

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：34517

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20201

研究課題名（和文）肺がん患者における治療前食習慣・腸内細菌とPD-1阻害剤治療の関連について

研究課題名（英文）The Relationship between Pretreatment Dietary Habits, Gut Bacteria, and PD-1 Inhibitor Therapy in Lung Cancer Patients

研究代表者

矢野 めぐむ（Yano, Megumu）

武庫川女子大学・栄養科学研究所・嘱託研究員

研究者番号：70411973

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：肺がんへ適応が承認された免疫チェックポイント阻害剤は、治療方法の狭まる重篤な患者において使用が可能である。また従来の治療方法と併せ使用すると、治療成績が改善することが報告されており、標準治療に使用されるようになってきた。しかし、治療効果については、奏功例での効果は高いが、無効例の割合は未だ高く、治療効果と関連する要因の特定は重要であると考えられる。

本研究では、患者の腸内細菌多様性を調査した結果、免疫チェックポイント阻害剤治療の奏功群は、治療開始前の腸内細菌多様性が治療中も維持されることが明らかとなった。また治療開始前の食事調査から、奏功群ではたんぱく質摂取頻度と関連のある細菌種が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、肺がん患者における免疫チェックポイント治療の効果が得られる奏功例の割合を増やすため、治療効果に関連する要因の特定を目的とし、治療開始前、治療中の腸内細菌、および治療開始前の食事に着目をした。結果、免疫チェックポイント治療開始前の腸内細菌多様性が、奏功群では無奏功群に比し、有意に高い多様性を示した。

また、治療中の多様性が、非奏功群では低下したが奏功群は維持されることが明らかとなった。栄養調査では、奏功群は無効群と比べたんぱく質摂取頻度が高く、特異的菌種が確認された。このことから、治療開始前の腸内細菌の多様性を高く維持することは治療効果の奏功例を高める1つの要因であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Immune checkpoint inhibitors, approved for lung cancer treatment, can be used in critically ill patients for whom treatment options are limited. They have also been reported to improve outcomes when combined with conventional treatment methods and are now used as standard treatment. However, although the therapeutic efficacy is high in successful cases, the proportion of ineffective cases is still high. The factors contributing to the therapeutic effect need to be identified.

In this study, the intestinal bacterial diversity of patients was investigated. The results showed that the gut microbiota diversity before treatment initiation was maintained during treatment in successful patients treated with immune checkpoint inhibitors. In addition, bacteria species related to the frequency of protein intake were found in the successful group based on a dietary survey before the treatment initiation.

研究分野：栄養学

キーワード：腸内細菌 肺がん 免疫チェックポイント 栄養調査

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤は2015年より肺がんへの適応が承認され、治療方法の狭まる重篤な患者において治療選択の幅が広がり、また治療効果の高い治療方法として期待がもたれている。しかし、治療効果については奏効例の効果は高いが、無効例の割合は未だ高く、現在まで治療効果の違いにどのような要因が関わっているか明らかにされておらず、治療効果を阻害する要因の解明は緊急の課題である。

また日本における死因の第1位は悪性新生物であるが、死因部位別にみた場合、肺がんは2014年では男性2位、女性4位であったが、2016年には男性1位、女性2位まで上昇している¹⁾。増加の原因として考えられる要因に、年代別のがん死亡部位を見ると、高齢になるほど肺がんの割合が男女ともに高くなっている。その為、急速な高齢化が進む日本において肺がん患者に対する早急な対策が社会的にも求められる疾患であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、非小細胞肺がん患者を対象として、初回治療より免疫チェックポイント阻害剤投与を行う患者の治療開始前後で、腸内細菌叢の構成に何らかの変化があるのか、また、その変化が治療前の抗生物質、食習慣、生活習慣、BMI、体組成などと関連があるかを明らかにすることで、日本人肺がん患者における、がん免疫チェックポイント療法感受性を高めるための腸内細菌構成群を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

対象者：初回治療で免疫チェックポイント阻害剤（ペンブロリズマブ）投与の適応があるPD-L1発現TPS50%以上の患者より、文章による同意が得られた患者を対象とした。

比較対照群は、N市在住の自立した健康な高齢者を対象とした（がんの既往歴のある方は除外した）。

調査内容：身体計測、体組成分析、血液生化学検査、治療効果や有害事象の評価、食事・生活習慣調査、腸内細菌調査（16SrRNA）の調査を行った。統計解析はSPSS Statistics 22を使用した。また、本研究は本学倫理委員会の承認後、参加者全員から文書にて同意を得て実施している。

4. 研究成果

治療効果判定は、腫瘍の完全消失CRはなかったため、腫瘍サイズ30%縮小のPRと腫瘍サイズ不変のSDを奏効群、腫瘍サイズ20%以上増加あるいは新病変が出現したPDを非奏効群とし解析を行った。奏効群(n=14)と非奏効群(n=9)の両群間において、年齢、BMI、喫煙年数において有意な差は認められなかった（表1）。

表1 奏効群と非奏効群の臨床指標の比較

	奏効群 中央値 (最小値-最大値)	非奏効群 中央値 (最小値-最大値)	p値
n	14	9	
年齢(歳)	74(63-85)	72(58-85)	0.930
身長(cm)	165.1 (139.6-177.0)	162.1 (143.0-174.9)	0.858
体重(kg)	60.6(35.3-76.0)	54.4(39.6-70.7)	0.424
BMI(kg/m ²)	22.3(16.0-26.4)	21.1(16.7-23.9)	0.245
喫煙歴(年)	43(0-61)	30.0(0-50.0)	0.359
BI (Brinkman Index)	788(0-1830)	800(0-1000)	0.177

また、治療開始前の奏効群、非奏効群の血液検査値では、非奏効群が奏効群に比し、Kの値(4.2(3.9-4.8) mEq/L, 3.8(3.4-4.3) mEq/L, p=0.005)が有意に低い値を示したが、Alb、TP、CRPなどの値では2群間に有意な差はみられなかった。

肺がん患者の腸内細菌α解析の結果から、奏効群の治療前の腸内細菌叢は非奏効群に比し、有意に高い多様性を示すことが明らかになった（図1）。また、治療中の多様性を治療開始前と比較した際、奏効群では治療開始前の多様性が維持されたが、非奏効群では、治療開始前より多様性が有意に低下した。このことから、治療開始前の腸内細菌の多様性を維持できていることが、免疫チェックポイント阻害剤治療において重要である可能性が見いだされた。

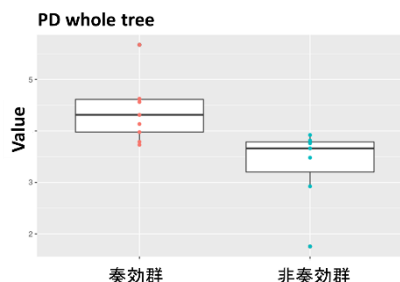


図1 奏効群と非奏効群の治療前腸内細菌叢の多様性の比較

菌種では、先行研究の悪性黒色腫患者の免疫チェックポイント治療効果について報告がある²⁾、奏効群が非奏効群に比べ高い割合を示す、*Ruminococcaceae* 科の割合が (Science. 2018 Jan 5;359(6371):97-103)、肺癌患者においても同様に、奏効群が非奏効群に比し、有意に高い割合を示すことが確認された (図 2)。

次に *Ruminococcaceae* 科の割合を中央値でカットオフ値とし、高値群、低値群の 2 群に分け、免疫チェックポイント治療後の 2 群間の生存期間に差があるか log-rank test により確認したところ、高値群で生存期間に有意な延伸が認められた (p=0.004)。このことから、*Ruminococcaceae* 科が長期予後に影響する可能性が示唆された。

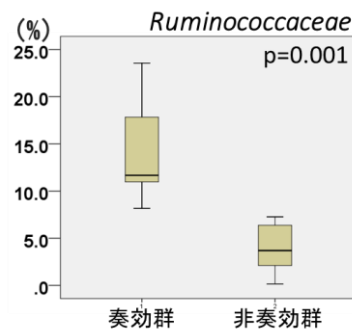


図 2 治療前 *Ruminococcaceae* 科の比較

また、入院前 1 ヶ月間の食事摂取頻度調査より、たんぱく質食品の摂取頻度において奏効群が非奏効群に比し、有意に高値を示し (16.8 (10-26)/11.2 (7-21) p=0.029)、*Ruminococcaceae* 科と食事摂取頻度との相関関係を解析したところ、たんぱく質食品との間に有意な正の相関関係が見られた (0.487, p=0.049)。しかし、悪性黒色腫患者の免疫療法の際に治療効果と関連が示唆されている (Science. 2021 Dec 24;374(6575))³⁾、食物繊維との関連について (野菜、キノコ・海藻、豆類)、今回は確認されなかった。

以上の結果より、肺癌患者の免疫チェックポイント阻害剤による治療効果に、治療開始前の腸内細菌叢の多様性と *Ruminococcaceae* 科の割合が関連する可能性が示唆された。今後、治療効果と腸内細菌叢の多様性を食事調査により食品の摂取量の調査、食習慣を関連付けて、さらに詳細な解析が必要である。

次に、肺癌患者の罹患割合が、高齢者で高いことに着目し、血中ビタミン D 濃度と一塩基多型の関連について解析を行った。当研究室ではこれまでに、高齢女性の血中ビタミン D 濃度が日本の基準値に比べ、不足群と欠乏群を併せ 8 割以上と大幅に下回っていること (正常群 (≥ 30.0 ng/ml) 13.5%、不足群 57.4% (20-29.9 ng/ml)、欠乏群 29.1% (≤ 19.9 ng/ml))、また血中ビタミン D 濃度を規定する因子として血中亜鉛濃度が、血中ビタミン D 濃度と独立した規定因子であることを確認している。また、がんと血中ビタミン D 濃度の関連は数多く報告されており、日本の「JPHC 研究」等では血中ビタミン D 濃度が高いとがんリスクが低下すること (BMJ, 2018 Mar 7;360:k671)⁴⁾ や、Cusuto ら⁵⁾ が肺癌免疫チェックポイント治療でニボルマブ血中濃度がビタミン D 代謝経路関連の遺伝子 (一塩基多型: SNP) のビタミン D 結合タンパク質 VDBP 遺伝子型に影響を受けることが報告されている。そこで、高齢者における、ビタミン D 代謝経路関連遺伝子の SNP に着目し、自立した生活が行える、在宅一人暮らし女性高齢者 148 名 (年齢 78.0 ± 6.0、BMI (kg/m²) 22.5 ± 3.2、血中ビタミン D 濃度 23.4 ± 5.4 ng/ml) を対象に、ビタミン D 代謝経路関連遺伝子 (CYP27B1, CYP24A1, VDR, VDBP) および亜鉛トランスポーター遺伝子 (SLC30A3, SLC39A8, SLC39A14) に関わる SNP 遺伝子で解析を行った。

結果、ニボルマブ血中濃度と関連が報告されている VDBP 遺伝子型 c アリル群の血中ビタミン D 濃度低値群において、有意な関連が確認出来た。また、亜鉛濃度との間に有意な関連が確認出来た SLD30A3 において血中ビタミン D 濃度低値群では、負の相関関係が確認された。今後、ランダム化比較試験 (RCT) によるビタミン D や亜鉛投与などの介入研究による確認を行いたい。

また今回の研究では、女性高齢者において、有意な関係が示されたが n 数が少ないこと、男性高齢者が含まれていない、また肺癌患者の SNP 遺伝子解析が行えていない事、食事調査での微量栄養素摂取まで調査を行っていないため今後より詳細な調査が必要である。

引用文献

- 1) 厚生労働省 平成 29 年 (2017 年) 「人口動態統計」
- 2) Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*. 2018 Jan 5;359(6371):97-103.
- 3) Christine N Spencer et al, Dietary fiber and probiotics influence the gut microbiome and melanoma immunotherapy response. *Science*. 2021 Dec 24;374(6575):1632-1640.

- 4) Budhathoki S, Hidaka A, Yamaji T, Sawada N, Tanaka-Mizuno S, Kuchiba A, Charvat H, Goto A, Kojima S, Sudo N, Shimazu T, Sasazuki S, Inoue M, Tsugane S, Iwasaki M, Japan Public Health Center-based Prospective Study Group. Plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and subsequent risk of total and site specific cancers in Japanese population: large case-cohort study within Japan Public Health Center-based Prospective Study cohort. *BMJ*. 2018; 360: k671.
- 5) Cusato J1, et al. Influence of Vitamin D in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Nivolumab. *Cancers (Basel)*. 2019;11(1). 125

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中郁恵、矢野幸洋、矢野めぐむ、森雅秀、中北蘭、真鍋悟、福尾恵介
2. 発表標題 非小細胞肺癌高齢患者におけるサルコペニアと栄養素摂取量との関係
3. 学会等名 第43 回日本臨床栄養学会総会・第42 回日本臨床栄養協会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中郁恵、矢野幸洋、矢野めぐむ、森雅秀、中北蘭、真鍋悟、福尾恵介
2. 発表標題 非小細胞肺癌患者の免疫チェックポイント阻害薬の治療効果と腸内細菌叢との関係に与える魚類摂取の影響
3. 学会等名 第42 回日本臨床栄養学会総会・第41 回日本臨床栄養協会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中郁恵、矢野幸洋、矢野めぐむ、森雅秀、中北蘭、村井一人、福尾恵介
2. 発表標題 非小細胞肺癌患者における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果と腸内細菌叢との関連
3. 学会等名 第41 回日本臨床栄養学会総会・第40 回日本臨床栄養協会総会
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
---------------------------	-----------------------	----

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