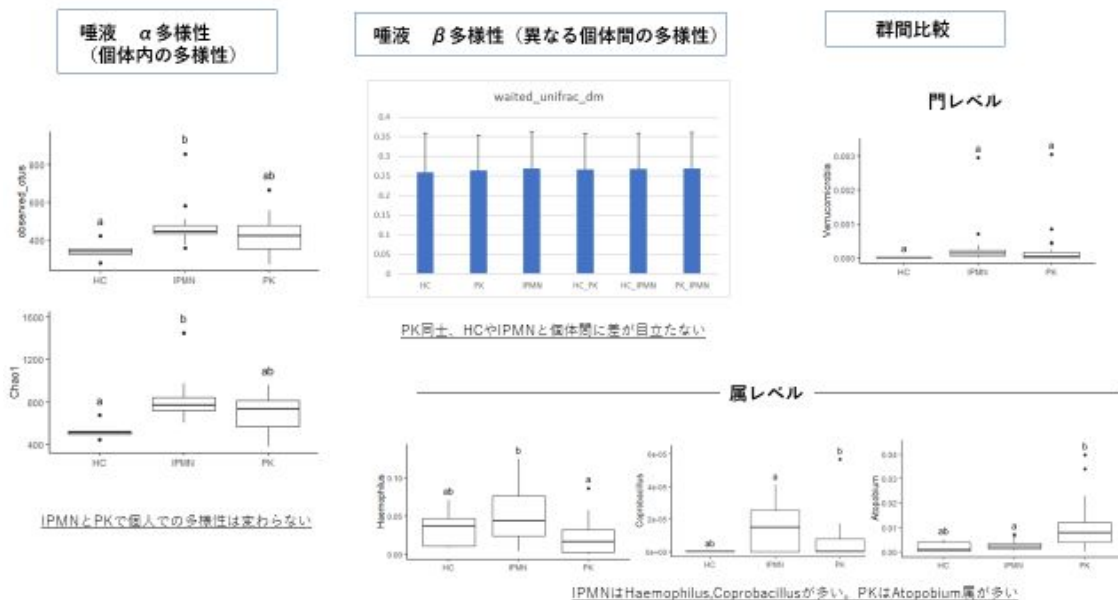
### 便の腸内細菌叢解析のまとめ

1. 健康者→IPMN→PKの順番に個人の中での多様性は低下
2. 異なる個体間での多様性はPKで大きい
3. 門レベルでIPMNでActinobacteria門が多い傾向
4. 属レベルでPKでLachnospira属が少なくMogibacterium属が多い傾向

Lachnospira属: Firmicutes 門・Clostridia 綱・Clostridiales 目・Lachnospiraceae 科に属す。肝細胞癌患者において内服抗がん剤の手足症候群の副作用が生じにくい患者が豊富に含む菌属の一つである (Yamamoto K, et al. Anticancer Res. 2020)。食物繊維の摂取によって増加すると報告されている菌属の一つである (Lin, D., et al. Br J Nutr. 2018)。

Mogibacterium属: グラム陽性嫌気性菌で Firmicutes 門・Clostridia 綱・Clostridiales 目・Eubacteriaceae 科に属す。大腸癌で健康者に比較して高率に検出される菌属の一つであるとの報告や (Chen, W. et al. PLOS One. 2012)、大腸内視鏡スクリーニング患者の中で腺腫を有する患者で有さない人に比べて有意に多いとの報告もあり (Hale, V.L. et al. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2017)、癌化に影響するシグナルを伝達する可能性がある。

### 唾液での検討



### 唾液の腸内細菌叢解析のまとめ

1. 健常者・IPMN・PK で個人の中での多様性はあまり変わらない
2. 異なる個体間での多様性もあまり変わらない
3. 属レベルで PK に *Atopobium* 属が多い傾向

*Atopobium* 属: *Streptococcus* の再分類により命名されたグラム陽性桿菌である。Actinobacteria 門・Coriobacteriia 綱・Coryobacteriales 目・Atopobiaceae 科に属し、歯周病の原因菌の一つとして報告されている。また、健常者・歯周病患者と比較して歯肉扁平上皮癌 (Gingival squamous carcinoma) で有意に唾液中に検出されることから、癌化に関連していることが推測されている重要な菌属である (Li, Y., et al. Oral Oncol. 2020)

### (2) 膵癌患者の予後解析：膵癌の予後に関連する因子の検討

104 例の膵癌患者で、生命予後と関連する項目を Log-rank 検定で単変量解析を行い、有意の項目を用いた Cox 比例ハザードモデルで検討した。結果は以下に示す通りで、手術歴がある (手術が可能であった)・アルブミン値が高値で・腫瘍マーカーである CA19-9 が低値で酸化ストレスバランス Oxidative index が低値の症例が予後良好であると判明した。腸内細菌叢は十分な関連を検出できなかった。

	値	Log-rank 検定 (p)	Cox 比例ハザード
年齢	68 (61-75)		
男性	65/104		
膵癌 Stage (I-II)	28/104	0.005	
手術歴		<0.001	<0.001
アルブミン	3.8 (3.3-4.2)	0.001	<0.001
CA19-9	206.9 (43.9-939.3)	<0.001	0.001
腸腰筋断面積	1042 (761-1381)		
骨格筋断面積	9854 (8016-11714)		
酸化ストレス dROM	360 (312-460)		
抗酸化力 OXY	371 (306-417)		
酸化ストレスバランス	-0.067 (-1.288-1.022)	0.012	0.029

(標準化 dROM/標準化 OXY)

### (3) まとめ

腸内細菌叢解析では、便の解析で、膵癌では細菌叢の多様性が低下しており、抗がん剤治療の副作用を生じにくい可能性がある菌 (*Lachnospira* 属) の減少があり、この菌は食事の繊維摂取により増加する可能性があることから、膵癌発症後でも繊維成分の摂食を増やすことで、治療経過を改善できる可能性があると考えられた。また大腸癌などでもリスク菌である可能性が報告されている菌 (*Mogibacterium* 属) が増加していることから、予防的治療ターゲットになる可能性が示された。また口腔内の細菌叢解析よりは、膵癌症例で歯周病菌の中でも口腔癌のリスクである可能性を報告されている菌 (*Atopobium* 属) が増加しており、予防歯科系診療科との今後の共同作業による検討が必要と考えられた。

予後との関連については症例数が少なかったことが大きいと思われるが、細菌叢解析では十分なデータを得ることが出来なかった。酸化ストレスバランスが酸化ストレス傾向になっている場合が予後不良であり、腸内環境も含めた生体環境改善が予後に影響しうることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsumoto K, Ohara T, Fujisawa M, Takaki A, Takahara M, Tanaka N, Kato H, Horiguchi S, Yoshida R, Umeda Y, Fushimi S, Yagi T, Matsukawa A, Okada H.	4. 巻 Epub
2. 論文標題 The relationship between the PD-L1 expression of surgically resected and fine-needle aspiration specimens for patients with pancreatic cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-019-01586-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	森田 英利  (Morita Kazutoshi)  (70257294)	岡山大学・環境生命科学研究科・教授   (15301)	
研究分担者	松本 和幸  (Matsumoto Kazuyuki)  (40795027)	岡山大学・大学病院・助教   (15301)	
研究分担者	高原 政宏  (Takahara Masahiro)  (80738427)	岡山大学・大学病院・医員   (15301)	