

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：37111

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659510

研究課題名(和文) 乳癌患者に特有な腸管細菌叢の分子疫学的解明

研究課題名(英文) Gut metagenome specific to breast cancer patients

研究代表者

高田 徹 (TAKATA, Tohru)

福岡大学・医学部・准教授

研究者番号：90268996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、乳癌と腸管細菌叢との関係を解明するため、分子生物学的手法を用いて初発乳癌患者と対照となる健常者の腸管細菌叢を網羅的に解析し、乳癌患者に特有な腸管細菌叢パターンを解明する事を目的とした。乳癌患者における登録および検体収集が予定通りに進まず、菌叢パターンの多様性自体が現段階では明らかにならなかった。交付された研究費は患者の便収集、菌叢遺伝子解析の解析等に使用する消耗品の購入にあてた。今後も本研究を継続する予定であり、新たに登録される患者検体の解析に使用する。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate the relationship between the breast cancer and microbiota in intestinal tract. To carry out analysis on gut microbial content in patients with breast cancer and healthy controls, fecal samples were obtained from volunteers. No conclusive data has been obtained so far because of small number of the registration.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・感染症内科学

キーワード：乳癌 腸管細菌叢

1. 研究開始当初の背景

- (1) 乳癌による死亡は毎年1万人におよび30歳代以上の女性の死因の最大原因の一つである。乳癌発癌のリスク因子としての食事内容については数多くの疫学的研究がなされており、高カロリー食や動物性飽和脂肪食の過剰摂取など食習慣との関連が知られている。しかし、その機序については依然不明な点が多い。
- (2) 腸管内には約100兆個の細菌が常在していることが知られている。我々は食習慣が腸管内の菌叢に影響を与え、その結果体内のホルモン環境などが変化し、乳癌の発癌に関与している可能性を考えた。
- (3) 近年の分子学的解析法の進歩により、腸管細菌叢の存在を網羅的に検出することが可能になった。腸管細菌叢の多くは、従来の培養法では検出されず、分子学的解析法により検出される細菌である。乳癌患者の腸管細菌叢を分子学的に解析し、健常者と比較検討することで、乳癌に比較的特有な腸管細菌叢の構成を解明し、乳癌と腸管細菌叢との関係の有無とを検索する着想に至った。

2. 研究の目的

- (1) 乳癌患者と同年代健常女性とを比較して乳癌患者に特異的な腸管細菌叢パターンを解明し、乳癌の病理組織型、エストロゲン/プロゲステロンのホルモンレセプターの有無、癌遺伝子であるホルモン関連遺伝子の発現の有無と腸管細菌叢パターンとの関連について探索すること。
- (2) 既知の乳癌発癌の各リスク因子の有無と腸管細菌叢パターンとの関連を解析すること。

3. 研究の方法

- (1) 30歳以上の乳癌初発女性患者並びに同年代の健常者女性の便からの培養法と、便の核酸を抽出し共通プライマーを用

いたPCR法によって16S rRNAを増幅後にクローンライブラリー法またはT-RFLP(terminal-restriction fragment length polymorphism)法、或いはメタゲノム法を用いた遺伝子解析により腸管細菌叢のパターンを比較検討する。

- (2) 乳癌患者の乳癌の組織型、乳癌組織におけるエストロゲンレセプターの発現、血中エストロゲンレベルと腸管内菌叢との関係を検討する。
- (3) 既知の乳癌のリスク因子(家族歴、食事や喫煙等の嗜好、初潮/閉経年齢、出産回数、初産年齢、肥満度、薬剤服用歴)に関するアンケート調査を行い、各因子と腸管細菌叢パターンとの関連を比較検討する。

4. 研究成果

- (1) 健常ボランティア3名から得られた便培養法による解析では、主たる構成細菌群はファーミキュテス(クロストリジウムや乳酸菌)が最優占菌群であり、その他はバクテロイデス、プロテオバクテリア(大腸菌等)、アクチノバクテリア(ビフィズス菌等を含む)等であった(表1)。

表1. 健常者の便より培養法によって検出された細菌の分布状況

菌のグループ	菌の割合 (%)
ファーミキュテス	
<i>Clostridium</i>	84 ± 12
その他	4 ± 2
バクテロイデス	6 ± 4
アクチノバクテリア	
<i>Bifidobacterium</i>	2 ± 2
その他	1 ± 1
プロテオバクテリア	3 ± 2

(2) 健常ボランティアから得られた便の16SrDNAクローンライブラリー法とT-RFLP法とを組み合わせ用いた解析では、ファーミキュテス、ファーミキュテス等が検出されたが、培養不能の細菌が過半数を占めた (表2)。

表2 健常者の便より16SrDNAクローンライブラリー法を用いた解析による菌種の比率

菌種または分類型	クローン (%)
ファーミキュテス	
<i>Clostridium</i>	13±5
<i>Faecalibacterium</i>	13±4
<i>Ruminococcus</i>	12±6
アクチノバクテリア	
<i>Bifidobacterium</i>	2±1
培養不能細菌	60±31

(3) 健常者の便のメタゲノム解析による占有率の比較では、バクテロイデスの比率が最も高く、次いでクロストリジウム、ルミノコックス等の順であった。

(4) 以上の様に培養法による解析と培養によらない遺伝子解析との間には乖離があり、培養の困難な菌が腸管内菌叢の多数を示すことが確認された。

(5) 研究期間中に乳癌患者からの便検体の収集が得られなかった。そのため、研究期間内に本研究の主たる対象となる健常者と乳癌患者の腸管内菌叢の比較検討や、病理組織型やエストロゲンと腸管内菌叢との解析を行えるまでには至らなかった。

(6) 交付された研究費は患者の便収集、菌叢遺伝子解析、病理標本の解析、アンケート調査等に使用する消耗品の購入に当てた。今後、申請研究期間終了後も本研究を継続する予定であり、新たに登録される患者検体の解析にこれらの購入した物品を使用する予定である。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等 無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高田 徹 (TAKATA, Tohru)
福岡大学・医学部・准教授
研究者番号：90268996

(2) 研究分担者

田村 和夫 (TAMURA, Kazuo)
研究者番号：60145422
福岡大学・医学部・教授

(3) 連携研究者

鍋島 一樹 (NABESHIMA, Kazuki)
研究者番号：40189189
福岡大学・医学部・教授