

原 著

腎癌および尿路上皮癌患者における バイオマーカー探索のための腸内細菌叢の研究

昭和大学医学部泌尿器科学講座

下山 英明* 直江 道夫 ネパールサトプラサド
平松 綾 松井 祐輝 鷗木 勉
中里 武彦 押野見和彦 森田 順
前田 佳子 富士 幸蔵 小川 良雄

昭和大学医学部内科学講座（腫瘍内科学部門）

角田 卓也

昭和大学臨床薬理研究所臨床免疫腫瘍学講座

吉村 清

抄録：昨今、腸内細菌叢とさまざまな疾患との関連についての研究が世界中で盛んに行われており、新たな知見が次々と判明してきている。腸内細菌と疾患の発症、予防との関連、投与される薬剤の効果との関連など今後も広範囲にわたって解析と検討が進むと考えられる。今回われわれは、腎癌、尿路上皮癌患者の糞便を採取し癌腫、転移の有無別、また癌患者予後予測因子となりうるものが報告されている好中球リンパ球比（neutrophil to lymphocyte ratio：NLR）や血小板リンパ球比（platelet to lymphocyte ratio：PLR）の値によって腸内細菌叢の構成に違いがあるかを検討した。2018年4月から2018年9月の間に昭和大学病院泌尿器科で病理学的に診断された腎癌、尿路上皮癌患者計54人を対象とした。腸内細菌叢の解析は16SリボソームRNA遺伝子の解析によって行った。腎癌と尿路上皮癌の比較では *Clostridiaceae* ($P = 0.0186$)、*Verrucomicrobiaceae* ($P = 0.01$) で有意差を認めた。上部尿路上皮癌と膀胱癌の比較では、*Proteobacteria* ($P = 0.0186$)、*Lachnospiraceae* ($P = 0.0367$) で有意差を認めた。腎癌の転移有無別では有意差は認めなかったが *Prevotellaceae* が転移なし群で多い傾向 ($P = 0.0738$) にあった。尿路上皮癌の転移有無別の比較では *Peptostreptococcaceae* ($P = 0.0309$) で有意差を認めた。NLR ≥ 3 と NLR < 3 の比較では有意差を認めなかったが PLR ≥ 210 と PLR < 210 の比較では *Rikenellaceae* ($P = 0.0475$)、*Veillonellaceae* ($P = 0.0345$) で有意差を認めた。また転移性腎癌、転移性尿路上皮癌は非転移性癌と比較すると腸内細菌の多様性が乏しかった。今回の検討で癌種別、転移有無別、PLR 値により腸内細菌叢の違いを認めたがこれは疾患の特徴や免疫状態と腸内細菌との関連を表している可能性がある。これらの疾患の発症予防、治療ターゲットなどとして腸内細菌が有用である可能性があり、今後の更なる研究の蓄積が必要である。

キーワード：腸内細菌叢、腎癌、尿路上皮癌、好中球リンパ球比、血小板リンパ球比

緒 言

ヒトの腸内には60兆個といわれるヒトの細胞数よりも多い約1,000種類の細菌が100兆個生息すると言われている¹⁾。これらは腸内細菌叢あるいは腸内フローラと呼ばれ一定のバランスを保ちつつ宿主と相

互作用している。昨今、腸内細菌叢とさまざまな疾患との関連についての研究が世界中で盛んに行われている。従来、腸内細菌叢の解析は培養法によって行われてきたが、腸内細菌の多くは難培養菌であることが問題であった^{1,2)}。しかし近年では、次世代シーケンサーの導入によって腸内細菌叢の解析が

*責任著者

短時間で膨大な情報を得ることが可能となり、培養に依存しない 16S リボソーム RNA を利用したメタ 16S 解析が今日最も汎用されている解析法である。腸内細菌の解析で明らかとなってきた例として、腸内細菌叢の細菌種の構成の異常である「dysbiosis」が炎症性腸疾患、肥満、糖尿病、がん、動脈硬化、自閉症などさまざまな疾患発症における感受性と密接に結びついていることが挙げられる³⁾。さらにがんなどの疾患発症との関連のみならず投与される薬剤との関連も報告されている。すなわち免疫チェックポイント阻害薬の効果予測因子としての報告である^{4,5)}。泌尿器科領域においても腎癌、尿路上皮癌に対して免疫チェックポイント阻害薬が使用されるようになり、今後免疫治療への期待は大きい。しかし、現在のところ、腎癌、尿路上皮癌における腸内細菌叢の特徴やまた免疫能との関連についての報告はほとんどない。今回、われわれは腎癌、尿路上皮癌において癌腫別、転移有無別で腸内細菌叢に違いがあるか、NLR、PLR⁶⁻⁸⁾と腸内細菌叢に関連があるか基礎的、探索的な検討を行った。

研究方法

昭和大学病院泌尿器科で 2018 年 4 月から 2018 年 9 月までの間に手術、薬物療法、放射線治療を開始した、または既に行っている腎癌、尿路上皮癌を対象として糞便採取を行った。対象症例数は検体の得られた 68 例のうち、検体採取 14 日以内の抗菌薬治療、分子標的治療薬投与歴のあった 8 症例、対象癌の病理学的診断が得られなかった 5 症例、活動性他臓器癌合併 1 症例を除いた 54 例とした。NLR や PLR は糞便採取日の前後 35 日以内のデータを使用した。またこれらの血液データに影響を及ぼすと考えられるステロイド剤使用例や血液疾患を有する患者は電子カルテで確認できる限りでは含まれていない。

癌の診断は組織診断を基本としている。腎癌の組織型は 13 例のうち 11 例が淡明細胞癌、1 例が乳頭状腎癌、1 例が嫌色素性腎癌であった。尿路上皮癌は 41 例中 38 例で組織学的に尿路上皮癌と診断され 3 例は画像検査上、腫瘍の存在が明らかでかつ尿細胞診 Class V であり尿路上皮癌が強く示唆される。糞便採取は採便キット（株式会社テクノスルガ・ラボ製、採便キットブラシ型）を患者に配布し、得られた糞便から腸内細菌叢の 16S リボソーム RNA 遺伝子

の解析によって行った。採便キット溶液から菌体細胞を遠心分離によって集菌し、細菌ゲノムを精製した後、次世代シーケンサー（MiSeq, Illumina 社）で推奨のプライマーを使用し細菌ゲノムの 16S リボソーム RNA 遺伝子配列の V3-V4 領域を PCR (polymerase chain reaction) 増幅した後にペアエンド配列解析を行った。得られた配列データに基づき OTUs (operational taxonomic units) を作成し、その代表配列の相同性から菌叢解析のオープンソースソフトウェアである QIIME (Quantitative Insights in Microbial Ecology) を用いて系統解析を行った⁹⁻¹¹⁾。NLR と PLR、転移有無と NLR、転移有無と PLR の相関について Spearman の順位相関係数を用いて、転移有無別の NLR、転移有無別の PLR について Mann-Whitney U 検定を用いて検討した。腎癌と尿路上皮癌、上部尿路上皮癌（腎盂癌、尿管癌）と膀胱癌（上部尿路上皮癌と膀胱癌を合併している場合は上部尿路上皮癌群とした）、腎癌の転移有無別、尿路上皮癌の転移有無別、NLR ≥ 3 と NLR < 3 、PLR ≥ 210 と PLR < 210 での腸内細菌叢の比較を行った。NLR、PLR のカットオフ値は Lolli ら⁶⁾ の報告に倣い、それぞれ 3、210 とした。2 群間の比較は Mann-Whitney U 検定を行い、 $p < 0.05$ を統計学的有意差ありとした。また細菌叢間の α 多様性 (Phylogenetic diversity whole tree : PD whole tree) および β 多様性は UniFrac 距離に基づく主座標分析 (Principal Coordinate Analysis : PCoA) によって視覚化を行った。本研究は昭和大学医学部の人を対象とする研究などに関する倫理委員会で承認されている (承認番号 2512)。

結果

患者背景を表 1 に示す。NLR と PLR ($r = 0.635$, $P < 0.05$)、転移有無と NLR ($r = 0.381$, $P = 0.00451$)、PLR ($r = 0.295$, $P = 0.0304$) には相関が認められた (図 1A, B, C)。転移有無別の NLR と PLR もともに転移有り群が有意に高い値となった (それぞれ $P = 0.00573$, $P = 0.0326$) (図 1D, E)。また収集した全検体の門レベルでの OTUs を図 2 に示す。ただしこれは解析対象から除外した症例も含んでいる。腎癌と尿路上皮癌、腎癌の転移有無別、尿路上皮癌の転移有無別、NLR ≥ 3 と NLR < 3 、PLR ≥ 210 と PLR < 210 での群別の細菌叢を科レベルで図 3 に

表 1 患者背景

男 vs 女 (人)	42 (77.8%) vs 12 (22.2%)
平均年齢 (歳)	71.5 (範囲 42 ~ 90)
腎癌 vs 尿路上皮癌 (人)	13 (24.1%) vs 41 (75.9%)
腎癌転移なし vs 転移あり (人)	8 (61.5%) vs 5 (38.5%)
尿路上皮癌転移なし vs 転移あり (人)	27 (65.9%) vs 14 (34.1%)
NLR \geq 3 vs NLR < 3 (人)	13 (24.1%) vs 41 (75.9%)
PLR \geq 210 vs PLR < 210 (人)	12 (22.2%) vs 42 (77.8%)

示す。それぞれの群別で OTU の relative abundance の差が 1% 以上もしくは比が 2 以上となる OTU で統計学的有意差があるかを Mann-Whitney U 検定を行った。ただし比較する二つの群でいずれも relative abundance が 1% 以下の場合には除外した。腎癌と尿路上皮癌では *Clostridiaceae* ($P = 0.0186$), *Verrucomicrobiaceae* ($P = 0.01$) で有意差を認めた (図 4)。上部尿路上皮癌と膀胱癌の比較では, *Prevotellaceae* ($P = 0.0186$), *Lachnospiraceae* ($P = 0.0367$) で有意差を認めた (図 5)。腎癌の転移有無別では統計学的有意差はなかったが, *Prevotellaceae* が転移なし群で多い傾向 ($P = 0.0738$) にあった。尿路上皮癌の転移有無別では *Peptostreptococcaceae* ($P = 0.0309$) で有意差を認めた (図 6)。NLR \geq 3 と NLR < 3 の比較では有意差を認めなかった。PLR \geq 210 と PLR < 210 の比較では *Rikenellaceae* ($P = 0.0475$), *Veillonellaceae* ($P = 0.0345$) で有意差を認めた (図 7)。細菌叢の系統学的多様性の指標である PD whole tree の結果を図 8 に示す。腎癌と尿路上皮癌, NLR \geq 3 と NLR < 3, PLR \geq 210 と PLR < 210 では多様性の違いが見られないが (図 8A, B, C) 腎癌の転移有無別, 尿路上皮癌の転移有無別では多様性に違いがみられ (図 8D, E) いずれも転移有り群では多様性が乏しいことを示している。図 9 は β 多様性を比較するための Weighted-UniFrac 解析 (菌種とその量を加味した解析) による PCoA の 3D プロットである。腎癌, 尿路上皮癌の転移有無別においてはともに転移なし群の方がプロットが分散している。

考 察

ヒトの腸内細菌は *Bacteroidetes* 門, *Firmicutes* 門, *Actinobacteria* 門, *Proteobacteria* 門で大部分を占めるが^{1,12,13}, 個人差も大きい。Pal ら¹⁴) は vascular

endothelial growth factor-tyrosine kinase inhibitors (VEGF-TKI) による治療を受けている転移性腎癌患者の腸内細菌叢について報告している。その中で門レベルで最も優勢なものは *Bacteroidetes* 門 (67.91%) で *Firmicutes* 門 (26.2%), *Proteobacteria* 門 (2.04%), *Actinobacteria* 門 (0.08%) であった。われわれの転移性腎癌のデータでは門レベルでは上位から *Bacteroidetes* 門 (40%), *Firmicutes* 門 (37.9%), *Fusobacteria* 門 (7.6%), *Verrucomicrobia* 門 (6%), *Actinobacteria* 門 (4.7%) であった。われわれのデータでは *Fusobacteria* 門や *Verrucomicrobia* 門が多かったり, *Bacteroidetes* 門が少なかったりと相違を認める。これは VEGF-TKI 服用有無や人種の違いによる影響が考えられる。われわれの検討では VEGF-TKI 服用有無によって細菌叢が変化してしまう可能性を考え VEGF-TKI 服用患者は除外している。また腸内細菌は概ね食事内容と相関し日本人では *Ruminococcus*, *Akkermansia* 優勢のタイプが多く, 欧米人では *Bacteroides*, *Parabacteroides* 優勢のタイプが多いという報告がある^{12,15}。また *Bifidobacterium* は通常, 比較的多い種であるとされるが Pal らの報告¹⁴) では転移性腎癌患者では上位 15 属に入っておらず 20 人中 4 人のみが検出可能な 0.1% 以上であったとしている。われわれの検討では転移性腎癌患者は 5 人と少数ではあるが全例で *Bifidobacterium* の属する *Bifidobacteriaceae* は検出されていた。ただし腎癌の転移有無別の検討ではそれぞれ転移なし群 6.3%, 転移あり群 3.6% で有意差は認めなかったが転移性腎癌では *Bifidobacterium* は少ない可能性がある。同様に尿路上皮癌の検討でも転移なし群 4.3%, 転移あり群 2.4% であり有意差はないが転移有り群で *Bifidobacteriaceae* は少なかった。統計学的有意差がなくとも 100 兆個といわれて

腎癌, 尿路上皮癌の腸内細菌叢の検討

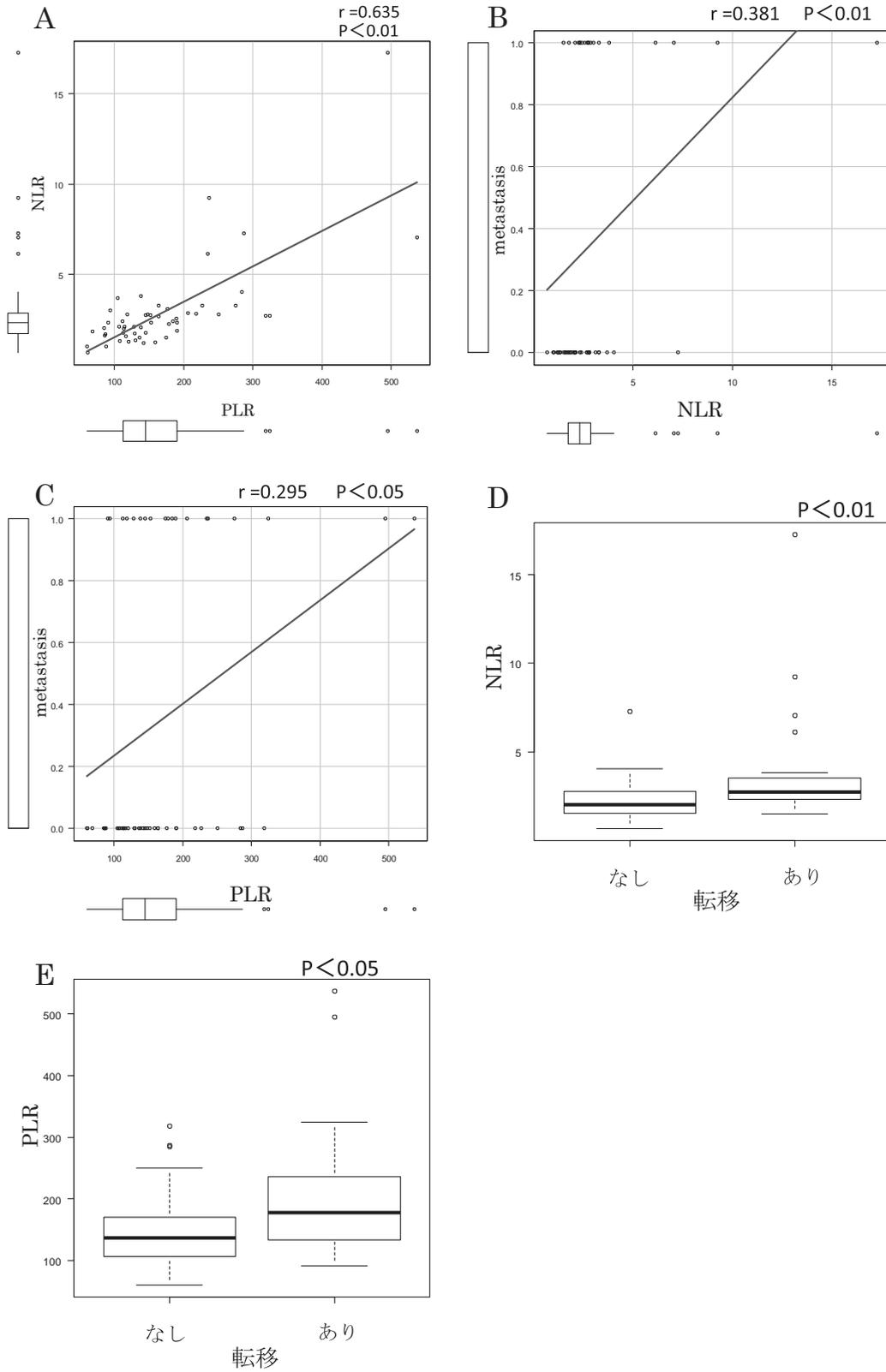


図1 NLR, PLR, 転移有無の関係

(A) NLR と PLR は正の相関を示した. 転移有無と (B) NLR, (C) PLR は正の相関を示した. r は Spearman の順位相関係数を示す. (D) 転移なし群と有り群では有意に有り群の方が NLR が大きかった. (E) PLR も同様に有り群の方が有意に大きかった.

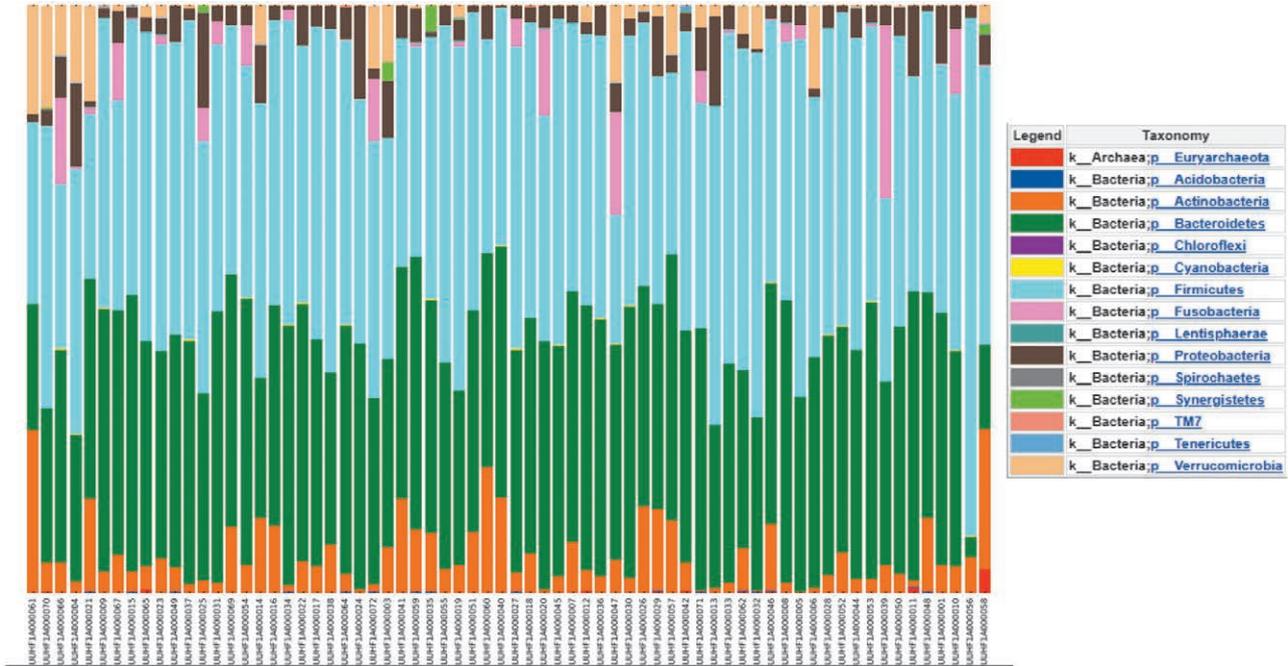


図 2 門レベルでの腸内細菌叢構成
 収集した糞便全検体の門レベルでの腸内細菌叢構成を示す。ただし解析から除外した症例も含む。

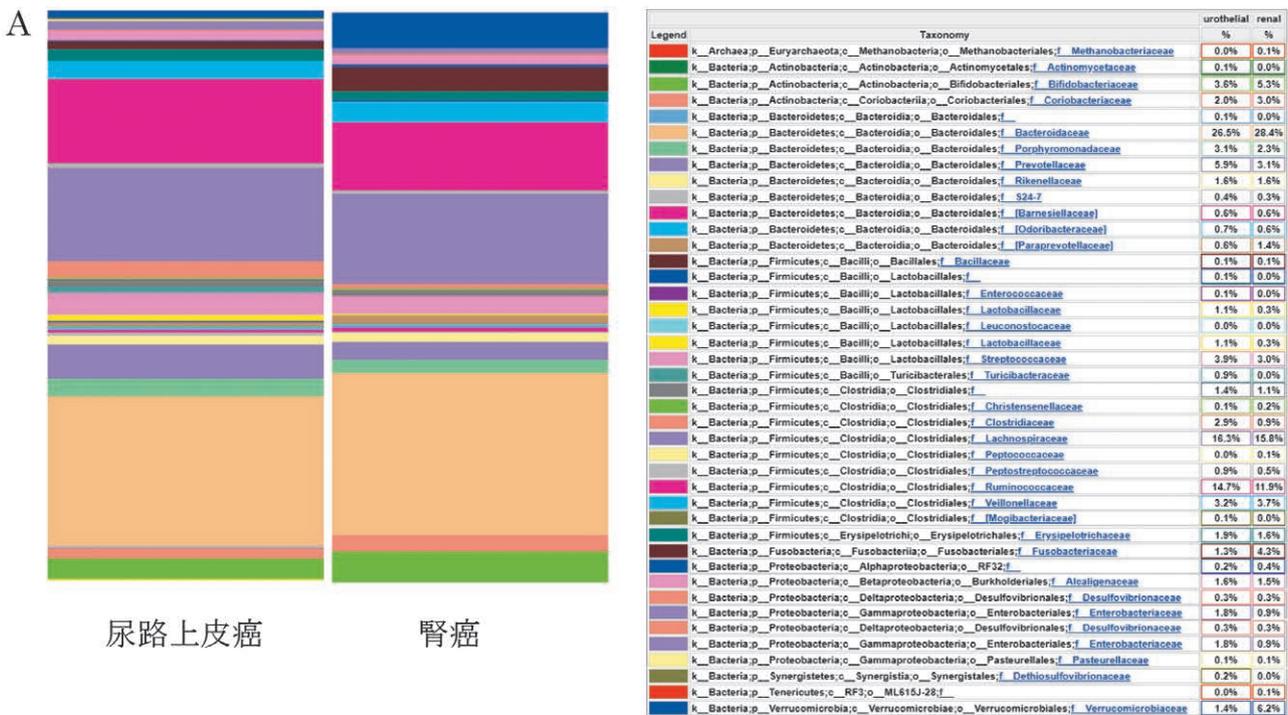


図 3 それぞれの群別での科レベルでの腸内細菌叢構成
 (A) 尿路上皮癌, 腎癌の腸内細菌叢構成の比較

腎癌, 尿路上皮癌の腸内細菌叢の検討

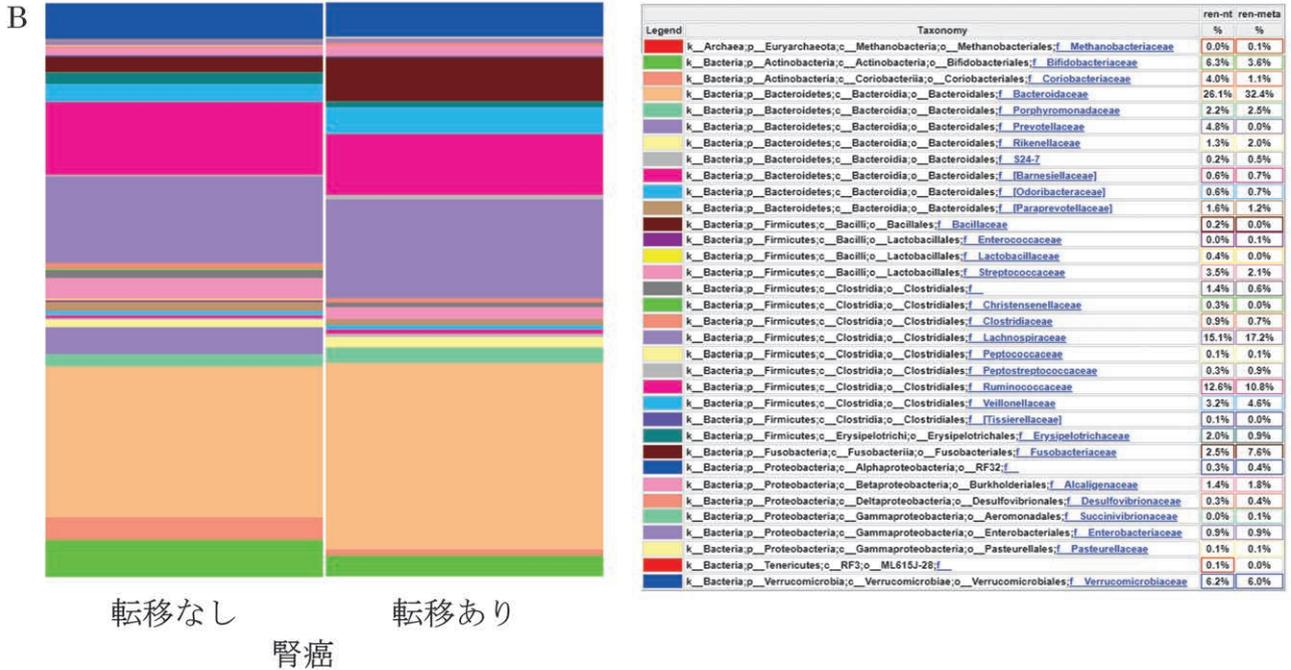


図 3 それぞれの群別での科レベルでの腸内細菌叢構成 (B) 腎癌の転移なし群とあり群の腸内細菌叢構成の比較

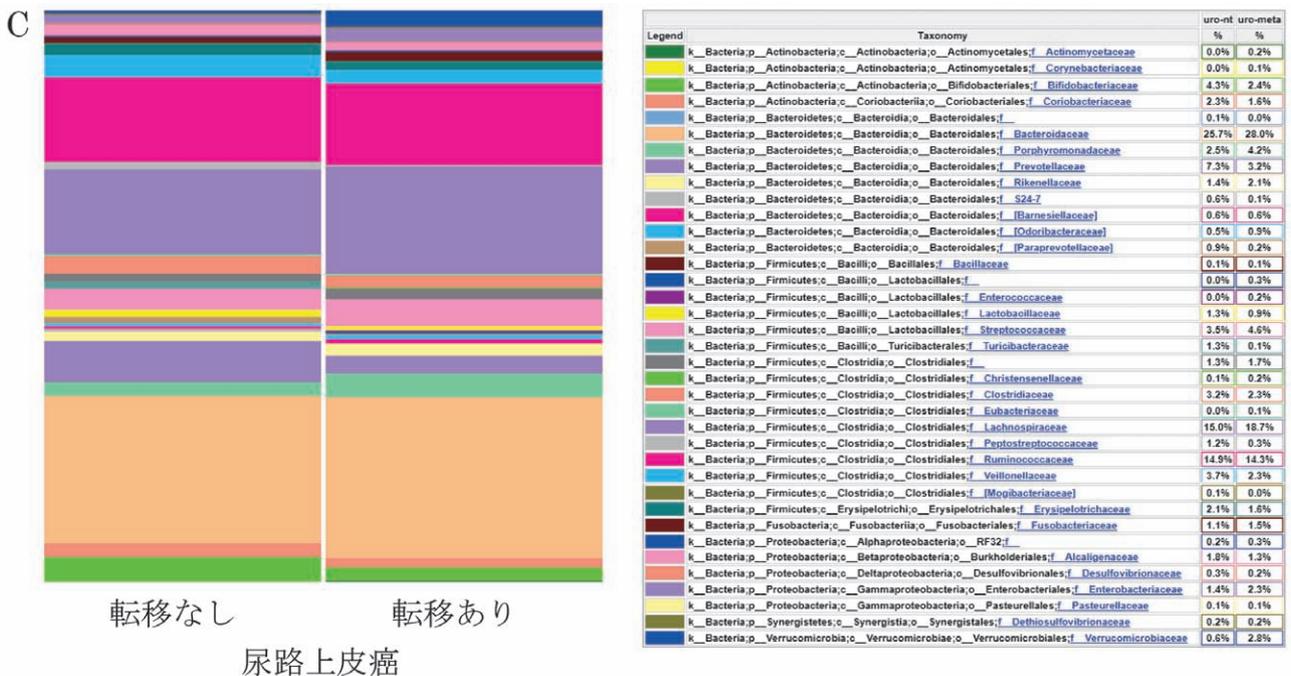


図 3 それぞれの群別での科レベルでの腸内細菌叢構成 (C) 尿路上皮癌の転移なし群とあり群の腸内細菌叢構成の比較

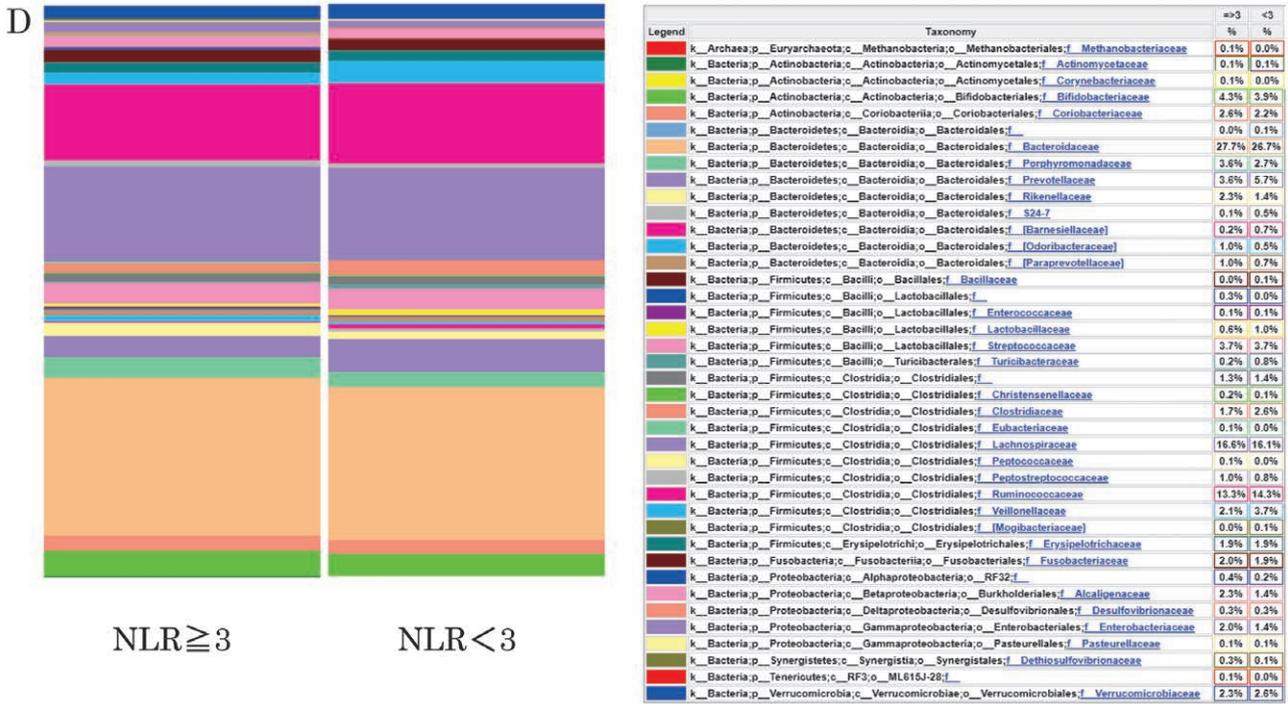


図 3 それぞれの群別での科レベルでの腸内細菌叢構成
(D) NLR ≥ 3 と NLR < 3 の腸内細菌叢構成の比較

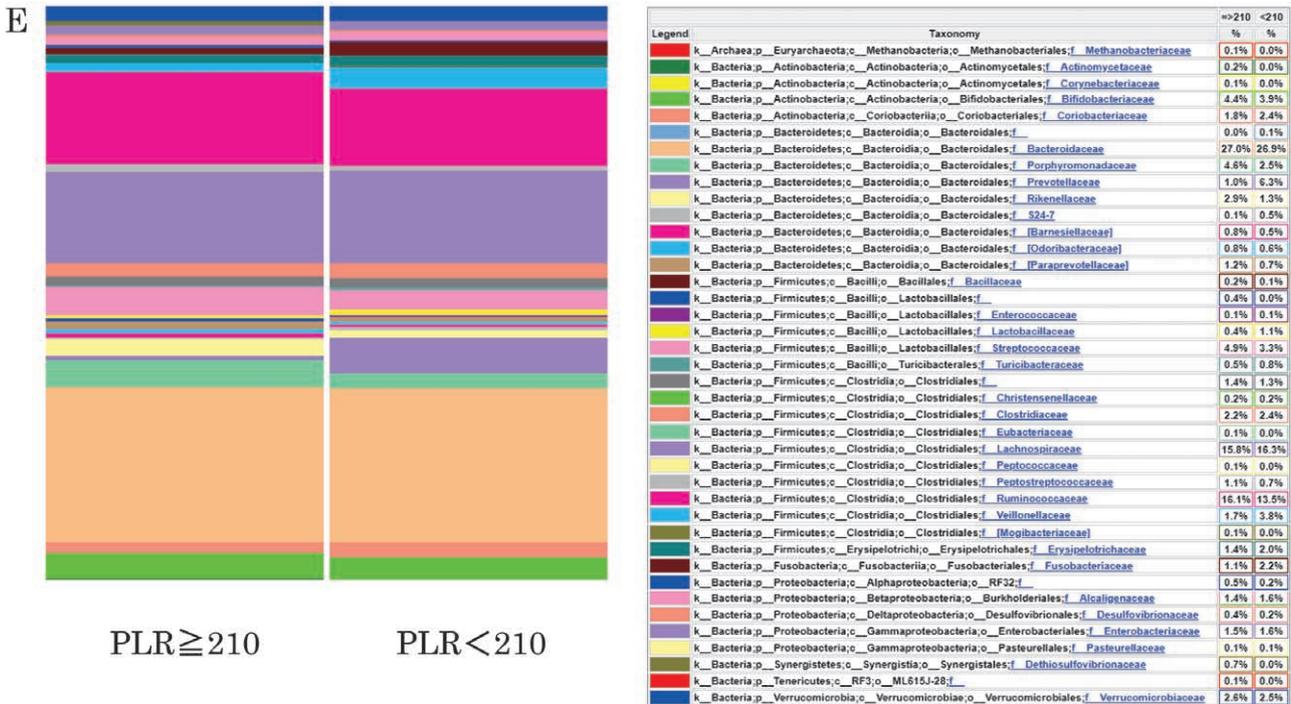


図 3 それぞれの群別での科レベルでの腸内細菌叢構成
(E) PLR ≥ 210 と PLR < 210 未満の腸内細菌叢構成の比較

腎癌，尿路上皮癌の腸内細菌叢の検討

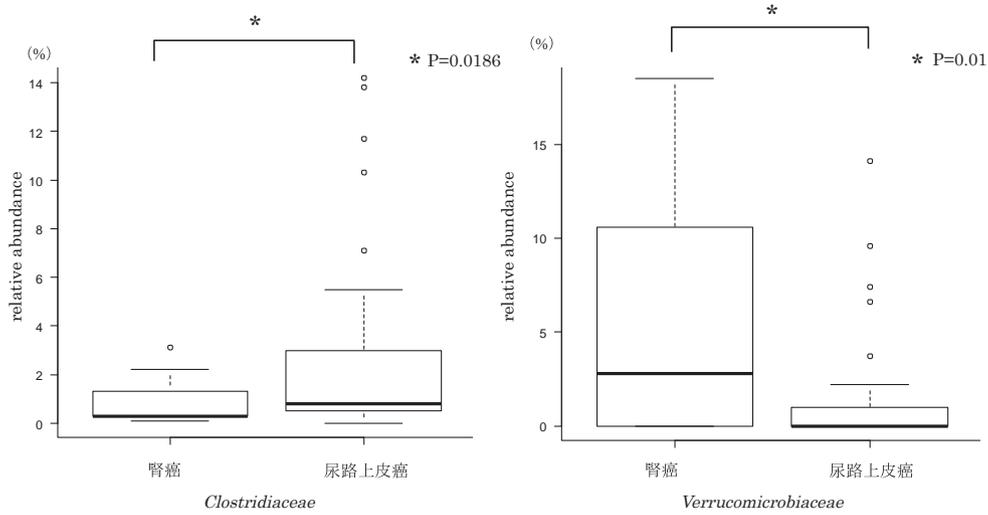


図 4 腎癌と尿路上皮癌での比較

腎癌と尿路上皮癌の比較では *Clostridiaceae* が有意に尿路上皮癌で *Verrucomicrobiaceae* が有意に腎癌で多かった。

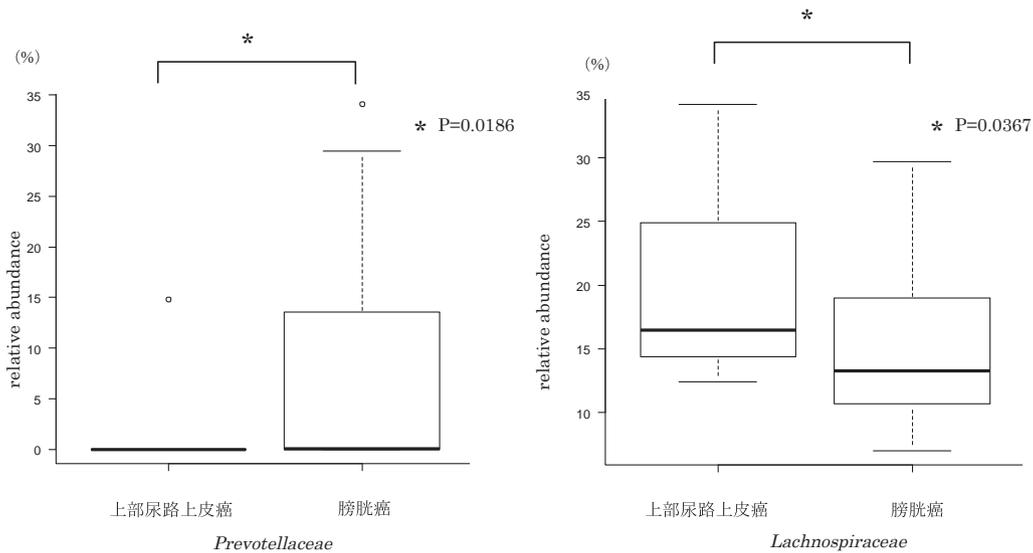


図 5 上部尿路上皮癌と膀胱癌での比較

上部尿路上皮癌と膀胱癌の比較では *Prevotellaceae* が有意に膀胱癌で *Lachnospiraceae* が有意に上部尿路上皮癌で多かった。

いるヒトの腸内細菌においてこの数%の違いでも実際の菌量としては大きな違いがあるといえる。実際にいくつかの研究で有用菌である *Bifidobacterium* が優勢な菌叢を保つことが生体にとって重要であることが示されており¹⁶⁾、転移などの全身状態悪化により *Bifidobacterium* は少なくなると考えられる。

本検討ではまず腎癌と尿路上皮癌での腸内細菌叢の比較で有意差が出たことは癌種によって腸内細菌叢の構成が異なることが示唆される。今後、健康成人

との比較検討を行い菌種の有意差を認めれば、その菌が疾患発症に関与していることが示唆され、病態解明に役立つことが期待される。さらに *Clostridium difficile* 感染症の治療で有名になった糞便移植¹⁷⁾によって腸内細菌叢構成や多様性を変化させれば発症予防に繋がる可能性もあるだろう。また上部尿路上皮癌と膀胱癌の比較で有意に膀胱癌で *Prevotellaceae* が多いという結果を得たが上部尿路上皮癌では11人中1人しか *Prevotellaceae* は検出されなかったのに

対して膀胱癌では30人中16人で検出された。これは同じ尿路上皮癌でも *Prevotellaceae* の存在は上部尿路上皮癌になりにくい素因となる可能性があり大変興味深い。次に腎癌の転移有無別の検討において有意ではなかったが *Prevotellaceae* が転移なし群で多い傾向 ($P = 0.0738$) にあったこと、尿路上皮癌の転移有無別において *Peptostreptococcaceae* が転移な

し群で有意に多かったことはこれらの菌群が腫瘍抑制性に働く可能性を示唆する。今後、例えば同一の遺伝子を持つ担癌マウスなどを用いて転移なし群の糞便を投与する群と転移有り群の糞便を投与する群にわけ、もし転移なし群の糞便を投与した群の方が癌の増大スピードが遅いということがわかればその腸内細菌叢の機能として免疫調節作用があることがわかるだろう。

NLR, PLR は全身性炎症反応により増加する好中球、血小板と腫瘍抑制に働くリンパ球の相対的な減少により上昇し、予後不良となることが考えられる⁶⁻⁸⁾。本検討でも転移有り群の方がなし群と比べて有意に NLR, PLR は高くなり NLR と PLR の正の相関を認めた。すなわち腎癌、尿路上皮癌において NLR, PLR が高値であることはともに、より病期が進行し全身炎症反応と癌免疫の低下を表す指標の1つと考えられる。*Veillonellaceae* は $NLR \geq 3$ と $NLR < 3$ の比較で有意差を認めなかったが ($P = 0.0507$) $NLR < 3$ で多い傾向を認め、 $PLR \geq 210$ と $PLR < 210$ の比較では有意差をもって $PLR < 210$ 群で多かった。逆に *Rikenellaceae* は $PLR \geq 210$ と $PLR < 210$ の比較で有意に $PLR \geq 210$ 群で多く、癌免疫が低下し炎症反応が上昇した状態では *Veillonellaceae* は減少し *Rikenellaceae* は増加する可能性がある。腸内細菌が全身免疫系に影響するメカニズムとして細菌が

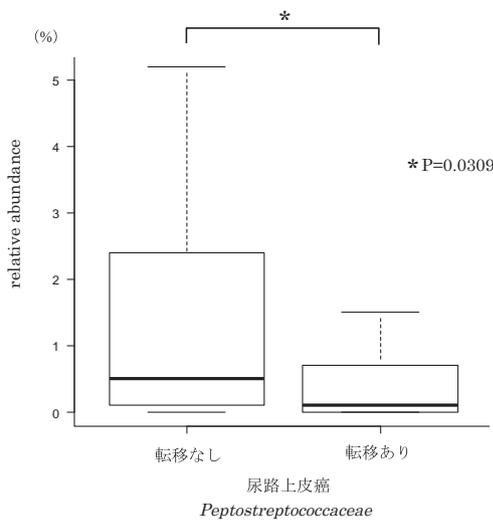


図6 尿路上皮癌での転移有無別の比較
尿路上皮癌の転移なし群と有り群の比較では *Peptostreptococcaceae* が有意に転移なし群で多かった。

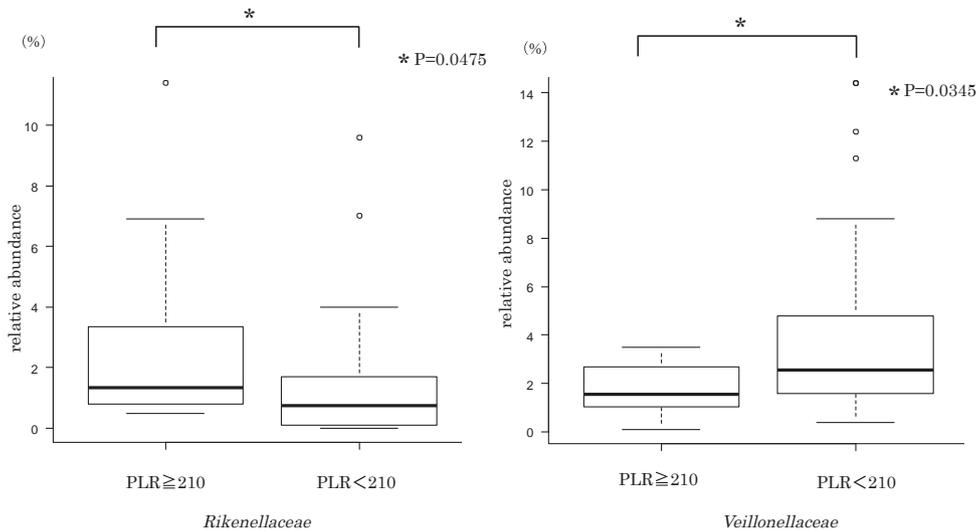


図7 $PLR \geq 210$ と $PLR < 210$ の比較
 $PLR \geq 210$ と $PLR < 210$ の比較では *Rikenellaceae* が $PLR \geq 210$ で *Veillonellaceae* が $PLR < 210$ で有意に多かった。

腎癌, 尿路上皮癌の腸内細菌叢の検討

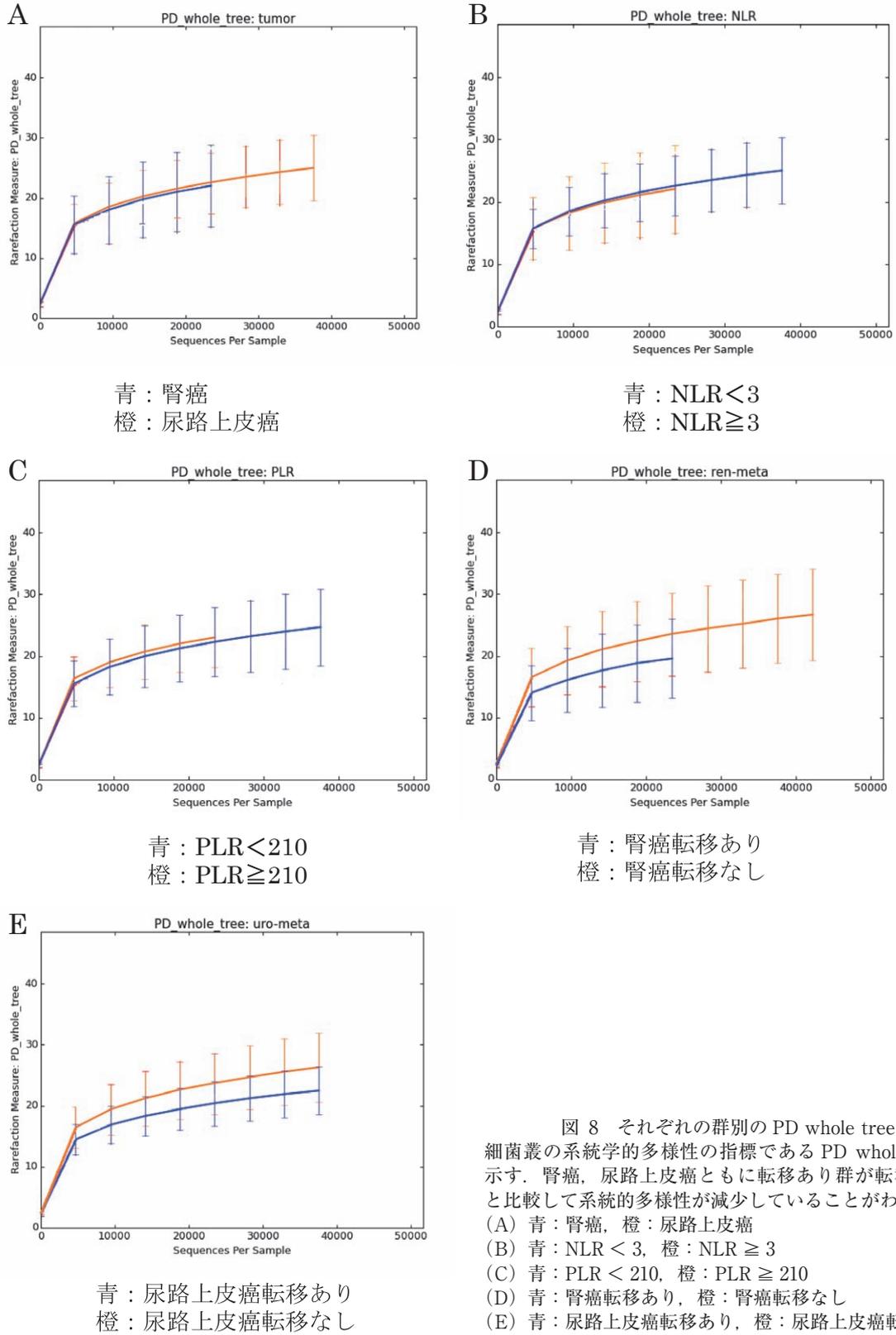


図 8 それぞれの群別の PD whole tree 細菌叢の系統的多様性の指標である PD whole tree を示す。腎癌, 尿路上皮癌ともに転移あり群が転移なし群と比較して系統的多様性が減少していることがわかる。
 (A) 青: 腎癌, 橙: 尿路上皮癌
 (B) 青: $NLR < 3$, 橙: $NLR \geq 3$
 (C) 青: $PLR < 210$, 橙: $PLR \geq 210$
 (D) 青: 腎癌転移あり, 橙: 腎癌転移なし
 (E) 青: 尿路上皮癌転移あり, 橙: 尿路上皮癌転移なし

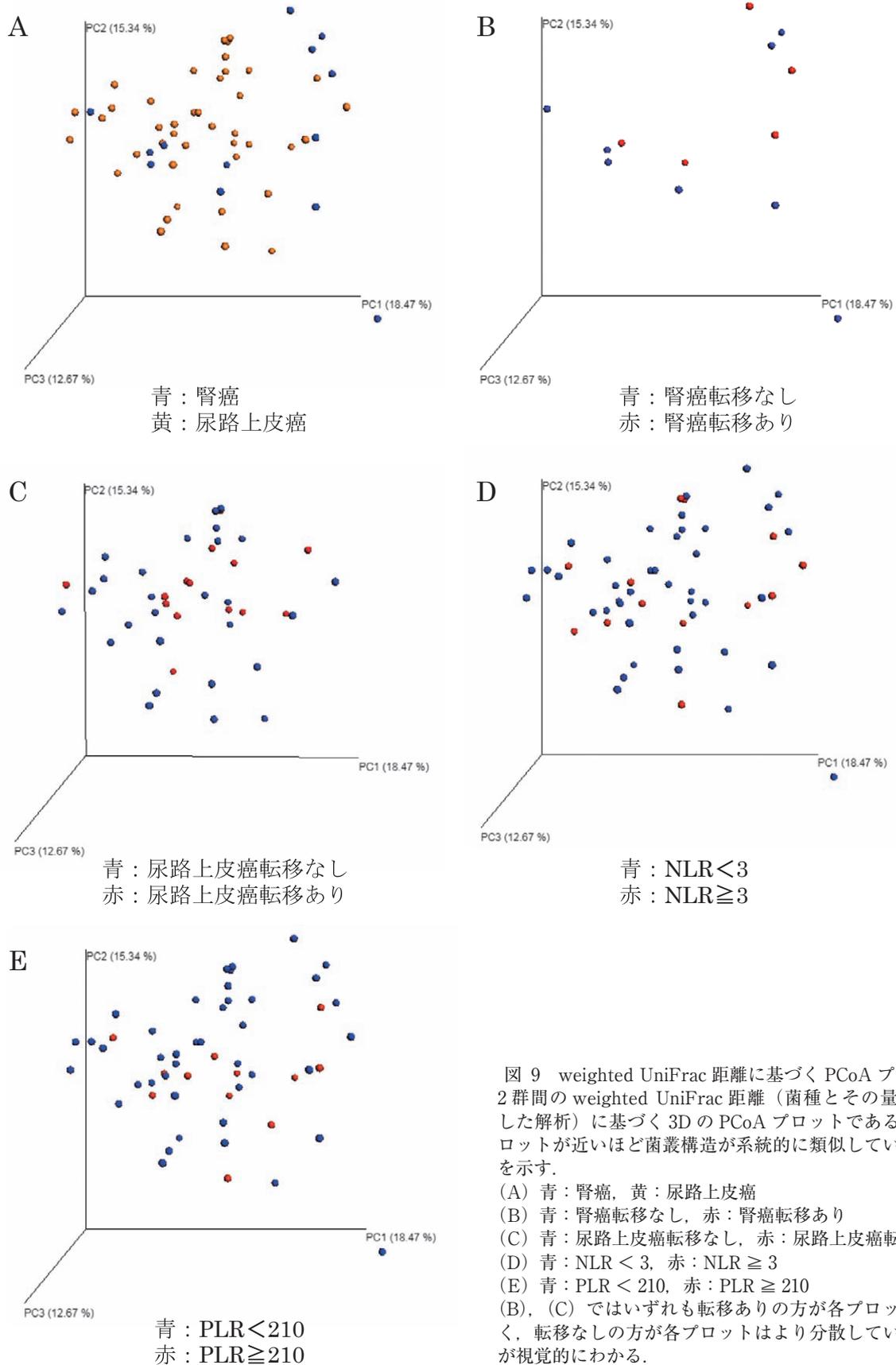


図 9 weighted UniFrac 距離に基づく PCoA プロット
2 群間の weighted UniFrac 距離（菌種とその量を加味した解析）に基づく 3D の PCoA プロットである。各プロットが近いほど菌叢構造が系統的に類似していることを示す。

(A) 青：腎癌，黄：尿路上皮癌
(B) 青：腎癌転移なし，赤：腎癌転移あり
(C) 青：尿路上皮癌転移なし，赤：尿路上皮癌転移あり
(D) 青：NLR < 3，赤：NLR ≥ 3
(E) 青：PLR < 210，赤：PLR ≥ 210
(B)，(C) ではいずれも転移ありの方が各プロットが近く、転移なしの方が各プロットはより分散していることが視覚的にわかる。

産生する代謝物が全身に移行し免疫調節を発揮していると想定されている¹⁶⁾。

今回の検討では腎癌転移有無別, 尿路上皮癌転移有無別の比較において系統的多様性に違いが見られた。いずれも転移有り群では α 多様性が乏しいという結果であったが炎症性腸疾患や結腸直腸癌などさまざまな疾患においても^{18,19)}, そして免疫療法の効果が乏しかった患者でも α 多様性が低下していたとの報告がある⁴⁾。これらのことから腸内細菌叢に多様性がある方が生体にとって有利に働くと考えられる。NLR \geq 3 と NLR $<$ 3, PLR \geq 210 と PLR $<$ 210 の比較ではカットオフ値次第で多様性に変化が出る可能性がある。今回は NLR, PLR は過去の報告を参考に 3 と 210 を採用したが今後 NLR, PLR とそれぞれの癌の予後との関係の検証が必要である。

本検討では 54 例と検体数が少ないことが欠点ではあるがわれわれが検索した限りでは泌尿器癌領域における腸内細菌叢の検討はほとんど報告がなく意義があるものと考えている。しかし他の報告^{4,5,18)}をみるとやはり少なくとも 100 例以上の規模でのスタディが望ましいと考える。今回, われわれが得た知見をまとめると腎癌, 尿路上皮癌という癌種, 転移の有無で腸内細菌叢の構成, 多様性に違いがあり, また免疫状態によっても腸内細菌叢に変化があるということが判明した。これは病態や疾患発症のメカニズムを解明する一助となるほか, 糞便移植などの手法により疾患の発症予防や治療にもつながる可能性を秘めている。さらなる研究の蓄積が必要である。

利益相反

本研究に関し開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) 安藤 朗. 腸内細菌の種類と定着: その隠された臓器としての機能. 日内会誌. 2015;104:29-34.
- 2) 長島浩二, 久田貴義, 望月 淳. T-RFLP 法による腸内細菌叢の解析. 腸内細菌誌. 2014;28:155-164.
- 3) 本田賢也. 腸内細菌と腸管免疫. ライフサイエンス領域融合レビュー, 2013;2:e011. (2018 年 3 月 1 日アクセス) https://dbarchive.biosciencedbc.jp/data/leading_authors/data/Doc/Honda-2.e011-PDF.pdf
- 4) Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, *et al.* Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*. 2018;359:97-103.
- 5) Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, *et al.* Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 2018;359:91-97. DOI:10.1126/science.aan3706
- 6) Lolli C, Caffo O, Scarpi E, *et al.* Systemic immune-inflammation index predicts the clinical outcome in patients with mCRPC treated with abiraterone *Front Pharmacol*. 2016;7:376. (accessed 2018 Aug 24). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5062111/pdf/fphar-07-00376.pdf>
- 7) Kokcu A, Kurtoglu E, Celik H, *et al.* May the platelet to lymphocyte ratio be a prognostic factor for epithelial ovarian cancer? *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15:9781-9784.
- 8) Terzic J, Grivennikov S, Karin E, *et al.* Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology*. 2010;138:2101-2114.e5.
- 9) 西村 文, 北菌英一, 妹脊和男, ほか. 機能性大麦 BARLEYmax (Tantangara) による整腸効果について ランダム化二重盲検並行群間比較試験. 薬理と治療. 2017;45:1047-1055.
- 10) Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, *et al.* Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and Miseq platforms. *ISME J*. 2012;6:1621-1624.
- 11) Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*. 2010;7:335-356.
- 12) 渡邊邦友. ヒト腸内マイクロバイオームの関与が疑われる話題の疾患. *Modern Media*. 2014;60:356-368.
- 13) 服部正平. ヒト腸内マイクロバイオーム解析のための最新技術. 日臨免疫会誌. 2014;37:412-422.
- 14) Pal SK, Li SM, Wu X, *et al.* Stool bacteriomic profiling in patients with metastatic renal cell carcinoma receiving vascular endothelial growth factor-tyrosine kinase inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2015;21:5286-5293.
- 15) Arumugum M, Raes J, Pelletier E, *et al.* Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473:174-180. Erratum in: *Nature*. 2011;474:666. *Nature*. 2014;506:516.
- 16) 平山和宏. 腸内細菌叢の基礎. *Modern Media*. 2014;60:307-311.
- 17) Kelly CR, Khoruts A, Staley C, *et al.* Effect of fecal microbiota transplantation on recurrence in multiply recurrent clostridium difficile infection: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2016;165:609-616.

18) Lepage P, Häslér R, Spehlmann ME, *et al.* Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2011;141:227-236.

19) Ahn J, Sinha R, Pei Z, *et al.* Human gut microbiome and risk for colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105:1907-1911.

EXPLORATORY FUNDAMENTAL STUDY OF GUT MICROBIOTA IN PATIENTS WITH KIDNEY CANCER AND UROTHELIAL CANCER

Hideaki SHIMOYAMA, Michio NAOE, Sat Prasad NEPAL,
Aya HIRAMATSU, Yuki MATSUI, Tsutomu UNOKI,
Takehiko NAKASATO, Kazuhiko OSHINOMI, Jun MORITA,
Yoshiko MAEDA, Kohzo FUJI and Yoshio OGAWA
Department of Urology, Showa University School of Medicine

Takuya TSUNODA

Department of Medicine, Division of Medical Oncology, Showa University School of Medicine

Kiyoshi YOSHIMURA

Department of Clinical Immuno Oncology, Clinical Research Institute for Clinical Pharmacology and Therapeutics,
Showa University

Abstract — Recently there have been many new reports showing the relationship between gut microbiota and various diseases. In this study, we collected feces from kidney and urothelial cancer patients and examined whether the composition of gut microbiota affects metastasis and cancer type of patients with these cancers. We also investigated whether there are differences in the composition of the gut microbiota depending on the values of the neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and the platelet to lymphocyte ratio (PLR). It is reported that NLR and PLR reflect the inflammatory response and the immune status, and it becomes a prognostic predictor in various cancer types. From April 2018 to September 2018, a total of 54 patients were enrolled in Showa University hospital. We analyzed gut microbiota using 16S ribosomal RNA gene by next generation sequencer. We found a significant difference between *Clostridiaceae* and *Verrucomicrobiaceae* in the comparison between kidney and urothelial cancer. *Peptostreptococcaceae* was significantly greater in the absence of metastasis of urothelial carcinoma. A significant difference was found in *Rikenellaceae* and *Veillonellaceae* in comparison with $PLR \geq 210$ and $PLR < 210$. The diversity of intestinal bacteria was poor in kidney and urothelial metastatic cancer compared without metastatic cancer. In this study, we found differences in the gut microbiota according to cancer type and the presence or absence of metastasis. Gut microbiota may be useful for the prevention of disease, treatment target, and prediction factor of a drug's effects. Further accumulation of research on this topic is necessary.

Key words: gut microbiota, kidney cancer, urothelial cancer, neutrophil to lymphocyte ratio, platelet to lymphocyte ratio

[受付：1月7日，受理：1月10日，2019]