

氏名	川崎 裕香
(ふりがな)	(かわさき ゆか)
学位の種類	博士 (医学)
学位授与番号	甲 第 39 号
学位審査年月日	令和 5 年 1 月 11 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	Relationship between chemotherapy-induced diarrhea and intestinal microbiome composition  (化学療法に伴う下痢症と腸内細菌叢の関連)
論文審査委員	(主) 教授 藤阪 保仁 教授 中野 隆史 教授 李 相雄

## 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

### 《背景》

化学療法は、しばしば消化器毒性などの有害事象が問題となる。消化器毒性の中でも下痢症は発現頻度が高く、下痢症により化学療法を中止せざるを得ない患者では、がん疾患の予後が不良となるため、臨床の場において重要な課題となっている。

フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬は消化器癌に対する化学療法のキードラッグであるが、下痢症が発生しやすい。フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬はチミジル酸合成阻害により抗腫瘍効果を発揮し、腸上皮細胞を同時に傷害するため下痢症をきたす。一方、腸上皮細胞が傷害されると腸内細菌叢の多様性が減少し、dysbiosis をきたす。近年、マウス 5-FU 起因性腸炎モデルにおいて、dysbiosis が腸粘膜傷害をさらに増悪させる要因であることが報告された。すなわち 5-FU に伴う dysbiosis が二次的に腸粘膜傷害を増悪させ、下痢症を悪化させ

ると考えられている。しかしながら、ヒトにおいて化学療法に伴う腸内細菌叢の変化を検討した報告はほとんどなく、dysbiosis と下痢症との関係性については明らかとなっていない。

#### 《目的》

フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬を含む化学療法に伴う下痢症と、腸内細菌叢との関連を検討する。

#### 《方法と対象》

2018年12月～2020年3月までに大阪医科薬科大学病院で大腸癌に対する1st lineの化学療法としてフッ化ピリミジン系抗腫瘍薬を含む化学療法を施行した患者を対象とし、前向き観察研究を行った。化学療法開始前と1サイクル終了後に血液検査、便中カルプロテクチンおよび腸内細菌叢の解析を行った。化学療法1サイクル終了時までには下痢を認めた症例を下痢群、下痢のない症例を非下痢群とした。尚、除外基準を、化学療法開始3週間前から1コース目終了後までの抗生物質の使用、および、経口プロバイオティクスの開始または変更とした。

フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬のレジメンとして、SOX療法（S-1+Oxaliplatin）、Capecitabine単剤療法、CAPOX療法（Capecitabine+Oxaliplatin）、FOLFOX療法（Fuorouracil + Folinic acid + Oxaliplatin）による化学療法を行った。一部の患者には分子標的薬:ベバシズマブもしくはパニツムマブを併用した。

フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬を経口投与した群と経静脈投与した群に分け、腸内細菌叢の解析を行った。細菌叢の解析は、次世代シーケンサーを用いた網羅的16S rRNAシーケンシングにより行った。さらにPICRUST解析を用いて、16S rRNA遺伝子ベースの微生物構成から細菌遺伝子の機能を予測した。

#### 《結果》

患者は23名、年齢中央値は62歳であった。化学療法の内訳は、SOX療法3例、Capecitabine単剤療法2例、CAPOX療法14例、FOLFOX療法4例であった。フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬は19例で経口投与され、4例は経静脈投与であった。消化器毒性が

発生したのは7例(30.4%)であり、下痢が4例(17.4%)、悪心、食欲不振が3例(13.0%)であった。フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬経口投与群では、下痢が3例(15.8%)、悪心、食欲不振が3例(15.8%)であった。経静脈投与群では、下痢1例のみ(25%)であった。

#### ① フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬 経口投与群

##### a. 化学療法前の腸内細菌叢の比較

化学療法開始前の患者における、個々の腸内細菌叢により下痢症の発生に差があるのか検討した。下痢群、非下痢群における化学療法前の腸内細菌群を比較したところ、 $\alpha$  および  $\beta$  多様性に有意な差は認めなかった。また門レベルでも腸内細菌叢に有意な差は認めなかったが、属レベルでは下痢群において *Ruminococcus* 属が有意に少なく、*Phascolarctobacterium* 属が有意に多かった ( $p=0.041, 0.012$ )。しかしこれらの占有率は5%未満と低く、化学療法開始前の患者における個々の腸内細菌叢の影響は少ないと考えられた。

##### b. 化学療法前後の腸内細菌叢の比較

フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬経口投与群において化学療法投与前後の腸内細菌を比較した。化学療法により下痢群および非下痢群ともに  $\alpha$  および  $\beta$  多様性に有意な変化は認めなかった。下痢群では、門レベルにて Firmicutes 門が有意に減少、Bacteroidetes 門が有意に増加 ( $p=0.013, 0.011$ ) し、属レベルにて *Bifidobacterium* 属が有意に減少した ( $p=0.019$ )。非下痢群では、門レベルにて Actinobacteria 門が有意に増加し ( $p=0.011$ )、属レベルでは *Bifidobacterium* 属、*Fusicatenibactar* 属、*Dorea* 属が有意に増加した ( $p=0.006, 0.019, 0.011$ )。

血液学的所見で CRP、ALB、HGB 及び、腸管の炎症度を反映する便中カルプロテクチンは、下痢群、非下痢群ともに有意な変化を認めなかった。

##### c. 腸内細菌叢の遺伝子機能解析

PICRUSt 解析を用いて、腸内細菌叢の有する機能遺伝子の変化を解析したところ、KEGG pathway level 2 では下痢群にて膜輸送能が有意に低下していた。一方、非下痢群

においては有意な変化を認めなかった。

## ② フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬 経静脈投与群

### a. 化学療法前後の腸内細菌叢の比較

フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬経静脈投与群において化学療法前後の腸内細菌叢を比較したが、門レベル、属レベルのいずれにおいても両群で有意な菌叢変化を認めなかった。

#### 《考察》

本研究では、ヒトにおいて大腸癌に対するフッ化ピリミジン系抗腫瘍薬を含む化学療法に伴う下痢症と、腸内細菌叢の関連を検討した。化学療法後の腸内細菌叢は、下痢群において門レベルでは Firmicutes 門が減少、Bacteroidetes 門が増加し、属レベルでは *Bifidobacterium* 属が減少していた。この変化は、マウスにおける 5-FU 起因性腸粘膜傷害の菌叢変化と同様の結果であり、ヒトにおいてもマウスと同様に化学療法によって起こる dysbiosis が下痢を増悪させる可能性が示唆された。

興味深いことに、下痢群では化学療法後に *Bifidobacterium* 属が減少していたが、非下痢群では増加しており、5-FU によって *Bifidobacterium* 属の割合が変化したことが下痢症と関連している可能性がある。また非下痢群では化学療法により *Fusicatenibacter* 属も有意に増加したが、*Bifidobacterium* 属、*Fusicatenibacter* 属は有機酸産生菌であり、化学療法に伴う下痢症の発生に有機酸が関連していることが示唆された。

腸内細菌叢の機能遺伝子を解析したところ、下痢群では化学療法後に膜輸送能が有意に低下していた。機序不明であるが、細菌の膜輸送能が低下すると、腸管における水分吸収能の低下に繋がり、下痢を起こす可能性が示唆された。

結論として、フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬を含む化学療法に伴う下痢症に、腸内細菌叢の変化、特に有機酸産生菌の関与が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

化学療法に伴う下痢症は発現頻度が高く、疾患予後の悪化にも繋がるため、その克服は临床上重要な課題である。化学療法に伴う下痢症の発症機序をマウス 5-FU 起因性腸炎モデルにて検討した報告では、5-FU による腸粘膜の直接傷害の他に、*dysbiosis* が 2 次的に腸粘膜傷害を悪化させていることが示唆された。しかし、ヒトにおける化学療法に伴う下痢症と腸内細菌叢との関連性は明らかではない。申請者は、大腸癌に対してフッ化ピリミジン系抗腫瘍薬による治療を受けた患者を対象に前向き観察研究を行い、化学療法による下痢症と腸内細菌叢との変化を検討した。

結果として、化学療法前の腸内細菌叢は下痢群と非下痢群においてほとんど差を認めず、患者個々の腸内細菌叢は下痢の発生と関連がないと考えられた。一方で、化学療法後に下痢群では *Bifidobacterium* 属が減少していたが、非下痢群では逆に増加していた。*Bifidobacterium* 属は有機酸産生菌であり、マウス 5-FU 起因性腸炎モデルに本菌を経口投与することで腸粘膜傷害を抑制することが報告されている。本研究において、化学療法に伴う有機酸産生菌の変化が、下痢症の発生に関連している可能性が示唆された。さらに、PICRUS<sub>t</sub> 解析にて腸内細菌叢の機能遺伝子の変化を検討したところ、化学療法後に下痢群では細菌の膜輸送能が有意に低下しており、機序は不明であるが、下痢発症との関連が示唆された。

本研究により、フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬を含めた化学療法に伴う下痢症に、腸内細菌叢の変化が関連していることが明らかとなった。本研究で得られた知見により化学療法に伴う下痢症の予防・治療にプロバイオティクスが有用である可能性が示唆されるなど、今後の化学療法の有害事象対策の向上に資する研究であり、医学の発展に寄与するところ大である。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌) *Digestion* 2022, in press

