

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08824

研究課題名（和文）TLR10の多様性に注目した胃がん発がん機構の解析

研究課題名（英文）Analysis of Gastric Carcinogenesis Mechanisms Focusing on TLR10 Diversity

研究代表者

永島 裕之（Nagashima, Hiroyuki）

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：90592840

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：Helicobacter pylori(H. pylori)のLPSの構造に注目し、Toll like receptor 10に認識されることを報告してきた。TLR10はH. pylori感染において胃がん発症、胃炎の程度に影響を及ぼすことを証明した。またその他のTLRと違いTLR10からのシグナルはAnti-inflammatoryな反応を示すことを証明した。H. pyloriのLPS以外にもBacteroides属、Akkaremansia属などでも同様の反応を示すことを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

LPSは菌の種類によって多様な形態をとるが、常在菌におけるLPSに共通の構造がTLR10に認識されている可能性を示唆する結果を得た。これまでの不明とされていたTLR10のリガンドは、実は体内に多量に存在しており、その免疫反応もAnti-inflammatoryな反応が中心であった。学術的な意義としては今後IBSやirAE腸炎などの治療薬の開発につながる可能性を示唆する結果と考えている。

研究成果の概要（英文）：We have focused on the structure of Helicobacter pylori (H. pylori) LPS and reported that it is recognized by Toll like receptor 10 (TLR10), and demonstrated that TLR10 influences gastric cancer development and the degree of gastritis in H. pylori infection. We have also demonstrated that, unlike other TLRs, signals from TLR10 show an anti-inflammatory response, and that similar responses are observed in Bacteroides, Akkaremansia, and other genera in addition to the LPS of H. pylori.

研究分野：自然免疫

キーワード：Toll like receptor LPS Helicobacter pylori Anti-inflammatory

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 臨床データから

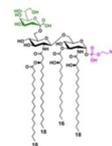
H. pylori 感染における重要な宿主因子はなにか？これが研究代表者（永島）が留学中に行った研究内容であった。研究代表者である永島は 2012 年から 2014 年までのアメリカ留学で宿主と *H. pylori* の関係についての研究を行った。そこで TLR10 が *H. pylori* 感染において重要な働きをしていることを報告した。(JID 2015)。その他にも GWAS を用いた解析で TLR10 の Locus が *H. pylori* 感染において感染感受性遺伝子として報告された。臨床データとしての TLR10 と *H. pylori* 感染の関係は多く報告されるようになった。

(2) 分子レベルのデータ

TLR10 は数ある TLR の中で唯一リガンドが不明な TLR であった。しかしわかっていたこととしては TLR1, TLR6 と同様の構造を有しており何らかの脂質成分を認識すると考えられていた。また TLR2 と Dimer を形成するものと考えられていた。しかし研究代表者が研究を始めた段階では、依然リガンドが不明な TLR と考えられていた。

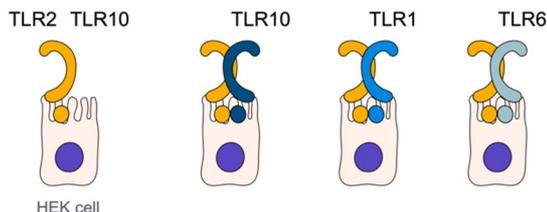
以上のことから臨床データからは TLR10 と *H. pylori* の関係を示唆するデータは揃っていたものの、分子レベルでの関係性についてはわかっていなかった。*H. pylori* の何らかの Component が TLR10 に認識されていることが予想された。

これらを総合的に考えると疾患感受性遺伝子である TLR10 のリガンドを証明することが、*H. pylori* の重要な宿主因子を求めることにつながると仮説を立てた。



(3) 研究代表者の研究状況

研究代表者（永島）はこれまで消化器内科医として、札幌医大第 4 内科（現腫瘍内科）に所属し、臨床研修を行ったあと 2012 年よりアメリカの Houston にあるベイラー医科大学に留学する機会を得た。そこで Graham 教授の指導のもと、*H. pylori* 感染に関する研究を行ってきた。帰国後同様の研究を行っていた札幌医科大学微生物学教室 横田伸一教授の研究室で研究を行う了承を得た。横田教授は *H. pylori* の LPS と TLR の研究を行っており、すでに同様の論文も作成されていた。同教室には細菌感染の研究に従事している Ph.D. である山本総助教、白石宗助教の協力の元 *in vitro* の研究も行える環境が整った。



2. 研究の目的

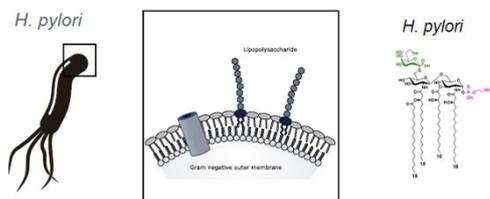
(1) In vitro の研究

H. pylori のどの Component が TLR10 に認識されているかを明らかにすること。
H. pylori LPS が TLR10 に認識されるか

具体的に注目したのは *H. pylori* の LPS である。これまでは *H. pylori* LPS は TLR2 に認識されることは報告されていたが、TLR10 が関与しているかどうかはわかっていなかった。

(2) 臨床検体での TLR10 の関与

TLR10 の遺伝子多型で *H. pylori* 感染における炎症反応に違いがあるかを明らかにすること。



3. 研究の方法

(1) HEK Cell に TLR を transfection し、リガンド候補である *H. pylori* LPS を投与したとき

に、どのような免疫反応をするかを解析した。

H. pylori LPS については TLR のリガンドを解析する際にコンタミネーションが問題となることから、リポ蛋白の合成技術を有する大阪大学 深瀬教授から合成された *H. pylori* LPS を頂いた。

(2) 臨床検体

胃粘膜生検組織から、DNA, RNA を抽出し、TLR10 SNP(rs10004195)と胃粘膜における、mRNA を測定する。TLR10 SNP によって胃炎の組織学的スコア(Sydney 分類)、遺伝子発現量に違いがあるかを解析した。



生検組織から

・病理 Sydney 分類

・ DNA : TLR10 SNPs (rs10004195)

・ RNA IL-8 IL-10測定

4 . 研究成果

(1) *H. pylori* LPS は TLR2/TLR10 の hetero dimer に認識される

上記の方法で Nf-kB の活性を測定したところ *H. pylori* LPS は TLR2/TLR10 をトランスフェクションした際に活性を最も認めた。

この結果からこれまで不明であった TLR10 のリガンドは *H. pylori* の LPS であることが証明された。

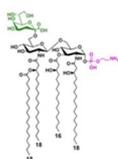
また同様の免疫反応は *Bacteroides fragilis*, *Akkermansia* でも認められた。これらの菌の LPS は腸内細菌に多く認められる共通した構造である。

(2) TLR10 SNPs と胃炎スコア、遺伝子発現量の違い

AA と AT+TT allele を比較したところ、感染率(37%: 55%)で有意差を認めた。その他胃炎スコアである Sydney 分類では、腸上皮化生のスコアに有意差を認めた。

遺伝子発現量においては IL-8 の発現量に優位差を認めた。

TLR10 SNP によって *H. pylori* 感染症の個人差を示すことが示唆された。



TLR10



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

| | |
|---|-------------------|
| 1. 著者名 Sagawa Tamotsu, Sato Yasushi, Nagashima Hiroyuki, Takada Kohichi, Takahashi Mamoru, Hirakawa Masahiro, Hamaguchi Kyoko, Tamura Fumito, Fujikawa Koshi, Okamoto Koichi, Kawano Yutaka, Sogabe Masahiro, Miyamoto Hiroshi, Takayama Tetsuji | 4. 巻 14 |
| 2. 論文標題 Hilar/mediastinal and cutaneous drug-induced sarcoidosis-like reaction associated with immune checkpoint inhibitors in metastatic colorectal cancer: a case report | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Immunology | 6. 最初と最後の頁 1-6 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2023.1203621 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Kubo Tomohiro, Muramatsu Joji, Arihara Yohei, Murota Ayako, Ishikawa Kazuma, Yoshida Makoto, Nagashima Hiroyuki, Tamura Fumito, Ikeda Yuki, Usami Makoto, Ono Michihiro, Nakamura Hajime, Watanabe Daichi, Shibata Takanori, Kasahara Kaoru, Sakurai Akihiro, Takada Kohichi | 4. 巻 54 |
| 2. 論文標題 Clinical characterization of patients with <i>g</i> <i>BRCA1/2</i> mutation-positive unresectable pancreatic cancer: a multicenter prospective study | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology | 6. 最初と最後の頁 47~53 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyad131 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------|
| 1. 著者名 Sagawa Tamotsu, Sato Yasushi, Hirakawa Masahiro, Hamaguchi Kyoko, Tamura Fumito, Nagashima Hiroyuki, Fujikawa Koshi, Okamoto Koichi, Kawano Yutaka, Sogabe Masahiro, Miyamoto Hiroshi, Takayama Tetsuji | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Case Report: Longitudinal monitoring of clonal evolution by circulating tumor DNA for resistance to anti-EGFR antibody in a case of metastatic colorectal cancer | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Oncology | 6. 最初と最後の頁 1-7 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2023.1203296 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------|
| 1. 著者名 Takada Kohichi, Kubo Tomohiro, Kikuchi Junko, Yoshida Makoto, Murota Ayako, Arihara Yohei, Nakamura Hajime, Nagashima Hiroyuki, Sakurai Akihiro | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Effect of comprehensive cancer genomic profiling on therapeutic strategies and clinical outcomes in patients with advanced biliary tract cancer: A prospective multicenter study | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Oncology | 6. 最初と最後の頁 1-12 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2022.988527 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Ono Takaaki, Cruz Modesto, Nagashima Hiroyuki, Subsomwong Phawinee, Akada Junko, Matsumoto Takashi, Uchida Tomohisa, Suzuki Rumiko, Hosking Celso, Abreu Jos? A Jim?nez, Yamaoka Yoshio | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Discovery of unique African <i>Helicobacter pylori</i> CagA-multimerization motif in the Dominican Republic | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology | 6. 最初と最後の頁 7118 ~ 7130 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v26.i45.7118 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

[学会発表] 計1件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hiroyuki Nagashima, Fumito Tamura, Masahiro Hirakawa, Atsushi Iwakubo, Tamotsu Sagawa, Koshi Fujikawa |
| 2. 発表標題 Percentage of Bacteroides species in microbiome affect therapeutic efficacy of immune checkpoint inhibitors for hepatocellular carcinoma. |
| 3. 学会等名 DDW 2024 (Washington DC) poster presentation (国際学会) |
| 4. 発表年 2024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 聡 (Yamamoto Soh) (10588479) | 札幌医科大学・医学部・助教 (20101) | |
| 研究分担者 | 加藤 淳二 (Kato Junji) (20244345) | 札幌医科大学・医学部・教授 (20101) | |
| 研究分担者 | 白石 宗 (Shiraishi Tsukasa) (70725168) | 札幌医科大学・医学部・助教 (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 |
|---------|---------|
|---------|---------|