

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K16722

研究課題名（和文）抗酸化能、DNA修復能、DNA変異量の解析による胃癌発生の新規リスク因子の同定

研究課題名（英文）Identification of novel risk factors for gastric cancer development by analysis of antioxidant capacity, DNA repair capacity, and DNA mutation levels.

研究代表者

幾瀬 圭（Ikuse, Tamaki）

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：70750876

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：胃癌の発生要因となる酸化ストレスに対する胃粘膜の抵抗力と、加齢およびピロリ菌感染がその抵抗力に及ぼす影響を評価するため、抗酸化能と酸化ストレスによるDNA損傷の修復能をヒト胃粘膜を用いて解析し、ピロリ菌感染小児・成人、ピロリ菌未感染小児・成人の4群間で比較した。そして、加齢に伴い抗酸化能とDNA修復能は低下し、ピロリ菌感染は抗酸化能を更に低下させることがわかった。従って、胃癌発生リスクの経年的増加は抗酸化物質の発現とDNA修復能の低下に起因し、ピロリ菌感染は炎症による酸化ストレスの産生のみならず抗酸化物質の発現をさらに低下させることで胃癌の発生リスクをより高めている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢により胃癌発生リスクが増大することは知られているが、加齢がどのような発がん要因をもたらすのかは判明していない。本研究の成果は、加齢に伴い発がん主因の一つである酸化ストレスへの抵抗力が失われていくことを示している。ピロリ菌感染に伴う慢性胃炎とそれによる胃粘膜変化は胃癌発生を引き起こす最たるリスクファクターであるため、現在まで胃癌発生リスクはピロリ菌感染既往の有無と胃粘膜変化の程度から評価されてきたが、胃粘膜の抗酸化能やDNA修復能は胃癌発生リスクを評価する新規のバイオマーカーとなる可能性があり、これによってピロリ菌未感染者の胃癌発生リスクをも定量化されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：To evaluate the resistance of the gastric mucosa to oxidative stress, a factor in the development of gastric cancer, and the effects of aging and *H. pylori* infection on this resistance, the antioxidant capacity and the ability to repair DNA damage caused by oxidative stress were analyzed using human gastric mucosa and compared among four groups: children and adults with *H. pylori*-infection and children and adults without *H. pylori* infection. The results showed that antioxidant capacity and DNA repair capacity decreased with age, and that *H. pylori* infection further decreased antioxidant capacity. This suggests that the increase in the risk of gastric cancer over time is due to a decrease in the expression of antioxidants and DNA repair capacity, and that *H. pylori* infection could increase the risk of gastric cancer not only by producing oxidative stress through inflammation, but also by further decreasing the expression of antioxidants.

研究分野：小児消化器学

キーワード：ヘリコバクター・ピロリ 胃癌 酸化ストレス 抗酸化物質 塩基除去修復酵素

1. 研究開始当初の背景

国内における胃がん罹患数は年間 126,149 人(2014 年がん部位別第 2 位)であり、胃がん罹患数の減少は本国における重要な健康的課題である。胃がんの大部分はヘリコバクター・ピロリ菌(以下、ピロリ菌)感染症が原因であり、ピロリ菌は除菌療法によって克服することが可能だが、除菌後であってもピロリ菌既感染者の胃がん発生リスクは未感染者よりも高いことが知られている。また近年はピロリ菌感染率の低下によってピロリ菌未感染者の胃がんの割合が相対的に増加しており注目を集めている。このような背景から、胃がんの早期発見・早期治療を実現するために、ピロリ菌現感染者、ピロリ菌除菌後既感染者、ピロリ菌未感染者のいかに関わらず、内視鏡検査などを用いた検診を 1~2 年ごとと繰り返して実施している現状がある。このような検診計画は社会の経済的負担と非検診者の身体的負担につながっており、これらを軽減することが次なる健康的課題として認識されつつある。

前述の負担を軽減するためには、「胃がんの発生リスクを客観的に評価できる指標」を用いた胃がん発生リスクの層別化によって、胃がん検診の適応を適正に改めることが必要となるが、ピロリ菌除菌後既感染者やピロリ菌未感染者を対象に含められるようなリスクの評価方法は確立されていない。これまでに開発された胃がん発生のリスク診断法にはペプシノーゲン検査を用いた ABC 検診があるが、ピロリ菌現感染による萎縮性胃炎の程度をもとにしたリスク分類であるため、ピロリ菌除菌後既感染者もしくはピロリ菌未感染者はリスク評価の対象とならない。また CEA や CA19-9 といった胃がんの腫瘍マーカーは発がん後に上昇するため、リスク評価への適用が困難である。

ピロリ菌感染のステージに依らずに胃がん発生のリスクを評価できる指標が求められている社会的背景のなかで、我々は「がんには好発年齢があるが、胃がんは年齢とともに発がんのリスクが上昇するがんである」という自明の事実に戻り、胃がんの発生が極めて稀な小児と成人との発がん抑制に関連する相違を見出すことを思い立った。そして、胃がん発生のリスク因子にはピロリ菌感染や食生活、喫煙、飲酒など、慢性的な刺激を胃内にもたらすものが多いが、これらの刺激に対する抵抗力の減弱または刺激によって生じた経年的な変化の蓄積もしくはこれらの両方が胃がんの発生には関わっていると考えた。

次に、我々はピロリ菌感染がもたらす胃がんの主たる発生素因である酸化ストレスに着目した。一般的にピロリ菌感染の大部分は 2 歳以下の幼少期に成立して慢性化し、胃粘膜に慢性炎症を引き起こす。従って、小児であってもピロリ菌感染を有する場合には慢性炎症によって生じた酸化ストレスに長期間曝されていたことになるが、前述の通り小児期の胃がんの発生はほとんどない。このような成人と小児の違いは、酸化ストレスに対する耐性の強さによるのか、酸化ストレスが引き起こした DNA 損傷の蓄積が原因なのかを明確にし、最終的には酸化ストレスに関連するマーカーを胃がん発生リスクの指標にすることを目的として、以下の研究計画を立案した。

2. 研究の目的

胃がん発生に要因となる酸化ストレスへの曝露に対する抵抗力が加齢に伴って変化するか、またピロリ菌感染は抵抗力の変化に影響を与えるかを評価することを本研究の目的とした。なお、酸化ストレスへの抵抗力は、酸化ストレスによる影響を減弱させる抗酸化物質の発現量(抗酸化能)と、酸化ストレスによって生じた DNA の損傷を修復する塩基除去修復酵素の発現量(DNA 修復能)を用いて評価した。また、塩基除去修復酵素による修復を免れて残存した DNA 変異の蓄積量も評価項目に加えた。

3. 研究の方法

順天堂大学医学部附属順天堂医院(以下、当院)を受診した患者からリクルートし、小児ピロリ菌現感染者、小児ピロリ菌未感染者、成人ピロリ菌現感染者、成人ピロリ菌未感染者を対象に、抗酸化能・DNA 修復能・DNA 変異の蓄積量の評価を患者の胃粘膜組織検体を用いて実施する。

(1) 抗酸化能の評価

抗酸化物質を誘導する Nrf2、抗酸化酵素の GPX、PRX、TRX、HO-1 の胃粘膜上での発現を当院で実施する上部消化管内視鏡検査施行時に得られた生検検体を用いて解析する。

全ての抗酸化物質の転写レベルでの発現を、定量的 PCR 法を用いて解析する。

で有意差を認めた抗酸化物質の翻訳レベルでの発現を、ウェスタンブロット法を用いて解析する。

(2) DNA 修復能の評価

酸化ストレスに伴う DNA 損傷の修復を担う塩基除去修復酵素(OGG1、MUTYH、MBD4、NTHL、NEIL1-3)の胃粘膜上での発現を(1)と同様の方法で得られた生検検体を用いて解析する。

全ての塩基除去修復酵素の転写レベルでの発現を、定量的 PCR 法を用いて解析する。

で有意差を認めた塩基除去修復酵素の翻訳レベルでの発現を、ウェスタンブロット法を用いて解析する。

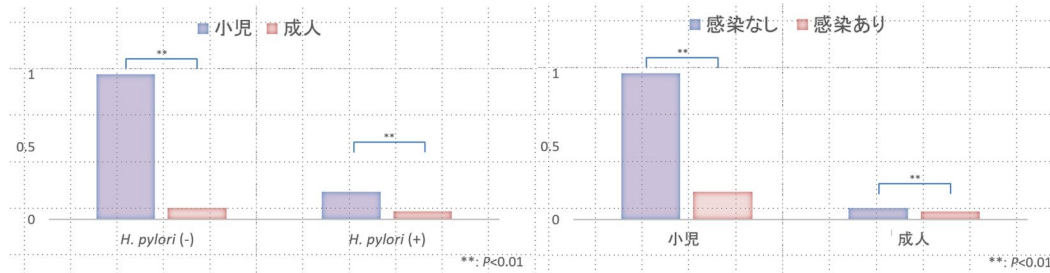
(3) 蓄積した DNA 変異の定量的解析

前述の検体を用いて、酸化ストレスを原因とする DNA 変異の程度を表す 8-OHdG、APsite の発現を競合的 ELISA 法やビオチン検出法を用いて測定し、変異の蓄積について解析する。

4. 研究成果

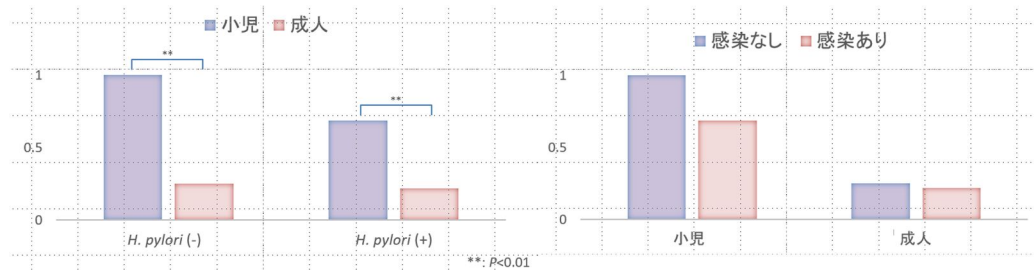
(1) 抗酸化能の評価

抗酸化物質を誘導する Nrf2 はピロリ菌現感染者、ピロリ菌未感染者のどちらにおいても、成人より小児で有意な発現量の増加が確認された。また、Nrf2 の発現をピロリ菌感染の有無で比較したところ、小児においても成人においても、ピロリ菌未感染者の方がピロリ菌既感染者よりも有意に発現が増加していた。



(2) DNA 修復能の評価

塩基除去修復酵素の OGG1 はピロリ菌現感染者、ピロリ菌未感染者のどちらにおいても、成人より小児で有意な発現量の増加が確認された。一方、OGG1 の発現をピロリ菌感染の有無で比較したところ、小児においても成人においても、ピロリ菌未感染者とピロリ菌既感染者との間で有意な発現変化は認めなかった。



以上から、一部の抗酸化能と DNA 修復能は加齢に伴って低下することが見出された。また、ピロリ菌感染は一部の抗酸化物質の発現を更に低下させることで、抗酸化能の低下をもたらしていることが示された。この結果は、胃癌発生リスクの経年的増加は抗酸化物質の発現と DNA 修復能の低下に起因し、ピロリ菌感染は炎症による酸化ストレスの産生のみならず抗酸化物質の発現をさらに低下させることで胃癌の発生リスクをより高めている可能性を示唆するものと考えられる。本研究で得られた、小児と成人、およびピロリ菌感染の有無で抗酸化能が異なるという結果は国内外において新規の知見である。今後は抗酸化能および DNA 修復能と DNA 変異の蓄積量との相関を検証することで、胃癌発生リスクの新規バイオマーカーの確立を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 幾瀬圭
2. 発表標題 加齢およびHelicobacter pylori感染症が抗酸化反応に及ぼす影響の検討
3. 学会等名 日本ヘリコバクター学会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 幾瀬圭
2. 発表標題 加齢およびH. pylori感染症に伴う抗酸化能とDNA修復能の変化
3. 学会等名 日本小児消化管感染症研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 幾瀬圭
2. 発表標題 加齢およびH. pylori感染症が引き起こす酸化ストレス耐性の変化
3. 学会等名 日本消化器病学会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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0件

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