

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18713

研究課題名（和文）造血器腫瘍に対する化学療法による口腔粘膜炎と口腔細菌叢の関連

研究課題名（英文）Relationship between oral microbiota and chemotherapy-induced oral mucositis.

研究代表者

越智 文子（Ochi, Ayako）

大阪医科薬科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：40846903

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）：口腔細菌叢は、化学療法による重篤な局所的あるいは全身的な病状と関連している可能性がある。本研究は、造血器悪性腫瘍患者における化学療法開始前後の口腔細菌叢の変化を評価し、口腔粘膜炎に関連する口腔細菌叢の特徴を特定することを目的とした。化学療法開始後に口腔細菌叢が変化することを明らかにし、特定の細菌群の変化を特徴づけた。さらに化学療法開始後に口腔粘膜炎を発症した患者の口腔細菌叢は、化学療法開始前にも特徴的であり、化学療法開始前からの口腔管理の重要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

造血器悪性腫瘍患者における化学療法の開始に伴う口腔細菌叢の変化を特徴づけた。さらに、口腔粘膜炎に関連する口腔細菌叢の特徴を明らかにした。本研究の結果は、口腔粘膜炎のような化学療法に伴う有害事象の病態を理解するためには、口腔細菌叢に注目することが重要であり、造血器悪性腫瘍患者における化学療法開始前後の口腔細菌叢変化に着目した口腔管理の可能性を示唆するものである。これらの知見は、化学療法を受ける患者の有害事象の予測、予防、改善に大きく貢献するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Oral microbiota may be associated with serious local or systemic medical conditions resulting from chemotherapy. This study was conducted to evaluate the changes in the oral microbiota following the initiation of chemotherapy in patients with hematopoietic malignancies and to identify the characteristics of the oral microbiota associated with oral mucositis. We characterized the oral microbiota associated with the initiation of chemotherapy in patients with hematopoietic malignancies. In addition, our findings suggest that oral microbiota composition before the start of chemotherapy may be associated with oral mucositis. The results of this study emphasize the importance of oral management focusing on the oral microbiota during chemotherapy in patients with hematologic malignancies.

研究分野：口腔外科学

キーワード：口腔粘膜炎 口腔細菌叢 化学療法 造血器悪性腫瘍

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現代の日本では生涯で悪性腫瘍の罹患率はおよそ 50% (男性 62%、女性 47%)であり、増加傾向にある。悪性腫瘍に対しては、昨年導入された免疫療法など新たな治療法が模索され、手術や化学療法、放射線療法の技術も向上している。特に化学療法は、単体で行われるのみでなく手術前後での投与や放射線療法との併用がしばしば行われ、多くの患者が受ける治療である。しかしながら、化学療法は副作用として強い痛みを伴う口腔粘膜炎を生じることが多い。治療前から口腔ケアを行うことで口腔粘膜炎が軽減するといわれているが、そのメカニズムについて詳細な知見は少ない。口腔粘膜炎の原因としては化学療法による直接的な粘膜障害や、間接的な免疫抑制に伴う口腔内細菌感染、放射線療法による口腔内乾燥などが知られている。本研究は、口腔粘膜炎が起きやすい環境に関わる因子の一つとして、全身状態および口腔局所の状態によって変化すると考えられる口腔内細菌叢に着目した。

近年、次世代シーケンサーと生命情報解析技術の急速な進歩によって、微生物叢全体を網羅的に解析できるようになったことから、微生物叢が様々な全身状態と関連することが分かってきている。口腔内の微生物叢は、肥満や高齢者の誤嚥性肺炎などの全身の状態にかかわるという報告がある。一方、特定の口腔内細菌、たとえば *Porphyromonas gingivalis* が歯周病のみでなく、関節リウマチや膵臓癌といった全身疾患と関連することも明らかになってきた。口腔内には常在菌が存在することから、これまでの培養法や特定細菌に対する特異的評価法では検出できなかった微生物も含めてその構成を網羅的に評価することによって、新しい知見が得られることが予測される。口腔粘膜炎に特徴的な細菌叢を見いだすことができれば、そのバランスを人為的に変えることによって、口腔粘膜炎の改善あるいは治療につながる可能性があると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、造血器腫瘍患者の化学療法開始前後の口腔内細菌叢の変化と口腔粘膜炎の関連を検証することを目的とする。宿主の全身状態、免疫系や代謝系の変化に対して、口腔内細菌叢の構成は変化すると予測されることから、化学療法に伴い口腔内細菌叢が変化する可能性がある。治療前後の口腔内細菌叢を遺伝子レベルで網羅的に評価することによって、その関連を検証しようとする点が本研究の学術的な独自性である。造血器腫瘍患者の化学療法に伴う口腔粘膜炎の発症、増悪には局所の粘膜状態や、唾液の量や質といった要因の他に、細菌学的要因の関与が考えられている。本研究において、口腔細菌叢が口腔内に炎症を起こしやすい環境、さらに口腔粘膜炎の発症・増悪因子と関連することが明らかになれば、口腔粘膜炎の発症予測が可能となり、さらに予防治療につながる可能性があることから、創造性があるといえる。

3. 研究の方法

(1) 口腔サンプルの採取と口腔診査：対象者は、造血器腫瘍のうち、リンパ腫、白血病、骨髄腫の化学療法開始前に周術期口腔管理を目的に歯科口腔外科に紹介された患者のうち、全身疾患のない初めて化学療法を受ける患者とした。大阪医科薬科大学研究倫理委員会の承認(承認番号 2145)および、公立学校共済組合 中国中央病院倫理委員会の承認(承認番号 1905-02)のもと、十分な説明を行った上で口腔サンプルを採取し、口腔および全身状態の情報をカルテから得た。サンプル採取は、我々が以前に報告した含嗽法 (Omori M, *et al*, *Clin Oral Investig*.2021)にて、化学療法開始前と、開始後の 2 回行った。サンプル採取後、口腔診査を行った。口腔粘膜炎の状態は、Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) ver.4.0 に基づいて評価した。化学療法開始後にグレード 2 以上の口腔粘膜炎を生じた対象者は 57 人中 6 人だった。

(2) 口腔細菌叢の解析：口腔サンプルの 16S rRNA メタゲノム解析を行った。すなわち、細菌 DNA を抽出、16S rRNA 遺伝子 V1-V2 領域を PCR 増幅後、次世代シーケンサー (Miseq®: イルミナ社製) にて解析した。シーケンスデータを用いて、比較分析および線形判別分析効果量 (LEfSe) 解析により、化学療法開始前後および口腔粘膜炎を発症した患者における特徴的な細菌群を検索した。

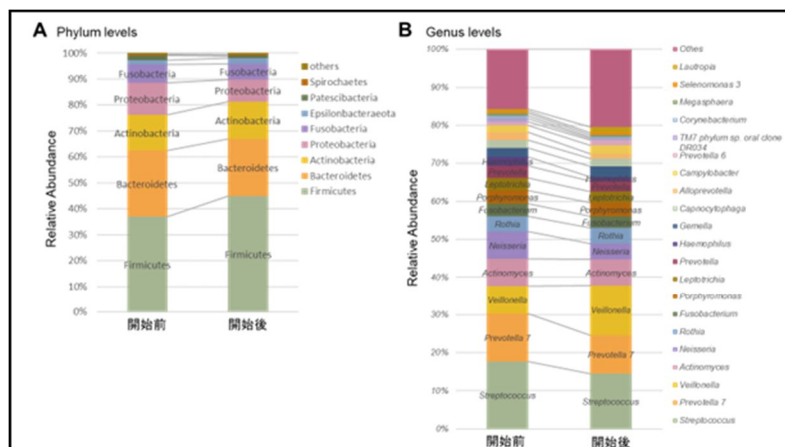


図1 化学療法開始前後の口腔細菌叢の構成。棒グラフは、細菌の門レベル (A) と属レベル (B) の相対的な相対存在比率を示す。

4. 研究成果

(1) 化学療法開始に伴う口腔細菌叢の変化

化学療法開始前後の口腔細菌叢の違い

口腔サンプルの細菌叢の化学療法開始前後の違いを図1に示す。 α 多様性の解析から、化学療法開始前群と比較して後群では、口腔細菌の豊富さや均等性が有意に低下していた(OTU 指数: $p < 0.001$, Shannon 指数: $p < 0.001$, 図2A)。 β 多様性を示す UniFrac 解析に基づく unweighted と weighted の UniFrac distance による PCoA は、個人差はあるものの、細菌叢は化学療法開始前群と後群間で異なることを示した。この違いは PERMANOVA で確認された(unweighted UniFrac distance: $p = 0.001$, weighted UniFrac distance: $p = 0.001$, 図2B, C)。

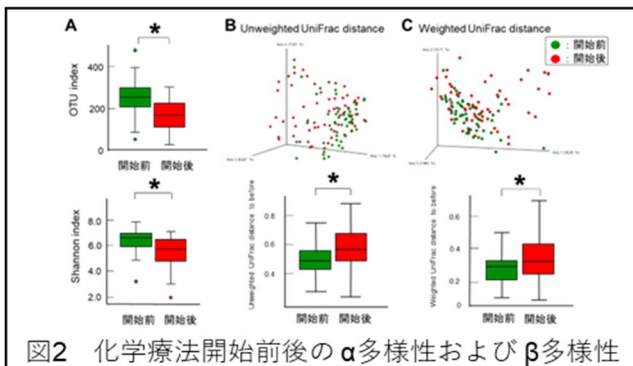


図2 化学療法開始前後の α 多様性および β 多様性

化学療法開始前後で存在比率の異なる口腔細菌

化学療法開始前後で存在比率の異なる口腔細菌を LefSe 解析によって同定した。属レベルでは、化学療法開始前群では *Streptococcus*, *Prevotella*, *Neisseria* などが多く、後群では *Staphylococcus* および *Rothia* などが多かった(図3)。これらの結果から、化学療法開始前後には口腔内に有意に異なる細菌群が存在することが明らかになった。

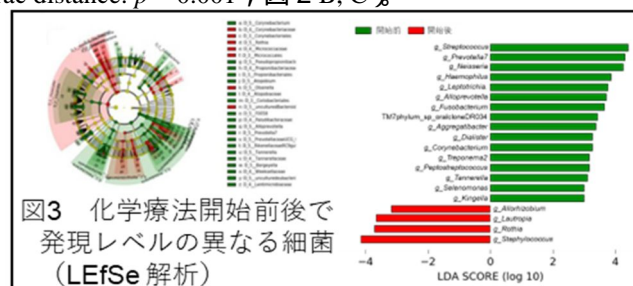


図3 化学療法開始前後で発現レベルの異なる細菌 (LefSe 解析)

化学療法開始前後の特定の細菌群の存在比率の変化

25 の細菌属が、化学療法の開始前後でその存在比率に有意な変化を示した (RM ANOVA 検定, $p < 0.01$)。 *Streptococcus*, *Neisseria*, *Fretibacterium*, *Kingella* などの一部の属は、多くの対象者で存在比率の減少を示した(図4A)。一部の対象者でしか検出されないが、化学療法開始後、存在比率が減少した細菌属 (*Filifactor*, *Aggregatibacter*, uncltured eubacteriumu E1-K9 など, 図4B) および、一部の対象者でしか検出されないが、化学療法開始後に有意に存在比率が増加した属 (*Staphylococcus* および *Pseudomonas* など, 図4C) の変化を確認した。

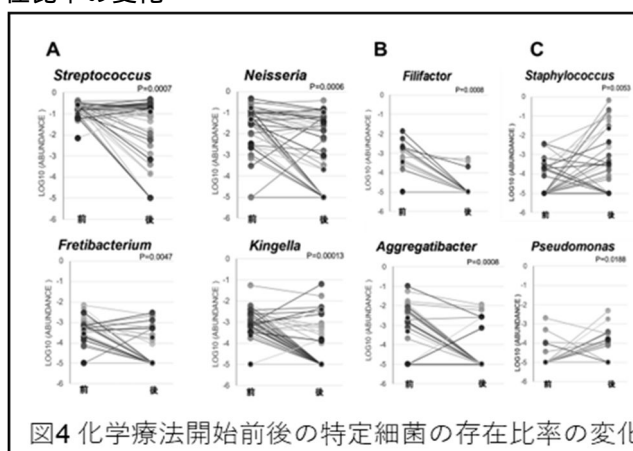


図4 化学療法開始前後の特定細菌の存在比率の変化

(2) 化学療法開始後に口腔粘膜炎を発症した患者の口腔細菌叢の特徴

化学療法開始後に口腔粘膜炎を発症した患者群 (OM) としなかった患者群 (NonOM) の間で、化学療法開始前と開始後のそれぞれにおける細菌組成を比較した。化学療法開始前後の細菌叢組成の変化は、OM 群と NonOM 群の間で違いはみられなかった。化学療法開始前には、OM 群は NonOM 群よりも OTU 指数が低かった ($p = 0.043$)。OM 群と NonOM 群の β 多様性も異なる傾向があった (unweighted UniFrac distance: $p = 0.052$, weighted UniFrac distance: $p = 0.088$)。一方、化学療法開始後は、OM 群と NonOM 群の間で口腔内細菌叢の組成に有意な違いはみられなかった。

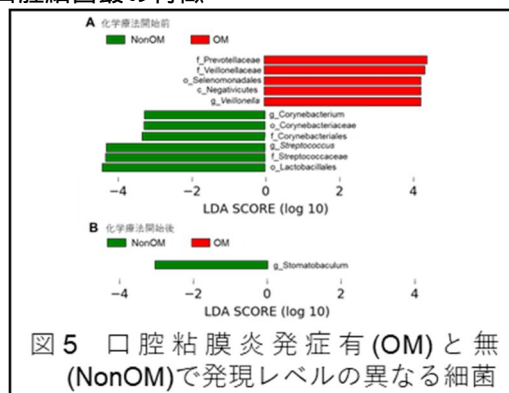


図5 口腔粘膜炎発症有(OM)と無(NonOM)で発現レベルの異なる細菌

LefSe 解析の結果、化学療法開始前、OM 群は NonOM 群に比べ、*Streptococcus* と *Corynebacterium* の存在比率が少なく、*Veillonella* が多かった(図5A)。化学療法開始後、NonOM 群では OM 群と比較して *Stomatobaculum* の存在比率が多かった(図5B)。

以上より、造血器悪性腫瘍患者における化学療法の開始に伴う口腔細菌叢の変化を特徴づけ、口腔粘膜炎に関連する口腔細菌叢の特徴を明らかにした。これらの知見は、化学療法を受ける患者の有害事象の予測、予防、改善に貢献するものと考えられる。

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 Omori Michi, Kato-Kogoe Nahoko, Sakaguchi Shoichi, Komori Eri, Inoue Kazuya, Yamamoto Kayoko, Hamada Wataru, Hayase Tomoyoshi, Tano Tomoyuki, Nakamura Shota, Nakano Takashi, Une Hidenori, Ueno Takaaki	4. 巻 22
2. 論文標題 Characterization of Oral Microbiota Following Chemotherapy in Patients With Hematopoietic Malignancies	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Integrative Cancer Therapies	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/15347354231159309	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木 慶, 小越 菜保子, 中野 旬之, 中島 世市郎, 植野 高章
2. 発表標題 口腔粘膜病モデルを用いたヒアルロン酸シートの口腔粘膜病治療効果の検討
3. 学会等名 日本老年歯科医学会集33回総会・学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大森 実知, 小越 菜保子, 古森 亜里, 濱田 渉, 早瀬 友克, 田野 智之, 宇根 秀則
2. 発表標題 造血器腫瘍患者の化学療法による口腔細菌叢の変化
3. 学会等名 第19回日本口腔ケア学会総会・学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今川尚子, 小越菜保子, 矢島美香, 成瀬麻衣子, 大田知果, 砂川葵, 西川美幸, 鈴木慶, 松本佳輔, 越智文子, 山本佳代子, 大森実知, 井上和也, 山本直典, 中島世市郎, 中野旬之, 植野高章.
2. 発表標題 産官学連携事業「健康寿命をのばす～たかつきモデル」の取り組み
3. 学会等名 第18回日本口腔ケア学会総会・学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大森実知, 小越菜保子, 福居希, 越智文子, 山本佳代子, 寺井陽彦, 早瀬友克, 田野智之, 宇根秀則, 植野高章.
2. 発表標題 造血管腫瘍患者の化学療法によるOral Microbiotaの変化に関するメタゲノム解析
3. 学会等名 第65回日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2020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
研究協力者	植野 高章 (Ueno Takaaki) (60252996)	大阪医科薬科大学・医学部 (34401)	
研究協力者	小越 菜保子 (Kato-Kogoe Nahoko) (60509115)	大阪医科薬科大学・医学部 (34401)	
研究協力者	大森 実知 (Omori Mich) (60803137)	大阪医科薬科大学・医学部 (34401)	
研究協力者	鈴木 慶 (Suzuki-Mishima Kei) (60999928)	大阪医科薬科大学・医学部 (34401)	

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