

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09348

研究課題名(和文) 胃発癌におけるオートファジーの機能解析と予防への応用

研究課題名(英文) Functional analysis of autophagy in gastric carcinogenesis and its application to prevention

研究代表者

大谷 昌弘 (OHTANI, MASAHIRO)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師

研究者番号：20372500

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)：ヘリコバクターピロリ(HP)感染による炎症性胃発癌におけるオートファジーの作用について検討した。HP感染ガストリントランスジェニックマウス(INS-GASマウス)は感染28週後に病理組織学的に高度の胃炎と異形成と異上皮内腫瘍(GIN)が認められた。ATG5とBeclin-1の発現を免疫組織化学で検討したところ、いずれも胃粘膜組織の腺上皮細胞に発現しており、HP感染マウスの方が非感染マウスよりびまん性かつ高度であった。以上よりINS-GASマウスにおいてHP感染により高度異形成が発生し、オートファジーが強く誘導されるという結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オートファジーは細胞内分解機構の一つであり、細胞の恒常性の維持において主要な役割を果たしている。癌、感染症等様々な疾患や病態へ関与が報告され、癌細胞に対しては腫瘍抑制・促進の両方の作用を有していることが明らかにされ、治療応用への試みも行われてきている。今回の胃発癌マウスモデルを用いた検討では、オートファジーは炎症性胃発癌機序に関与している可能性が示された。さらなる検討により新たな治療法へのアプローチが期待される。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effect of autophagy on inflammatory gastric carcinogenesis caused by Helicobacter pylori (HP) infection. HP-infected gastrin transgenic mice (INS-GAS mice) had histopathologically significant gastritis and dysplasia 28 weeks after infection. The expression of ATG5 and Beclin-1 was examined by immunohistochemistry, and both were expressed in the glandular epithelial cells of the gastric mucosal tissue, and HP-infected mice were diffuse and higher than non-infected mice. These results indicate that HP infection causes severe dysplasia in INS-GAS mice, and that autophagy is strongly induced over time due to persistent infection.

研究分野：消化器内科

キーワード：ヘリコバクターピロリ菌 オートファジー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)オートファジーとは真核細胞が有する細胞内のタンパク質を分解する機構の一つであり、細胞質成分をオートファゴソーム形成して取り込み、リソソームと融合して分解する過程から成り立っている。オートファジーは飢餓状態におけるエネルギー産生、異常タンパクの分解など細胞の恒常性の維持において主要な役割を果たしており、癌、感染症、クローン病等様々な疾患や病態へ関与が報告され注目されている。発癌におけるオートファジーの役割はまだ不明な点が多く、腫瘍促進、腫瘍抑制のいずれにも作用することや、化学療法に対する癌細胞の抵抗性に関係していることが報告されている。

(2)胃癌におけるオートファジーの役割に関しては、これまでに、オートファジーが胃粘膜におけるヘリコバクターピロリ(*H. pylori*, HP)菌体のクリアランスに関与し、HPの産生する vacA がその調節を障害する可能性(*Gastroenterology*. 142;1160:2012)、胃粘膜上皮細胞内の CagA が分解されるものの、癌幹細胞ではオートファジーが作動せず CagA が蓄積すること(*Cell Host Microbe*. 12;764:2012)、オートファジーの遺伝子多型性が HP 感染並びに胃癌のリスクに関与する可能性(*Helicobacter*. 20;353:2015)が報告されている。しかしながら、現在までに行われた研究は主にヒト胃癌細胞株を用いた検討であり、HP 感染胃癌マウスモデルを用いた発癌の自然史におけるオートファジーの機能解析はこれまでになされてはいない。

2. 研究の目的

(1)本研究の目的は HP 感染による炎症性胃癌におけるオートファジーの機能を、ヒトの胃癌に類似したガストリントランスジェニックマウスを用いて感染早期と慢性期において経時的に解析を行う。

3. 研究の方法

(1)生後 10 週の雄 INS-GAS マウスに対して、*H. pylori* Sydney Strain (HP SS1)を感染させて、非感染群 (HP(-)) と HP 感染群(HP(+))に分類した。感染 4 週後(感染初期)と 28 週後(発癌期)に解剖を行い下記の項目について解析を行った。

胃組織の病理組織学的検討。

胃組織を用いて HP SS1 の定量的 Q-PCR で菌量を確認。

Ki-67 免疫染色を行い、胃粘膜上皮における細胞増殖能についての検討。

胃組織における炎症性サイトカインの IFN- と TNF- の mRNA 発現量の検討。

オートファジーマーカーである ATG5 と Beclin-1 の胃粘膜組織における発現。

4. 研究成果

(1)病理組織学的検討

図 1 は HP 感染 28 週後の胃体部の病理所見であり、粘膜固有層に高度の炎症細胞浸潤、腺窩上皮の過形成と胃底腺の萎縮と高度異形成があり、Gastric Intraepithelial Neoplasia (GIN) の所見が認められ、炎症性発癌を呈していた。

炎症所見、異形成 (Dysplasia) について 0-4 までのスコアリングにて評価を行った(図 2)。感染 4 週後においては、炎症スコアと dysplasia スコアに差は認めなかった。一方、感染 28 週後では炎症スコアと dysplasia スコアのいずれも HP 感染群が非感染群と比較して有意に高値であった。

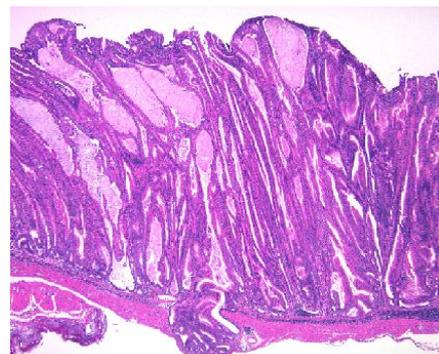


図 1 HP 感染 28 週後胃体部病理所見

(2)胃組織における HP 菌量の検討

HP SS1 を感染させた INS-GAS マウスは全例 PCR 法にて感染が確認された。また菌量では感染 4 週後の方が感染 28 週と比較して有意に菌量が低下していた(図 3)。

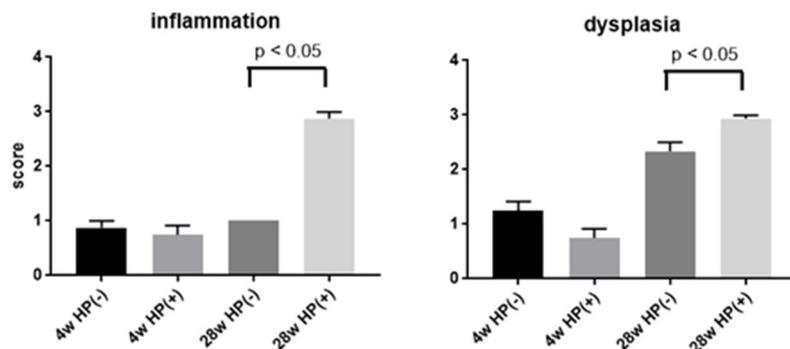


図 2 病理組織所見スコアリング

(3)Ki-67 Labeling Index
 感染 28 週後において胃粘膜上皮の細胞増殖能を評価したところ、HP 感染群の方が非感染群と比較して有意に高値であり、HP 感染による胃粘膜上皮細胞の増殖能亢進が確認された(図 4)。

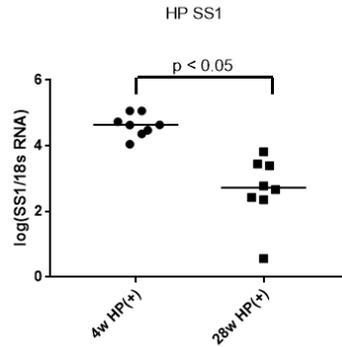


図 3 HP 胃組織内菌量

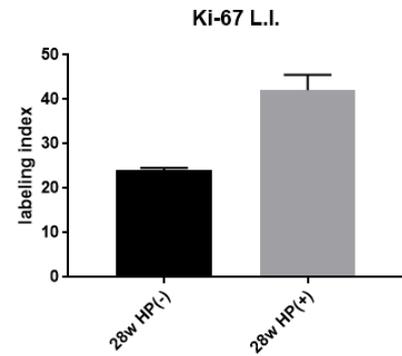


図 4 Ki-67 Labeling Index

(4)胃組織における炎症性サイトカインの mRNA 発現レベル
 感染 4 週後における胃組織におけるサイトカインの mRNA 発現レベルに差を認めなかった。感染 28 週後においては HP 感染群の方が、TNF- と IFN- の両方の mRNA レベルが非感染群と比べて有意に高値であった(図 5)。

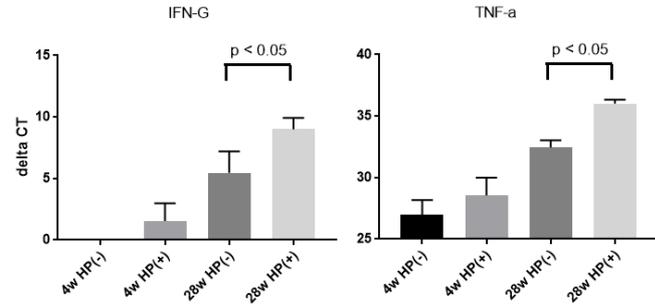


図 5 胃組織 Cytokine Profile

(5)Beclin-1 ならびに ATG5 の胃粘膜組織における発現
 Beclin-1 はオートファゴソーム形成に関与し、ATG5 は隔離膜の伸長に作用すると認識されており、通常はユビキタスに細胞質内に局在しているとされる。

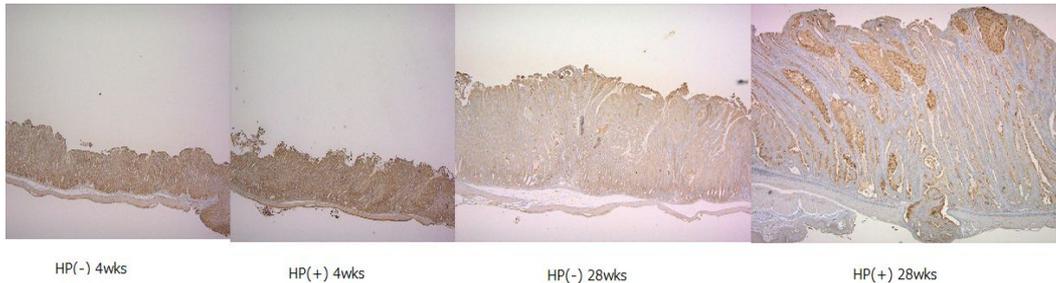


図 6 Beclin-1 免疫組織化学所見

Beclin-1 の免疫組織化学所見 (IHC) において、感染 4 週後は胃底腺の頸部・底部、及び表層粘液細胞の広範囲に渡って発現しており、感染群・非感染群の間で差は認めなかった。28 週においても Beclin-1 の発現が認められた(図 6)。

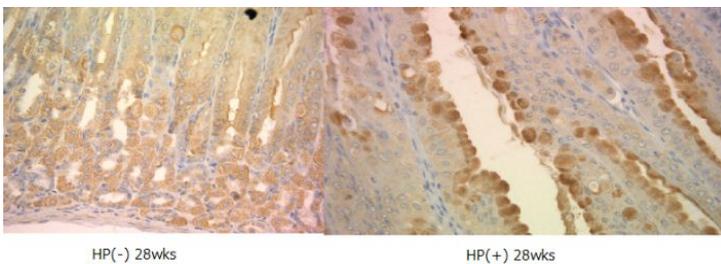


図 7 Beclin-1IHC 胃底腺領域の強拡大像

非感染群は 4 週後の染色態と同様である一方で、HP 感染群では胃底腺頸部粘液細胞の腺管内腔側の細胞質内粘液胞体と高度異形成である GIN において Beclin-1 の濃染所見が認められた(図 7)。また、ATG5 の IHC の所見は、Beclin-1 と同様であった。

(6)まとめ

本研究では、HP 感染胃発癌マウスモデルを用いて経時的に胃粘膜組織におけるオートファジーの発現解析を行った。感染定着早期では Beclin-1 と ATG5 の発現程度の差は認められなかった。発癌期では HP 感染群において頸部胃底腺粘液細胞の Beclin-1 と ATG5 の発現局在性に変化が認められた。以上より、HP 感染においてそのクリアランスならびに、発癌調節機構に關与す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
--	---------------------------	-----------------------	----