

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11867

研究課題名(和文)唾液メタボローム解析によるがん口腔合併症のリスク因子解明、及び新たな治療法の確立

研究課題名(英文)Elucidation of risk factors and establishment of new treatment methods for oral complications of cancer patient by salivary metabolome analysis

研究代表者

上野 尚雄 (Ueno, Takao)

国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医長

研究者番号：90450832

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)：頭頸部がん放射線治療を受ける患者の唾液メタボロームの経時的変化から、ヒスチジンとチロシンが放射線性粘膜炎が軽度のグループで放射線治療開始前から有意に高値で検出され、一方ガンマアミノ酪酸と2-アミノ酪酸の前処理濃度は、粘膜炎が重度のグループで高かった。これらの代謝産物が頭頸部がん放射線治療による口腔粘膜炎の重症度に関連し、その重症度を予測に有用である可能性が示唆された。薬剤関連顎骨壊死を発症した患者群の唾液中濃度において、スクリーニング群・バリデーション群ともに、ヒポタウリンが有意な上昇を示した。本物質が薬剤関連顎骨壊死の発症患者に特異的な物質の候補である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん治療中の航空粘膜炎や薬剤関連顎骨壊死などの有害事象は、未だ対応に苦慮する病態である。本研究により、唾液中の特異的代謝産物が頭頸部がん放射線治療による口腔粘膜炎の重症度の予測に有用である可能性、また薬剤関連顎骨壊死の「なりやすさ」や「起こり始め」の把握に有用である可能性が示唆された。これにより、口腔粘膜炎・薬剤関連顎骨壊死の病態の解明・新たな予防法や治療法の開発に貢献できる可能性がある。また発症や重症化のリスクを事前に把握できるバイオマーカーとして活用できれば、患者個人ごとの持つリスクに合わせた適切な、テーラーメイドな支持医療の提供に貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：Histidine and tyrosine were detected at significantly higher levels in the group with mild mucositis even before the start of Head & Neck radiation therapy. While gamma-aminobutyric acid and 2-The pretreatment concentration of aminobutyric acid was higher in the group with severe mucositis. It was suggested that these metabolites are associated with the severity of oral mucositis due to radiation therapy for head and neck cancer and may be useful in predicting the severity.

Hypotaurine showed a significant increase in salivary concentrations in both the screening group and the validation group in the group of patients who developed drug-related jaw bone necrosis. It was suggested that Hypotaurine may be a candidate for a substance specific to patients with drug-related osteonecrosis of the jaw.

研究分野：口腔支持医療

キーワード：薬剤関連顎骨壊死 口腔粘膜炎 メタボローム 口腔支持医療

### 1. 研究開始当初の背景

近年がんに対する治療技術の進歩は著しく、治療成績は日々向上しているが、一方強力な治療とともに強い有害事象が出現することも多くなった。有害事象を抑えるためには支持療法が非常に重要であり、適切で具体的な支持療法を確立するための研究の必要性が注目されている。

がん治療中に生じる口腔に関連する合併症は、発症頻度が高く、経口摂取の問題に直結し患者の QOL を著しく低下させるのみならず、誤嚥性肺炎をはじめとした様々な感染の源になることで全身状態を悪化させ、時にはがん治療の完遂を妨げて治療の予後にまで悪影響を与える。

これら口腔有害事象の症状緩和、重症度の抑制に対して、歯科介入による適切な口腔管理が有効であることを示す研究結果が多数報告されている。しかしその効果はまた対策として十分であるとは言い難く、より有効で個別化された口腔合併症の予防・治療法が求められている。

適切な口腔支持療法の確立には、画一化された口腔管理ではなく、各患者のリスクの程度を把握した個別化された対応が重要であり、その口腔合併症の病態マーカーや予測因子を明らかにする手法としてメタボロームの解析が有用である可能性、またメタボロームの解析からがん治療中の患者の口腔内の代謝メカニズムを解明することにより、口腔合併症の本態、機序の解明、発症の予防や早期発見、治療法の確立に寄与できる可能性があると考えた。

### 2. 研究の目的

がん治療に付随して生じる粘膜炎や顎骨壊死などの口腔合併症は、発症頻度も高く、がん患者の治療時の QOL に大きく関わる重要な問題となっているが、未だ有効な予防方法や治療法に乏しく臨床の現場ではより有効な対策が強く必要とされている。

本研究の目的は、採取に侵襲のない唾液を検体として、そこに含まれるあらゆる微小代謝産物（メタボローム）を解析することで、がん治療時の口腔合併症の「なりやすさ」の予測や「起こり始め」の検知ができるマーカー物質群を同定し、その代謝メカニズムや病態を明らかにして、発症の予防や予測・早期発見、新たな治療法や治療薬の確立などの臨床応用に繋げることである。

### 3. 研究の方法

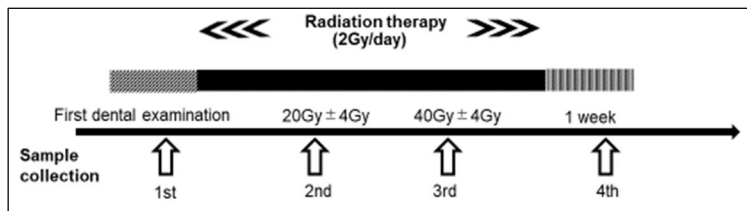
1) がん患者の唾液メタボローム検索の妥当性の評価として、頭頸部がん放射治療中の患者を対象に、唾液採取の適切性や実現可能性を予備的に評価する。

口腔合併症の重症度が高く、唾液採取が最も困難と思われる頭頸部放射線治療中の患者を対象とし、唾液検体採取状況、及びメタボロームの検出状況を調査することで研究の妥当性を評価する。採取は計4回とし、有効唾液採取の割合80%以上を持って研究手法が妥当であると評価する。

2) 口腔合併症（粘膜炎、顎骨壊死）を発症したがん患者の唾液を検体に、発症や重症度と関連するような特異的なメタボロームの網羅的検索を行う。マーカー物質となりうる特異的微小代謝産物を同定し、測定方法と評価試験方法の最適化を行い、実用化に向けた検討を行う。

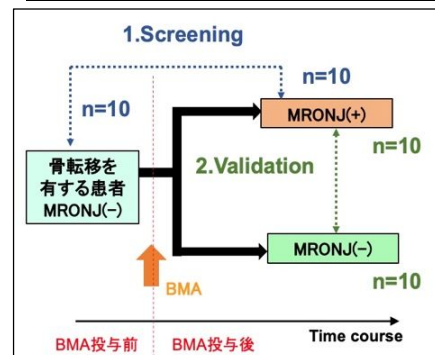
#### 1. 放射線性口腔粘膜炎の発症や重症度に関連する唾液メタボロームの網羅的検索

上記の妥当性評価研究を継続・発展させ、頭頸部がん放射線治療を受ける患者10名の唾液中のメタボロームの経時的な変化を調査し、粘膜炎の重症度と唾液中のメタボロームのプロファイルの変化の関連を解析する。粘膜炎の発症や重症度と関連するような特異的なメタボロームの候補物質を同定する。



#### 2. 薬剤性顎骨壊死の発症や重症度に関連する唾液メタボロームの網羅的検索

薬剤関連顎骨壊死を発症したがん患者と、顎骨壊死のないがん患者の2群の唾液中の微小代謝産物（メタボローム）を網羅的に解析、比較することで、薬剤性顎骨壊死の患者に特異的に濃度が変化する代謝物を網羅的に検索・同定する。また唾液採取の際に口腔内の状態（顎骨壊死の状態 + 歯科的所見）を診察し、これらと、唾液プロファイルの関連を解析し、相関する因子を検索する。予定症例数はスクリーニングとして顎骨壊死発症群10例・対象群10例の計20例でメタボロームの中間解析を行ない、特異的なメタボロームと思われる候補産物をピックアップする。スクリーニングの結果をもとに、具体的な候補物質を選定し、顎骨壊死発症群10例と対象群10例の計20例でのバリデーションを行ない、顎骨壊死との具体的な関連をさらに明確にする。

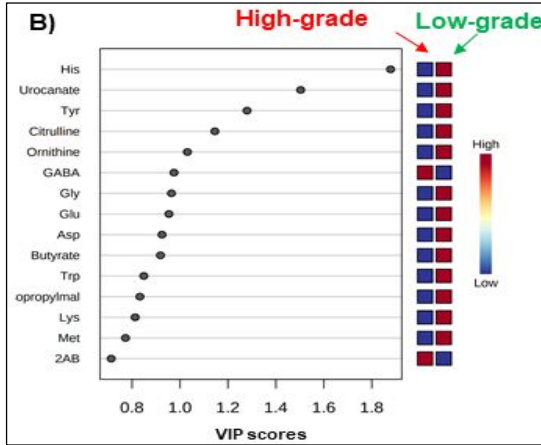


4. 研究成果

1. 放射線性口腔粘膜炎の発症や重症度に関連する唾液メタボロームの網羅的検索

頭頸部がん放射線治療を受ける患者 10 名を対象に、経時的に 4 回の唾液検体の採取を試みた。9 例の患者で、全てのフェーズにおいて必要十分な唾液検体の採取を行うことができ、がん治療中であっても唾液検体採取・メタボローム調査は、実行可能な手技であることが示唆された。

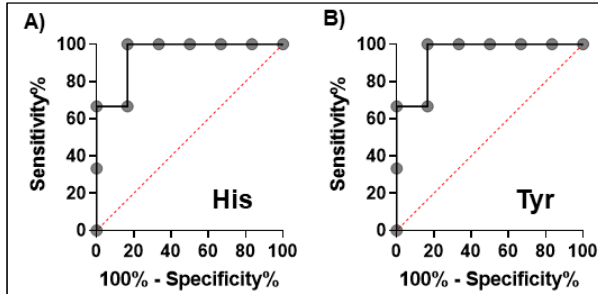
放射線療法前の唾液中に含まれる代謝物濃度の PLS-DA



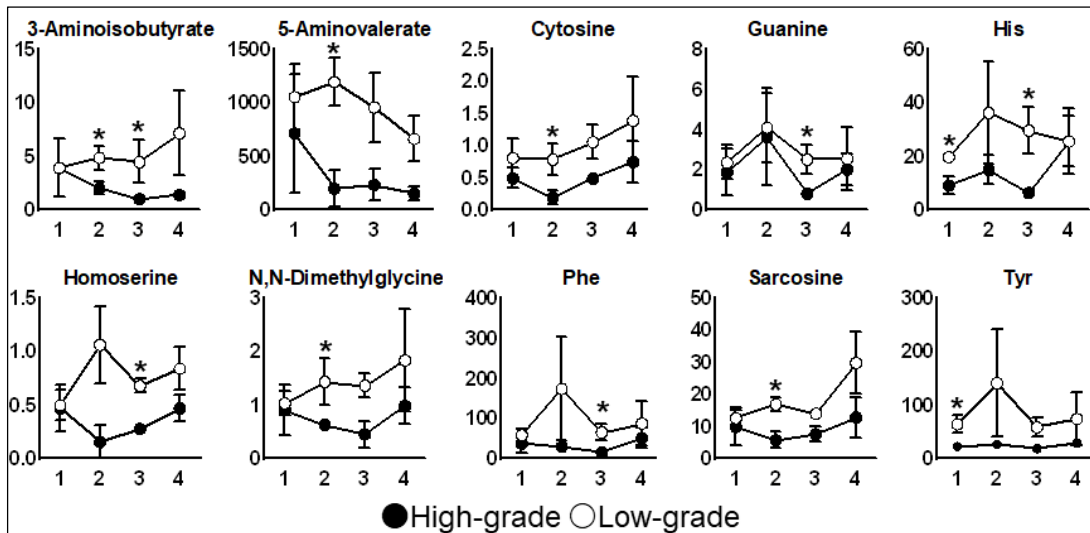
代謝物の VIP スコアが高いほど、粘膜炎のグレードが高い群と低い群を区別するための貢献度が高いことを表している。右のボックスはヒートマップを示している。赤と青は濃度を示す(赤は高濃度、青は低濃度を示している)。

ヒスチジン (His) は VIP スコアが最も高く、その平均濃度は、低グレード群で高く、高グレード群で低かった。

放射線療法前の唾液中の His、Tyr における、重度粘膜炎群 (n=3) と軽度粘膜炎群 (n=6) を分別する ROC カーブ



カーブの下の領域が大きいほど、識別の精度が高いことを示す。AUC 値は His、Tyr どちらの代謝産物も 0.94 (95%信頼区間: 0.79-1.0, P = 0.039) であった。



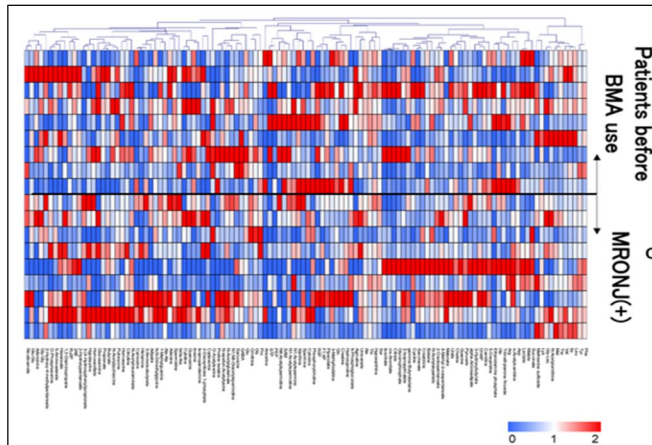
粘膜炎の低グレード群 (白丸) と高グレード群 (黒丸) の間で、濃度に有意差を示す代謝産物 (10 種類) の経時的な濃度変化

表記の 10 種類の代謝物は、放射線治療中の全過程において、低グレード群よりも高グレード群で高値を示した。

放射線療法開始前の唾液中のヒスチジンとチロシンは、重度粘膜炎群と軽度粘膜炎群を高度に識別した。また、ガンマアミノ酪酸と 2-アミノ酪酸の前処理濃度は、重度粘膜炎群で高値を示した。これらの代謝産物は、頭頸部がん患者の放射線療法中の口腔粘膜炎の重症度に関連する可能性があり、これらの代謝物を事前に調べることで、粘膜炎のリスクを予測できる可能性が示唆された。



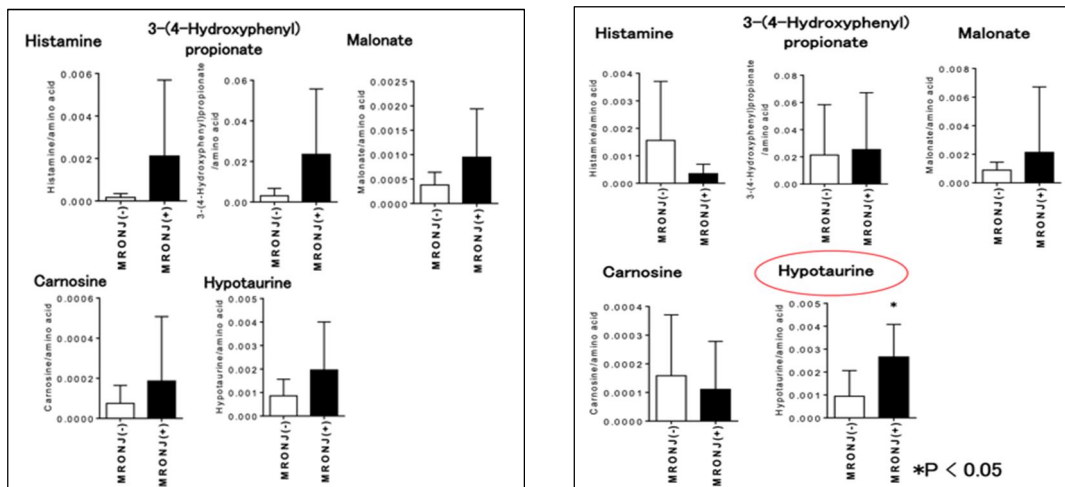
## 2. 薬剤性顎骨壊死の発症や重症度に関連する唾液メタボロームの網羅的検索



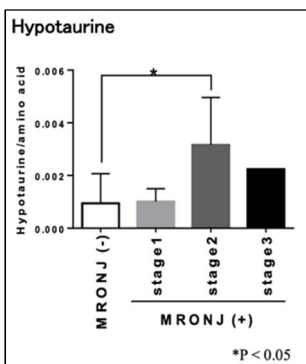
対象となるがん患者から唾液サンプルを収集し、親水性代謝物の非標的的分析のためにキャピラリー電気泳動質量分析を使用してメタボローム分析を実施した。

左にヒートマップを示す。色は同定された代謝産物の濃度を反映しており、赤は高濃度、青は低濃度を示している。

唾液中の代謝産物の構成について、MRONJ 患者と、MRONJ の発症のない対象患者で比較した。



スクリーニングとして、ステージ1以上の進行性MRONJ患者の唾液 (n=9) と、化学療法前のMRONJのない対照患者の唾液 (n=9) の代謝産物の構成を比較した。両群で有意な差を示す唾液代謝物の上位5つは、ヒスタミン、3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸、マロン酸、カルノシン、およびヒポタウリンであった (左表)。バリデーションでは、ステージ1以上の進行MRONJの追加患者 (n=8) と化学療法後のMRONJのない対照 (n=9) を分析し、ヒポタウリンの唾液濃度がMRONJ群で2.28倍の有意な上昇を認めた (右表)。



またヒポタウリンの唾液濃度は、ステージが上がるにつれ増加する傾向を認めた (左表)。

ヒポタウリンは抗酸化物質として、炎症等の酸化ストレスに対する生体の防御的役割を果たしているといわれており、ヒポタウリンの生成亢進は、MRONJの初期段階の炎症下で、生体の防御反応として増加している可能性が考えられた。

また、先行する口腔がんや歯周病を対象とした唾液メタボローム解析ではヒポタウリンの上昇は認めなかったと報告があり、このことからヒポタウリンの上昇はMRONJの病態に特異的である可能性が示唆された。

本研究の結果より、唾液中のヒポタウリン濃度がMRONJの早期発見のための潜在的なマーカーとして使用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 Wakako Yatsuoka, Takao Ueno et al	4. 巻 12
2. 論文標題 Metabolomic profiling reveals salivary hypotaurine as a potential early detection marker for medication-related osteonecrosis of the jaw	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0220712	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3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 八岡 和歌子、上野尚雄
2. 発表標題 Metabolomic profiling reveals salivary hypotaurine as a potential early detection marker for medication-related osteonecrosis of the jaw
3. 学会等名 第65回日本口腔外科学会総会・学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 八岡 和歌子、上野尚雄
2. 発表標題 メタボローム解析を用いた唾液による薬剤関連顎骨壊死特異物質の探索
3. 学会等名 第5回日本がん口腔支持療法学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 八岡 和歌子、上野尚雄
2. 発表標題 唾液メタボローム解析による薬剤関連顎骨壊死特異物質の探索
3. 学会等名 第24回日本緩和医療学会学術大会
4. 発表年 2019年

〔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	上園 保仁  (Uezono Yasuhito)  (20213340)	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・分野長   (82606)	
研究 分担者	杉本 昌弘  (Sugimoto Masahiro)  (30458963)	慶應義塾大学・政策・メディア研究科(藤沢)・特任教授   (32612)	

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
---------	---------