

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：87102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09188

研究課題名（和文）宿主内細菌叢間相互作用による肺癌悪性度獲得の機序解明と革新的治療への展開

研究課題名（英文）The diversity and specific composition of the oral and gut microbiota in lung cancer patients

研究代表者

庄司 文裕（Shoji, Fumihiro）

独立行政法人国立病院機構（九州がんセンター臨床研究センター）・その他部局等・呼吸器腫瘍科医長

研究者番号：90444851

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：肺癌症例（LC群）53例、炎症性肺疾患症例（LI群）11例、健常者（HC群）10例の口腔内及び腸内細菌叢を解析した。口腔内細菌叢ではLC群の多様性が有意に低かった。口腔内細菌叢及び腸内細菌叢においてHC群とLC群は明らかに相違な菌種群であった。LC群の口腔内細菌叢ではHC群と比較してBacilli class, Streptococcaceae family, Streptococcus genus, Firmicutes phylum and Lactobacillales orderが有意に多く認められた。また腸内細菌叢において6種類の口腔内関連細菌を認め、LC群にて有意に豊富に認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究にて肺癌症例の口腔内細菌叢は多様性が低下しており、また特定の菌種を同定することができた。本研究結果から口腔内細菌叢を利用した肺癌リスク判定や肺癌予防へとつながる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：This single-center, prospective observational study analyzed both saliva and feces from 74 participants (lung cancer patients: LC, n=53, lung inflammation patients: LI, n=11 and healthy control: HC, n=10). The alpha diversity of the oral microbiota was significantly lower in LC group than in HC group. The beta diversity of both oral and gut microbiota was significantly different among these group. Compositional differences in the oral microbiota were observed between the two groups; c_Bacilli, f_Streptococcaceae, g_Streptococcus, p_Firmicutes and o_Lactobacillales were more abundant. Significant abundance of total 6 oral-related microbiota were observed in the gut of LC group. Conclusions: This study revealed the oral microbiota in lung cancer patients is significantly different from that in healthy individuals and a significant lower diversity of oral microbiota in lung cancer patients. Specific oral microbiota compositions in lung cancer patients are apparent.

研究分野：呼吸器悪性腫瘍

キーワード：肺癌 口腔内細菌叢 腸内細菌叢 多様性 菌種

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々の体内には至る所に細菌が存在しており、こうした宿主内細菌叢は相互に作用することにより、菌種や多様性の変化をもたらす宿主免疫の一翼を担っていることが示唆されている。肺癌の主原因である喫煙や社会問題となっている大気汚染は口腔内あるいは肺内といった気道内細菌叢に悪影響を及ぼしていることは疑いようがなく、体内細菌叢の変化、最終的には宿主免疫の破綻・宿主内（特に肺内）炎症惹起に繋がり、肺発癌に至る可能性も考えられる。しかしながら肺癌と口腔から腸内に至る体内細菌叢に着目した研究は現在までなされていない。本研究では下記の項目について明らかにする。

日本人肺癌における口腔内・気管支内・肺内・腸内細菌叢の菌種・多様性を探索する。宿主内細菌叢と肺内炎症細胞及びサイトカイン発現、臨床病理学的因子、治療効果・予後との関連性を明らかにする。肺癌悪性度と宿主内細菌叢の相関性を探索し、肺癌における簡便且つ革新的なバイオマーカーとしての可能性を模索する。

2. 研究の目的

本研究では肺癌症例における宿主内（口腔内・気管支内・肺内・腸内）細菌叢の菌種・多様性・相互作用と肺癌悪性度獲得のメカニズム及び喫煙、肺炎症、宿主免疫栄養との関連性を解明し、肺癌における革新的バイオマーカーとしての可能性を模索、更に肺癌に対する新規治療への応用・展開に繋げることを目的とする。

3. 研究の方法

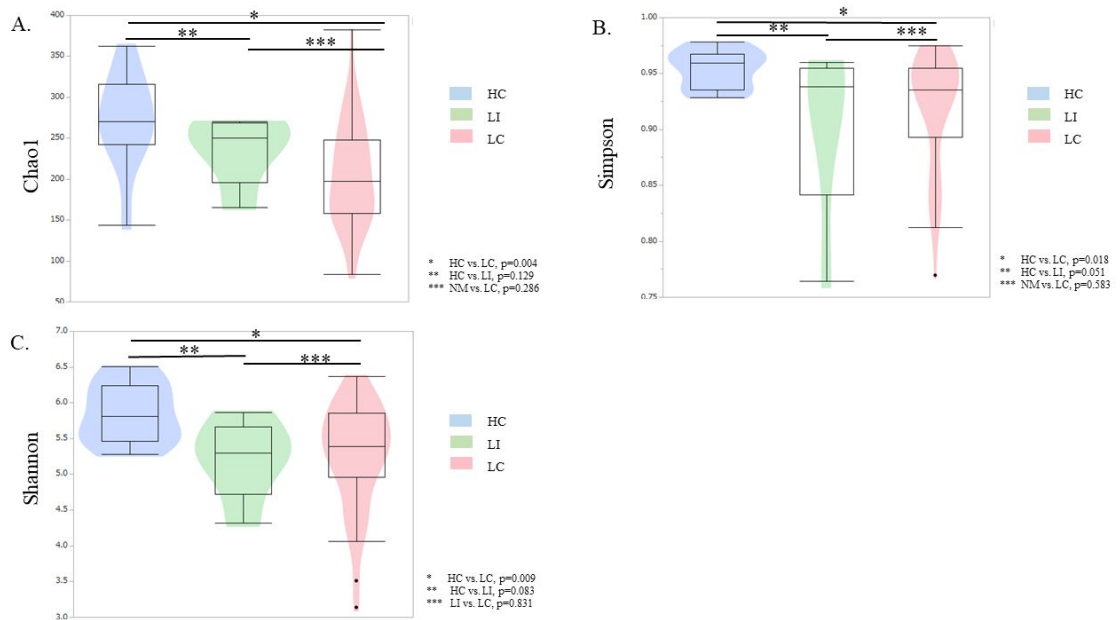
研究の方法：対象：肺癌（非小細胞肺癌及び小細胞肺癌）手術症例、方法：術前精査における気管支鏡検査時に責任気管支より洗浄液を採取、同時に唾液・血液及び糞便を採取、更に手術標本より癌部及び非癌部組織の一部を採取 評価：ニコチン・コチニン（唾液） PP 製の透明ディスクポータブルチューブに検体を分取、メタノール・内標準物質（ニコチン内標準物質としてニコチン-d3 及びコチニン内標準物質としてコチニン-d3）を添加 ミキサー攪拌後、遠心分離後上清を超純水希釈、高速液体クロマトグラフ 質量分析計にて測定、口腔内細菌叢（唾液）・気管支内細菌叢（気管支洗浄液）・腸内細菌叢（便）・肺組織内細菌叢（手術標本：癌部・非癌部） 唾液・気管支洗浄液・便・肺組織から DNA を抽出 それらを鋳型として 16SrRNA を Polymerase Chain Reaction (PCR) で増幅 得られた増幅断片を次世代シーケンスで解析することで細菌の構成を解析（次世代シーケンス装置：MiseqTM (Illumina) テクノスルガ社）、短鎖脂肪酸（酪酸、プロピオン酸、酢酸を測定）（便）：凍結破碎した便に超純水を添加、ミキサーを用いて攪拌後、遠心分離 PP 製の透明ディスクポータブルチューブに上清を分取し、メタノール及び内標準物質（酢酸の内標準物質として酢酸-d4、プロピオン酸及び酪酸の内標準物質としてプロピオン酸-d5）を添加 ミキサーを用いて攪拌後、上清に誘導体化試薬を添加 ミキサーを用いて攪拌後、高速液体クロマトグラフ質量分析計を用いて測定（高速液体クロマトグラフ質量分析：島津製作所・LCMS-8050（院内設置の質量分析器））、リンパ球(CD4/CD8)、マクロファージ、NK、Treg、炎症性サイトカイン（手術標本）肺組織（癌部及び非癌部）を採取し、-80℃にて保存 Flow cytometry を用いて、組織内リンパ球(CD4/CD8)、マクロファージ、NK、Treg、Th1、Th2、Th17 系の炎症性サイトカインを測定・定量化、

臨床病理学的因子； 臨床所見(喫煙 歴の詳細、年齢、性別、身長、体重、PS、手術前合併症、
 内服薬) 検査所見(採血検査：血算・生化学・腫瘍マーカー、免疫栄養指数、生理機能検査)
 治療(術式、術後経過、合併症の有無) 病理所見(組織型、PD-L1 発現) 腫瘍内遺伝子変異
 (EGFR,ALK,ROS-1,BRAF) 予後(無再発生存期間、全生存期間、再発形式)

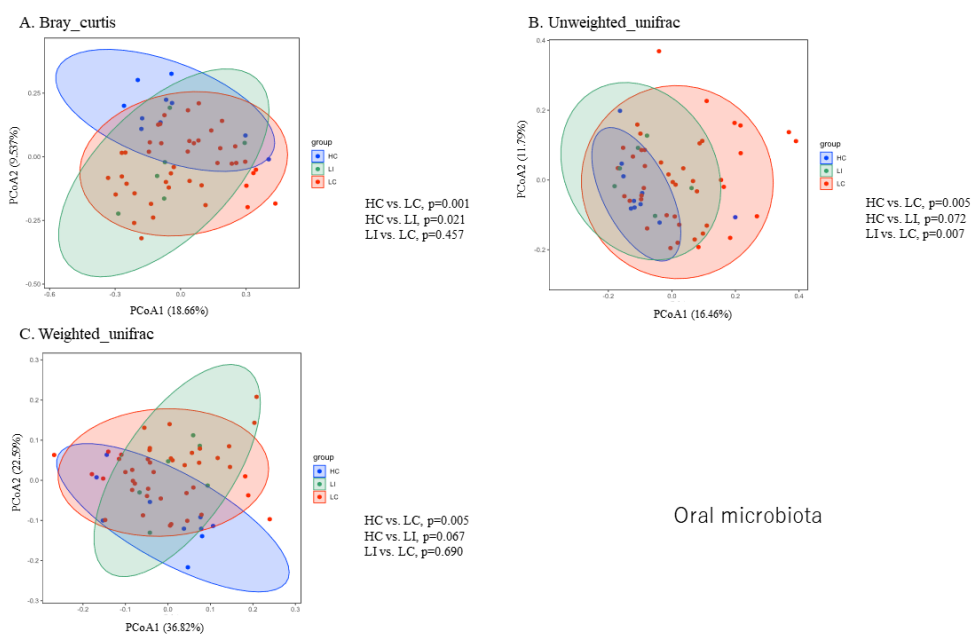
4. 研究成果

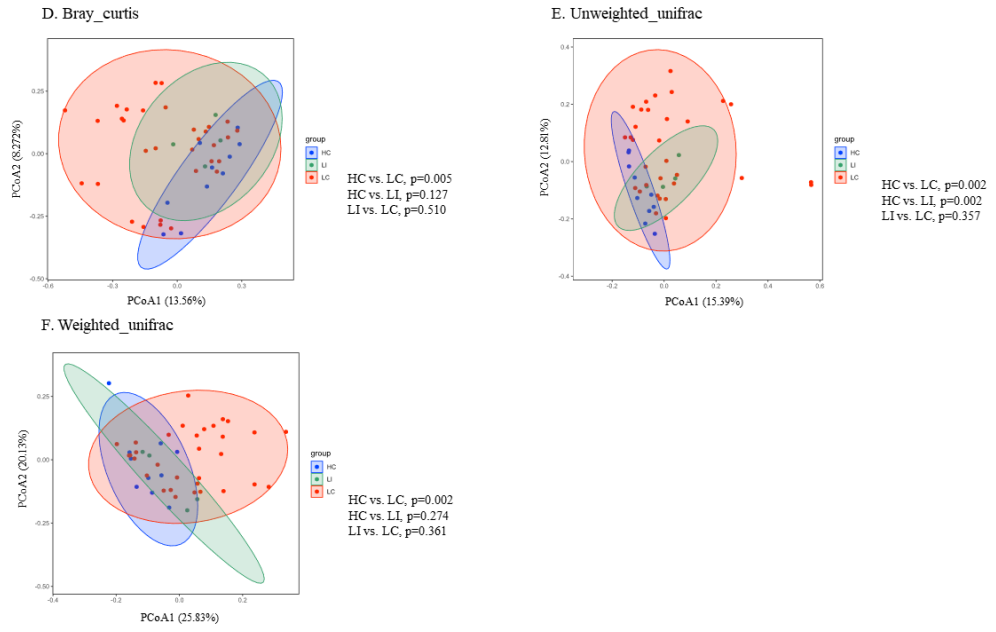
本研究にて以下のような研究成果を得た。

肺癌症例(LC群)53例、炎症性肺疾患症例(LI群)11例、健常者(HC群)10例の口腔
 内及び腸内細菌叢を解析した。口腔内細菌叢ではLC群のα多様性が有意に低かった(A-C)。

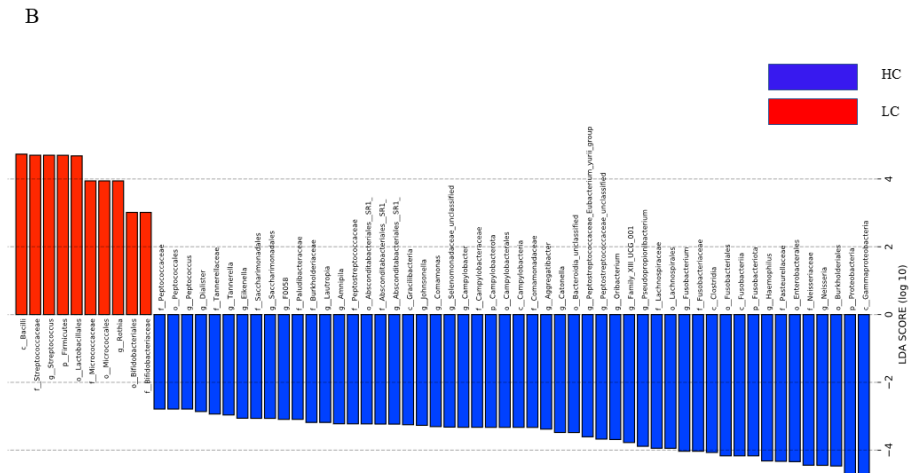


口腔内細菌叢(A-C)及び腸内細菌叢(D-F)においてHC群とLC群は明らかに相違な菌種群
 で あ っ た。



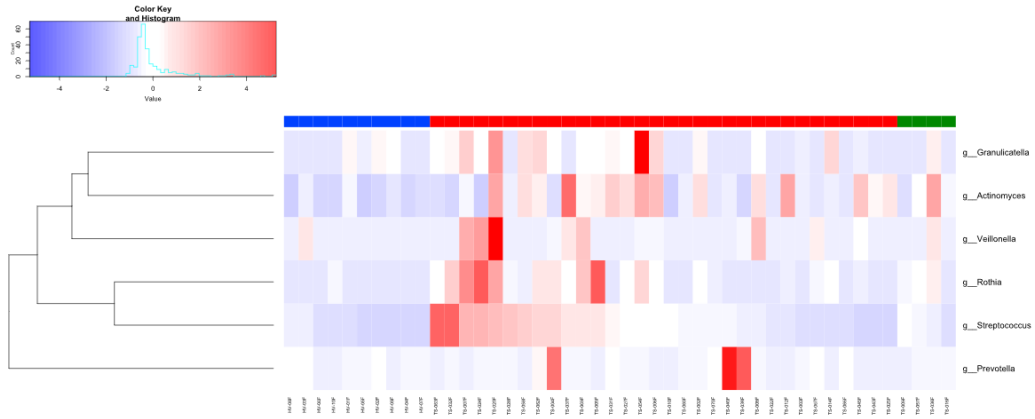


LC 群の口腔内細菌叢では HC 群と比較して Bacilli class, Streptococcaceae family, Streptococcus genus, Firmicutes phylum and Lactobacillales order が有意に多く認められた。

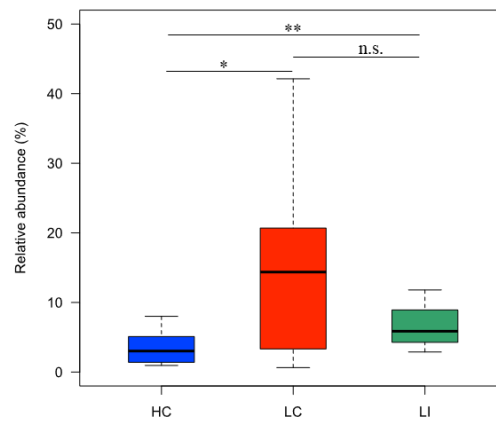


腸内細菌叢において6種類の口腔内関連細菌を認め(A)、LC群にて有意に豊富に認めた(B)。

A



B



【まとめ】

健常者と比較して肺癌患者の口腔内採位菌叢は α 多様性が有意に低かった。また肺癌患者と健常者の口腔内及び腸内細菌叢は明らかに異なる構成であった。口腔内由来の腸内細菌が 6 種類確認され、肺癌患者に有意に多く認められた。本成果により、口腔内及び腸内細菌叢研究は肺癌患者の早期発見や肺癌予防に繋がる可能性が示唆された。

5. 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〕

〔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	竹尾 貞徳 (Takeo Sadanori) (00416546)	独立行政法人国立病院機構九州医療センター(臨床研究センター)・その他部局等・統括診療部長 (87105)	
研究分担者	豊川 剛二 (Toyokawa Gouji) (30627261)	独立行政法人国立病院機構九州医療センター(臨床研究センター)・その他部局等・呼吸器外科医師 (87105)	
研究分担者	山崎 宏司 (Yamazaki koji) (60404068)	独立行政法人国立病院機構九州医療センター(臨床研究センター)・その他部局等・呼吸器外科科長 (87105)	

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