

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 4 月 24 日現在

機関番号 : 32651
研究種目 : 奨励研究
研究期間 : 2019
課題番号 : 19H00444
研究課題名 : 膵臓がん標準化学療法の治療効果を規定する腸内細菌叢の同定

研究代表者

関 鑫 (KAN, Shin)
東京慈恵会医科大学・消化器・肝臓内科・研究補助員

交付決定額（研究期間全体）（直接経費）：540,000 円

研究成果の概要：

膵臓がん治療で用いられる化学療法は少なく、いずれ治療耐性をきたしてしまうため、標準化学療法治療奏功者（レスポンドー）の選別や新規治療法開発が急務である。近年、特定の腸内細菌叢が様々な疾患に関与することや抗腫瘍効果を増強する腸内細菌叢の存在が報告されてきている。本研究では、膵臓がん標準化学療法の治療効果を規定する腸内細菌叢を明らかにするため、ヒト腸内細菌叢を模倣したマウス（ヒトフローラマウス）の作製を目的とした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

治療効果の異なる患者の糞便を用い作製したヒトフローラマウスに膵臓がん細胞を移植し、化学療法で治療し抗腫瘍効果を評価することで、抗腫瘍効果に関連する腸内細菌叢の存在を明らかにする。また、膵臓がんの標準化学療法のノンレスポンドーに対し、抗腫瘍効果に関連する腸内細菌叢の移植を行うことで、新たな治療法を提案できる。さらに、膵臓がんのみならず様々な疾患の患者糞便から作製したヒトフローラマウスを用いて、腸内細菌叢と疾患の関連性を解析することが期待される。これらのことは学術的に意義があると考えられる。

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：膵臓がん 腸内細菌叢 ヒトフローラマウス

1. 研究の目的

膵臓がんは治療法が限られており、また診断された時期にはすでに進行しているため、予後不良として知られている。近年、膵臓がん長期生存者、短期生存者に存在する腸内細菌叢の違いが生存率に寄与することが報告されている (Cell 2019; 178: 795-806)。また、免疫チェックポイント阻害剤で効果の異なる患者の糞便を移植したマウスに腫瘍を移植し、免疫チェックポイント阻害剤を投与すると、レスポンドーの糞便を移植したマウスで抗腫瘍効果の増強が報告されている (Science 2015; 350: 1079-84)。これらのことにより、ヒト膵臓がんの腸内細菌叢の違いが標準化学療法の抗腫瘍効果に関連すると考えられる。我々は、治療効果の異なる膵臓がん患者間の腸内細菌叢と化学療法の治療効果を解析する際に用いる、ヒトフローラマウスの作製を本研究で行なった。

2. 研究成果

[方法]

一般的にヒトフローラマウスはヒト腸内細菌叢の生着のために、無菌マウスを用いることが多いが、価格が高く無菌マウスを維持する施設が少ない問題点がある。これらの問題に対処するため、specific pathogen free (SPF) マウスを用いて様々な抗生剤を投与してヒトフローラマウスを作製する報告が多い。しかし、ヒト腸内細菌叢の生着が低いことが問題としてあげられる (Microbiome 2017; 5: 87)。今回、我々はマウスへの抗生剤の経口投与により (1) マウス体重が

減少せず(2)マウス由来の腸内細菌叢が減少すること(J. Vis. Exp 2018: 141: e58481)に着目し、SPFマウスを用いてヒトフローラマウスの作製を試みた。

C57BL/6 SPFマウスに抗生剤(アンピシリン、ゲンタマイシン、ネオマイシン、メトロニダゾール、バンコマイシン)を7日間経口投与してマウス由来の腸内細菌叢の減少を確認後、グリセロールストックした凍結ヒト糞便を生理食塩水で溶解し1週間に2回マウスに経口投与した。

[研究の主な成果]

健常者糞便を用いて作製したヒトフローラマウスにおいて、16s rRNA菌叢解析の結果、ヒト糞便移植後のマウス糞便ではマウス由来の腸内細菌叢の割合の減少とヒト由来の腸内細菌叢の割合が増加した。また、主座標分析からヒト糞便とヒト糞便移植後のマウス糞便の菌叢構造が似ていることを確認した。この結果はヒト糞便移植4週間後のマウスにおいても確認されており、ヒト腸内細菌叢がマウス体内で長く維持されると考えられる。以上の結果より、本方法にて作製したマウスでは、ヒト腸内細菌叢の生着が確認されヒトフローラマウスが作製できたと考えられる。

[今後の展望]

- (1) 治療効果の異なる膵臓がん患者の糞便を移植したヒトフローラマウスに膵臓がん細胞を移植し化学療法(ゲムシタビン+ナブパクリタキセル)を投与し、抗腫瘍効果や抗腫瘍免疫細胞の誘導を評価する。治療効果の異なる患者での腸内細菌叢と化学療法の治療効果の関連性ならびに腸内細菌叢が免疫細胞を介して抗腫瘍効果に与える影響を解明する。
- (2) 現在ゲムシタビン+ナブパクリタキセルの治療前後の膵臓がん患者の糞便検体を回収している。その後、メタゲノム解析を行い、ゲムシタビン+ナブパクリタキセルの効果に関与する腸内細菌叢を同定する計画である。

3. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[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

<http://www.jikei.ac.jp/hospital/kashiwa/sinryo/03.html>

4. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名：小井戸 薫雄 (KOIDO, Shigeo)
東京慈恵会医科大学・医学部・教授
研究者番号：70266617

※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。