

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：17701
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2019～2022
課題番号：19K10361
研究課題名(和文) 口腔・大腸マイクロバイオーム解析による大腸がんリスク診断および予防概念の創生
研究課題名(英文) Creation of colorectal cancer risk diagnosis and prevention concept by oral and colonic microbiome analysis
研究代表者
後藤 雄一 (Goto, Yuichi)
鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教
研究者番号：00637902
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：現在まで、*Fusobacterium nucleatum* の大腸がん発癌への関与が注目されている中で、われわれは大腸がん患者の唾液および便サンプルで共通して、健常者よりも豊富にみられる4菌種を同定し、それらは*F. nucleatum* ではない口腔常在菌であり、大腸がん発癌と口腔細菌叢との関係に新たな可能性を示唆するものとなった。得られた研究結果は2021年Cancers誌に誌上報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今後、本研究をもとに*F. nucleatum* をはじめとした様々な口腔細菌が大腸がんの発がんメカニズムに関与している可能性を立証し、より簡便、安価かつ有用なスクリーニングツールを開発し、歯科介入による大腸フローラの改善が将来的ながん予防につながる可能性を導き、大腸がんをはじめとする消化器がんの予防における歯科介入の重要性を証明する予定である。

研究成果の概要(英文)：While the involvement of *Fusobacterium nucleatum* in colorectal cancer carcinogenesis has attracted attention so far, we have identified four species that are common in saliva and stool samples from colorectal cancer patients and are more abundant than in healthy subjects. However, they are oral indigenous bacteria that are not *F. nucleatum*, suggesting a new possibility for the relationship between colorectal cancer carcinogenesis and oral microbiota. The results of the study will be published in Cancers in 2021.

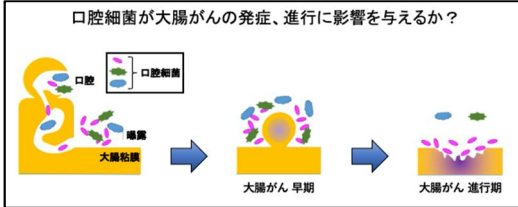
研究分野：口腔外科

キーワード：マイクロバイオーム *Fusobacterium nucleatum* 次世代シーケンサー 16S rRNA 口腔マイクロバイオーム 歯周病菌 *Peptostreptococcus Solobacterium moorei*

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

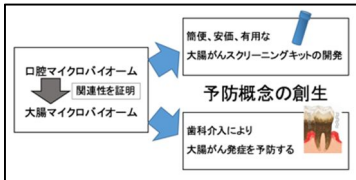
近年、大腸がんを含む多くの消化器系癌の原因として腸内マイクロバイオームの重要性が明らかとなっている。さらに大腸のマイクロバイオームでは、口腔細菌叢に含まれる歯周病原菌を含み、発癌および進展に影響を与えている可能性が示唆されているが、その詳細は不明であった。大腸がんは今や日本人における最多のがんになるうとしており、最も研究を集中すべき領域のがんである。さらに、第3期がん対策推進基本計画に「がん予防」が掲げられ、医療費削減が急務の日本において、予防治療を基本コンセプトとする研究こそ最優先ですめるべきであると考えられた。その予防に際してはマイクロバイオームにおける供給源の改善こそが、発癌や進展の制御に大きな影響を与えうると考え、口腔と大腸のマイクロバイオームの関連について検討を行うこととした。



その予防に際してはマイクロバイオームにおける供給源の改善こそが、発癌や進展の制御に大きな影響を与えうると考え、口腔と大腸のマイクロバイオームの関連について検討を行うこととした。

2. 研究の目的

本研究では健常者、大腸がん患者における唾液および便を検体とし、より侵襲の少ない検体を用いることで、研究協力者である健常者や患者の負担を軽減し、多くの協力を得ることとした。その上で口腔および大腸のマイクロバイオームは次世代シーケンサーにて解析。口腔と大腸のマイクロバイオームを比較し、大腸における口腔内常在菌のリザーバーとしての口腔の役割を明らかにすることを目的とした。大腸における口腔細菌の供給と発がんメカニズムへの関与が

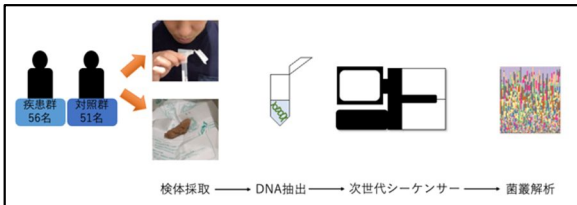


証明された段階で、唾液のみによる大腸がん検診の有効性を示し、より簡便なスクリーニング法を確立、効率的で費用対効果の高い大腸がん検診の実現を目指すこととした。そして歯科介入という前向き研究を行うことで、口腔疾患の治療および予防が、大腸癌を含めた消化器系癌の罹患率の低下、ひいては死亡率の低下に寄与することを目指した。

3. 研究の方法

大腸がんにおける口腔と大腸のマイクロバイオームの比較

健常者 51 名、治療前の大腸がん患者 56 名より唾液および便検体を採取した。患者情報を検体から切り離し、ID を付与した状態で解析まで凍結保存する。同時に患者における臨床病理学的項目についても情報を収集した。検体採取にあたっては、臨床研究審査委員会の承認(170312 疫-改1「口腔・大腸細菌叢の解析による大腸がんリスク診断法の確立に向けた横断的観察研究」)を得て採取を行った。予定の検体数に達した段階で 16S rRNA を用いた次世代シーケンスによる



口腔および大腸のマイクロバイオーム解析を行った。解析は検体間のばらつきや測定誤差をなくすため、処理と測定のすべてをピケンバイオミクスに外部委託し、データの詳細解析は大阪大学微生物病研究所遺伝子生物学分野 原 英二教授と共同で行った。

4. 研究成果

得られた検体のうち疾患群で一部得られた DNA 量が少ないものがあり除外した。健常者は 51 名、疾患群で 52 名を解析の対象とした。

被検者の臨床病理学的特徴は Table 1 に示す通りである。

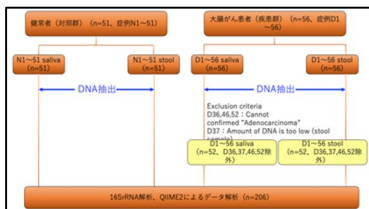


Table.1 症例の臨床的特徴

	健常群	疾患群
n数	51	52
性別	男性 26 (51.0%) 女性 25 (49.0%)	33 (63.5%) 19 (36.5%)
年齢 (平均)	54.49 (±10.6)	68.52 (±10.6)
既往歴	高血圧 12 (23.5%) 糖尿病 4 (7.8%) 肝疾患 3 (5.9%) 他のがん疾患 1 (2.0%) なし 20 (39.2%)	23 (44.2%) 9 (17.3%) 1 (1.9%) 9 (17.3%) 7 (13.5%)

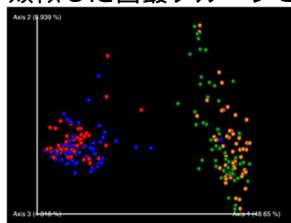
Table.1 続き

	健常群	疾患群
歯数	平均歯数 (本) 24.92 未処置歯なし (例) 43 (84.3%) 未処置歯あり (例) 6 (11.8%)	17.7 33 (63.5%) 18 (34.8%)
義歯	なし 47 (92.2%) あり 4 (7.8%)	27 (51.9%) 25 (48.1%)
プラークの付着状況	歯面の1/3未満 30 (58.8%) 歯面の1/3以上 18 (35.3%)	7 (13.5%) 41 (78.8%)
飲酒	なし 21 (41.2%) あり 週4日以上 18 (35.3%) 週3日以下 12 (23.5%)	32 (61.5%) 15 (28.8%) 5 (9.6%)
喫煙	なし 24 (47.1%) 過去の喫煙歴 19 (37.3%) あり 8 (15.7%)	24 (46.2%) 24 (46.2%) 4 (7.7%)
歯磨きの回数 (/日)	2回以下 14 (27.5%) 3回以上 37 (72.5%)	33 (63.5%) 18 (34.6%)
歯科受診 (3か月以内)	なし 36 (70.6%) あり 15 (29.4%)	35 (67.3%) 16 (30.8%)

Ur

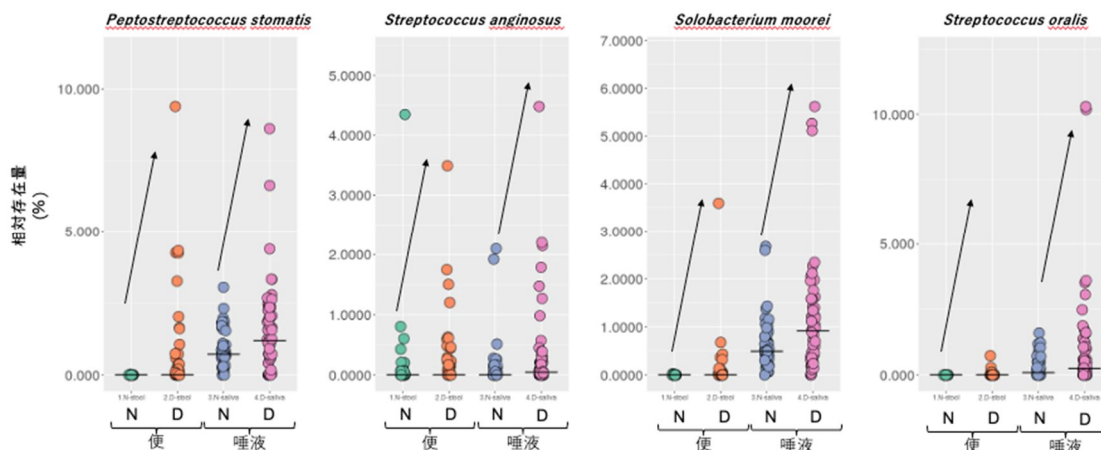
主座標分析の結果、便サンプルと唾液サンプルでは

類似した菌叢グループとなり、唾液でも便検体でも健常群と疾患群では有意差があった。



Group 1	Group 2	Sample size	Permutations	pseudo-F	p-value	q-value
1.N-stool	2.D-stool	107	999	3.746218	0.001	0.0012
	3.N-saliva	102	999	126.861621	0.001	0.0012
	4.D-saliva	107	999	100.467024	0.001	0.0012
2.D-stool	3.N-saliva	107	999	105.708535	0.001	0.0012
	4.D-saliva	112	999	85.782713	0.001	0.0012
3.N-saliva	4.D-saliva	107	999	2.380451	0.035	0.0350

また、健常群と疾患群で細菌の相対存在量を比較すると、唾液でも便検体でも4つの菌種 (*Peptostreptococcus stomatis*、*Streptococcus anginosus*、*Solobacterium moorei*、*Streptococcus oralis*) に有意差を認め、いずれも口腔内の常在菌であった。

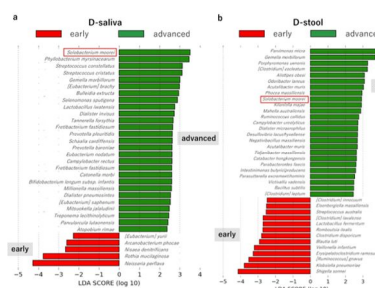


次に疾患群の中で早期群と進展群 (Table 2) に分け解析を行ったところ、*Solobacterium moorei* の相対存在量が有意に高いことがわかった。

Table.2大腸がん患者の臨床病理学的特徴

部位	n	(%)
盲腸	7	13.5
上行結腸	7	13.5
横行結腸	2	3.8
下行結腸	5	9.6
S状結腸	7	13.5
直腸	24	46.2
T分類		
T1	7	13.5
T2以上	44	84.6
不明	1	1.9
N分類		
N0	29	55.8
N1以上	23	44.2
M分類		
M0	43	82.7
M1	9	17.3
stage		
I + II	24	46.2
III以上	27	51.9
不明	1	1.9

治療方法	n	(%)
手術	34	65.4
ケモ	4	7.7
術前ケモ+手術	12	23.1
治療なし	2	3.8



得られた研究結果は 2021 年 Cancers 誌に誌上報告した (Colorectal Cancer Patients Have Four Specific Bacterial Species in Oral and Gut Microbiota in Common—A Metagenomic Comparison with Healthy Subjects. Uchino Y, Goto Y, Hara E, Sugiura T. et al.)。現在まで、*Fusobacterium nucleatum* の大腸がん発癌への関与が注目されている中で、われわれは大腸がん患者の唾液および便サンプルで共通して、健常者よりも豊富にみられる4菌種を同定し、それらは *F. nucleatum* ではない口腔常在菌であり、大腸がん発癌と口腔細菌叢との関係に新たな可能性を示唆するものとなった。このように大腸がんとの関与が疑われる様々な口腔細菌が同定されており、ある1菌種というより複数の菌種が同時に関わり合って発癌に影響していることが考えられる。また、将来的な予防概念の構築を前提とし、唾液による大腸がんリスク診断法の開発、さらには歯科介入によるマイクロバイオームの変化を確認した研究も未だ散見しない。今後、本研究をもとに *F. nucleatum* をはじめとした様々な口腔細菌が大腸がんの発がんメカニズムに関与している可能性を立証する。より簡便、安価かつ有用なスクリーニングツールを開発し、国内ひいては海外における大腸がん検診拡充の一助となる。歯科介入による大腸フローラの改善が将来的ながん予防につながる可能性を導き、がん予防における歯科の重要性を証明する予定である。また、本研究により大腸がんを含めた消化器系がんの発がん原因としての口腔細菌の関連性が証明されれば、今後の発がんメカニズムの解明や治療法の開発への応用も期待ができると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Uchino Yoshinori, Goto Yuichi, Konishi Yusuke, Tanabe Kan, Toda Hiroko, Wada Masumi, Kita Yoshiaki, Beppu Mahiro, Mori Shinichiro, Hijioka Hiroshi, Otsuka Takao, Natsugoe Shoji, Hara Eiji, Sugiura Tsuyoshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Colorectal Cancer Patients Have Four Specific Bacterial Species in Oral and Gut Microbiota in Common-A Metagenomic Comparison with Healthy Subjects	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 3332 ~ 3332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13133332	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 -

1. 著者名 新田 哲也, 坂元 亮一, 平原 成浩, 松村 吉晃, 中村 康大, 後藤 雄一	4. 巻 65
2. 論文標題 ビスフォスフォネート製剤の不適切な服用方法による発症が疑われた口腔粘膜潰瘍	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本口腔外科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 599-604
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5794/jjoms.65.599	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8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 内野 祥徳, 後藤 雄一, 別府 真広, 比地岡 浩志, 杉浦 剛
2. 発表標題 大腸がん患者は口腔・腸内細菌叢に共通して4種の特異な菌種を有する -メタゲノム解析による健常者との比較-
3. 学会等名 第3回南九州歯学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内野祥徳, 後藤雄一, 三島優美子, 別府真広, 比地岡浩志, 杉浦剛
2. 発表標題 大腸がんの大腸細菌叢に対する口腔細菌叢の関与
3. 学会等名 第75回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内野祥徳、後藤雄一、三島優美子、別府真広、比地岡浩志、杉浦剛
2. 発表標題 大腸がんの大腸細菌叢に対する口腔細菌叢の関与
3. 学会等名 第66回日本口腔外科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内野祥徳、後藤雄一、杉浦剛他
2. 発表標題 大腸がんの大腸細菌叢に対する口腔細菌叢の関与
3. 学会等名 日本口腔外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Uchino Yoshinori, Goto Yuichi, Kita Yoshiaki, Hara Eiji, Sugiura Tsuyoshi
2. 発表標題 Involvement of oral flora in the colonic flora of colorectal cancer
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 後藤雄一、田畑博章、比地岡浩志、東友太郎、西慶太郎、内野祥徳、田中昭彦、久米健一、別府真広、杉浦 剛
2. 発表標題 Inflammation based prognostic scoreを用いたARONJにおける外科的治療の予後予測
3. 学会等名 第52回口腔科学会九州地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東友太郎、後藤雄一、山城康太、松村吉晃、田中秀明、久米健一、田中昭彦、別府真広、山下真由美、浜田倫史、比地岡浩志、杉浦剛
2. 発表標題 口腔癌におけるInflammation based prognostic score(IBPS)の有用性の検討
3. 学会等名 第64回口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中昭彦、西 慶太郎、有村麻弥、後藤雄一、濱田倫史、杉浦 剛
2. 発表標題 ウェアラブルデバイスを用いた口腔癌患者に対する新たな嚥下機能評価の試み
3. 学会等名 第25回日本摂食嚥下リハビリテーション学会学術大会
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	盛 真一郎 (Mori Shinichiro) (00620519)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・助教 (17701)	
研究分担者	井戸 章雄 (Ido Akio) (30291545)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	
研究分担者	喜多 芳昭 (Kita Yoshiaki) (30570692)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・助教 (17701)	

6. 研究組織（つづき）

	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	杉浦 剛 (Suigiura Tsuyoshi) (40322292)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授 (17701)	
研究分担者	佐々木 文郷 (Sasaki Fumisato) (40735297)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・助教 (17701)	
研究分担者	田辺 寛 (Tanabe Hiroshi) (40814306)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・医員 (17701)	
研究分担者	夏越 祥次 (Natsugoe Shoji) (70237577)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	
研究分担者	比地岡 浩志 (Hizioka Hiroshi) (70305150)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師 (17701)	
研究分担者	原 英二 (Hara Eiji) (80263268)	大阪大学・微生物病研究所・教授 (14401)	
研究分担者	大塚 隆生 (Ootsuka Takao) (20372766)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	

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