

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07948

研究課題名(和文)ピロリ除菌後の胃発がんにおける新規バイオマーカーの解析および臨床応用の検討

研究課題名(英文) Analysis and clinical application of novel biomarkers in gastric carcinogenesis after H. pylori eradication

研究代表者

三橋 慧 (Mitsubishi, Kei)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：70772127

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)：ピロリ除菌後に発症する胃がんはこれまでとは異なった特徴を有する可能性があり、遺伝子異常、遺伝子のメチル化、常在細菌叢(体内で共存する細菌を指し、マイクロバイオームともいわれる)などの違いを検討した。各種解析の結果、除菌後であっても発がん例では正常粘膜にメチル化が高度に蓄積されていることがわかり、これまでの発がん症例と同様の特徴が認められた。広く公表されている分子異常データベースの結果と今回の解析結果を比較し、やはり同様の傾向が認められた。一般にピロリ除菌後は胃粘膜のメチル化が低くなり、発がんのリスクが下がるとされているが、発がんに至る症例では異なった経過を示す可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ピロリ除菌後の胃発がんについて、除菌後であっても胃粘膜に高度なメチル化の遺残を認めることがわかり、これが除菌後の発がんの大きな要因であることがわかった。国民のピロリ除菌達成者の割合は年々増加する一方、若い世代はそもそもピロリ感染率が低く発がんの可能性が低い。今後胃がん撲滅において重要なポイントは、ピロリ除菌後の発がんの対策であることは間違いない。今後の課題として、ピロリ除菌後であってもメチル化が解除されない原因の究明が挙げられる。健診、内視鏡検査、治療の分野において今回の研究結果をどのように還元していくか、今後も検討していきたい。

研究成果の概要(英文)：The gastric cancer that develops after eradication of H. pylori may have different characteristics from previous cases. We investigated differences in genetic abnormalities, gene methylation, and indigenous bacterial flora (bacteria that coexist in the body, also known as the microbiome). As a result of various analyses, it was found that methylation was highly accumulated in the normal mucosa of carcinogenic cases even after eradication of H. pylori, which is similar to the characteristics of carcinogenic cases in the past. We compared the results of the present analysis with those of a widely published database of molecular abnormalities, and found a similar trend. In general, after eradication of H. pylori, methylation of the gastric mucosa is lowered and the risk of carcinogenesis is reduced. However, cases that lead to carcinogenesis may have a different course.

研究分野：消化器内科

キーワード：胃がん ヘリコバクター・ピロリ メチル化

1. 研究開始当初の背景

本邦では2013年より慢性胃炎に対し3剤併用内服によるヘリコバクター・ピロリ菌除菌が保険適応となった。今後ピロリ菌除菌後の割合が拡大し、多くの胃がんが予防されるようになると予測されるが、一方で除菌後に発症する胃がんの存在が問題となっている。

除菌後の胃がんは、境界が不鮮明で範囲診断が困難な場合や、そもそも病変を同定するのが困難な症例の存在も指摘されている。『除菌後の胃がん健診やスクリーニング検査が、従来通りの方針で良いのか』という問いには明確な答えはない。

ピロリ菌感染胃粘膜ではDNAメチル化異常が蓄積することで発癌素地の形成(epigenetic field defect)につながる事が以前より知られ、申請者らも背景胃粘膜のDNAメチル化が発がんリスクを予測する分子マーカーとして有用であることを報告している(Cancer Prev Res, 2012, J Gastroenterol, 2014)。しかし除菌後胃粘膜におけるマイクロバイオームの変化、メチル化異常と除菌後発がんとの関連については知られていない。

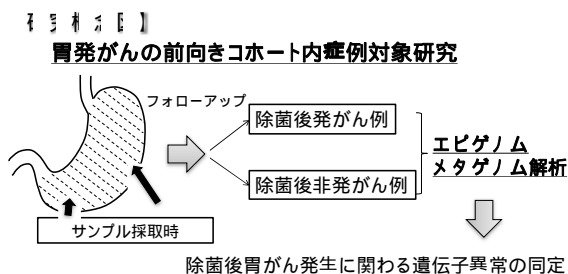
今後、除菌後胃がんが増加すると考えられ、除菌後の胃発がん対策が急務になると考えられる。そこで除菌後発がんの分子機構を明らかにすることで、発がんリスク診断および早期診断体系を構築することは重要な課題である。

2. 研究の目的

本研究はピロリ菌除菌後発がんに関わる遺伝子異常を明らかとし、発がんリスクマーカーとして臨床応用することを目的としている。

これまでの研究では、ピロリ菌感染によって誘導される遺伝子異常が注目されているが、除菌後に発生した胃がんに着目した研究は殆どない。今後、胃がん予防目的の除菌治療が普及するに伴って、除菌後に発症する胃がんへの対策が重要になると予想される。除菌後胃がんの分子病態を明らかとすることで、除菌後胃がんの予防・早期発見に必要な知見が得られると期待される。

本研究では、前向き研究から得られた臨床検体を解析対象とすることで、除菌後胃がんの発がん前(前がん状態)発がん時(早期がん)におけるゲノム・エピゲノム・メタゲノム異常を直接比較する。除菌後胃がんを分子病態からアプローチし、これらの組み合わせで発がんリスクの高い症例の同定につながるという点で独創的である。



3. 研究の方法

解析対象は除菌後発がん症例(7症例)の非がん部とがん部の検体、非発がん症例(2症例)の観察開始時と最終内視鏡検査時の検体とした。検体数の合計は、がん部7個、非がん部9個となる。

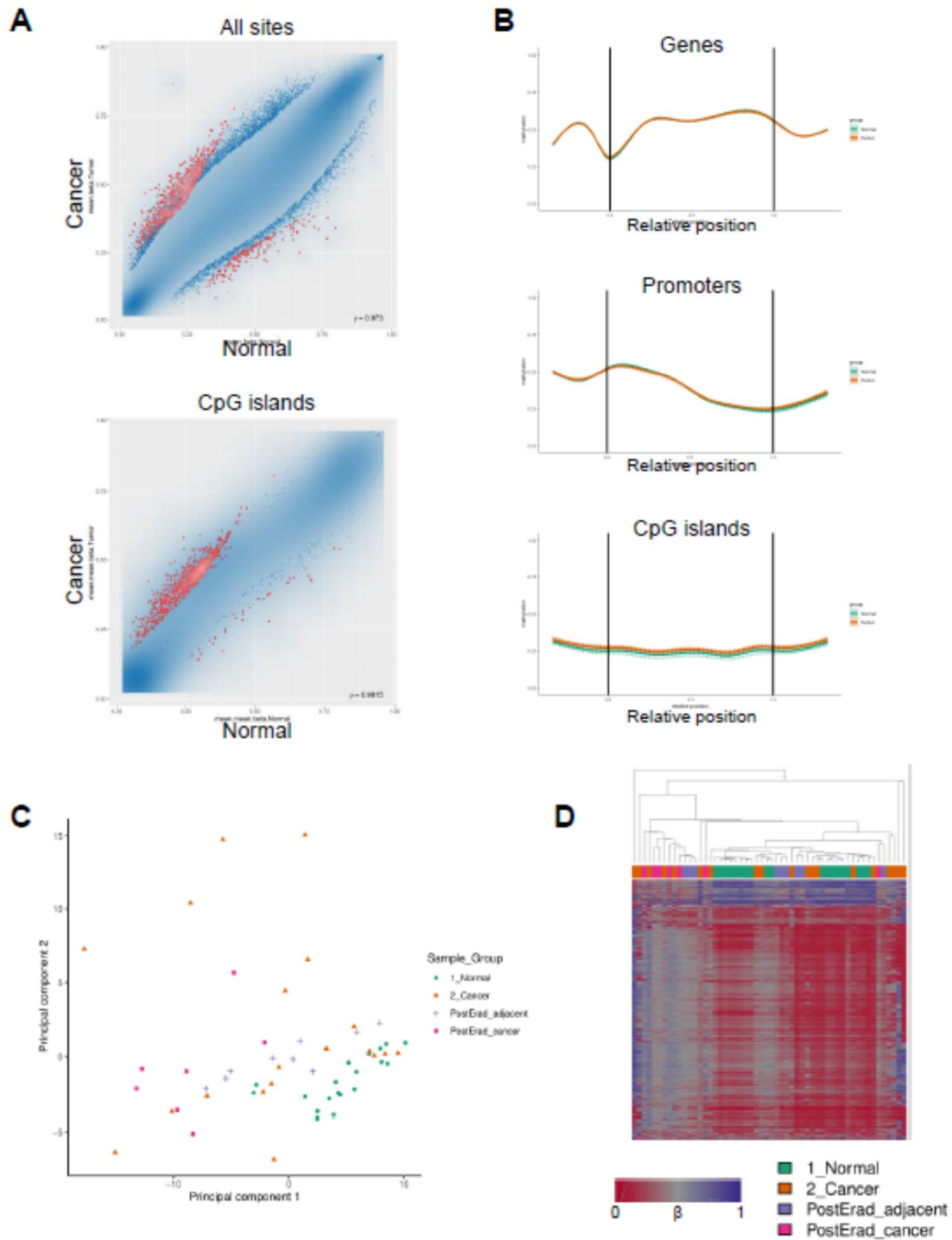
エピゲノム解析はInfinium MethylationEpic BeadChipを用いて解析する。メタゲノム解析は、Ion 16S Metagenomics Kitを用いて細菌の16S rRNA遺伝子を増幅し、ライブラリを作成してIon Protonシステムでシーケンス解析した。

除菌後胃がんのエピゲノム異常と申請者らの所有するピロリ菌関連胃がんのエピゲノム異常を比較検討することで、除菌後で特異的な分子異常を明らかとする。非がん部のデータと統合解析することで除菌後発がんに関連するメチル化異常を抽出する。また、エピゲノム異常に関してはオープンデータベース(GEO; Gene Expression Omnibus)を用いて比較検討する。

4. 研究成果

一般に、胃がんと対照非がん部では、がん部の方がメチル化レベルは高い。除菌後胃がんでも、その傾向は共通していた(Figure A)。正常(胃がん背景粘膜も含む)では、ピロリ陽性の方がメチル化レベルは高いが、除菌後胃がんの非がん部もピロリ陽性検体に匹敵するメチル化異常が認められた(Figure B)。GEOの胃がんデータベースであるGSE85464の結果と統合すると、検討症例は主成分解析でやや特徴が異なってしまう結果(Figure C)であったが、クラスター解析では、除菌後例でも未除菌例でもがん部のメチル化は高度である一方非がん部では低いという同様の傾向が認められた(Figure D)。総合すると、除菌後胃がんでも高メチル化は見られ、除菌後胃がんの非がん部組織もメチル化異常は発生しており高リスク状態にある、と推測された。

メタゲノム解析については、検体内の菌が非常に少なかったことから解析感度以下となってしまう、研究続行は不可能であった。



A) 除菌後胃がん(n = 7)と非がん部(n = 9)のメチル化の比較。上が全プロンプ、下がCpG island。差が見られたtop 1000を赤で表示。

B) gene, promoter, CpG island領域におけるメチル化レベルの比較。近位promoterとCGIにおいて、がん部の方がメチル化が高い。

C) GSE85464（胃がん19例と対照非がん部19例）のデータと統合して主成分分析した結果。

D) GSE85464と統合して、変動のあったCpG islandを抽出し、クラスタリング解析した結果。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三橋 慧
2. 発表標題 ペプシノゲンIIと低分化混在早期胃癌の関連
3. 学会等名 第27回日本消化器関連学会週間（JDDW）
4. 発表年 2019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
研究分担者	山本 英一郎 (YAMAMOTO Eiichiro) (60567915)	札幌医科大学・医学部・講師 (20101)	

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1件

国際研究集会	開催年 null年
--------	--------------

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