

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22300169

研究課題名（和文）アパタイトナノキャリアを用いた胃癌のマイクロ RNA 治療の開発

研究課題名（英文）The microRNAs for the diagnosis and treatment of upper gastro-intestinal malignancy - application of apatite-nanocarrier -

研究代表者

鈴木 秀和 (SUZUKI HIDEKAZU)

慶應義塾大学・医学部・准教授

研究者番号：70255454

研究成果の概要(和文)：マイクロ RNA (以下、miRNA)は、腫瘍促進あるいは抑制遺伝子に作用して、腫瘍発生や進展を制御するため、その発現プロファイルとその修飾は、癌診への応用が期待できる。さて、実際に応用するには、細胞質への移行性が重要で、本研究ではキャリアとして炭酸アパタイトナノ粒子を用いた。1) *miR-29c* 発現は胃癌の進展に伴い低下し、その標的、*Mcl-1* 発現は上昇した。*pre-miR-29c* 導入でも *Mcl-1* の発現は低下した。2) *API2-MALT1* 陽性除菌抵抗性胃 MALT リンパ腫で *miR-142* と *miR-155* の発現が著明に上昇し標的の *TP53INP1* 発現は抑制された。*miR-142*、*miR-155* の過剰発現が *TP53INP1* 発現の抑制を介し MALT リンパ腫発生の一因となることが示唆された。3) miRNA プロモーターアレイを用いた ChIP on chip 法により、エピジェネティック修飾をもつ 22 の miRNAs を同定し、この中のがん抑制 miRNA、*miR-9* 発現は胃癌部で有意に低下した。4) *miR-375* 導入により、胃癌細胞 MKN74 のシスプラチン(CDDP)や 5-fluorouracil(5-FU)に対する感受性が有意に増強された。CD44v9 発現がん幹細胞では、*miR-375* を減少させることで CDDP、5-FU 耐性を獲得した。5)胆汁酸は、*miR-221/222* の発現を上昇させ、標的である p27<sup>Kip1</sup> を減少させ、proteasome 分解系を介した CDX2 分解を促進すると考えられた。Anti-*miR-221/222* により食道腺がん細胞株 OE33 で、CDX2 量の上昇とともに細胞増殖が抑制された。以上のように、miRNA は、がんの進展に関与する分子機序に関連し、その制御により、腫瘍を抑制できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： The microRNAs (miRNAs) regulate both tumor development and progression by acting on tumor promoter or suppressor genes. Here, a delivery mechanism to introduce miRNA into the cytoplasm by using apatite nanoparticle is applied. 1) An miRNA microarray analysis revealed that *miR-29c* expression was significantly downregulated in gastric cancer tissues. Downregulation of *miR-29c* expression was more prominent in advanced gastric cancers. The expression of the oncogene *Mcl-1*, a target of *miR-29c*, was then significantly increased in gastric cancer tissues. An increase in *miR-29c* levels by *pre-miR-29c* loading suppressed *Mcl-1* expression and induced apoptosis in gastric cancer cells. 2) The expression of *miR-142-5p* and *miR-155* was significantly increased in *API2-MALT1*-positive MALT lymphomas, which are resistant to *H. pylori* eradication. The expression of the proapoptotic *TP53INP1*, a target of *miR-142* and *miR-155*, was significantly attenuated in *API2-MALT1*-positive MALT lymphoma. 3) To identify epigenetically regulated miRNAs, we used ChIP-on-chip assay to develop a novel miRNA promoter microarray and assayed for miRNAs regulated by histone modification. Among these miRNAs, *miR-9*, a known tumor suppressor, is downregulated in gastric cancer. 4) By introducing *miR-375* to MKN74 cells, chemosensitivity to cisplatin (CDDP) or 5-fluorouracil (5-FU) was significantly enhanced. CD44v9-expressing stem cells was resistant to CDDP or 5-FU through the reduction of *miR-375*. 5) Bile acid enhanced the expression of *miR-221/222*, reduced p27Kip1, and then degraded CDX2. Anti-*miR-221/222* loading in esophageal adenocarcinoma cells enhanced CDX2 protein levels and inhibited cell proliferation. Taken together, these findings suggest that miRNAs can influence molecular processes involved in the progression of gastric or lower esophageal cancer, and the efficient control of miRNA expression may be a novel therapeutic anti-cancer approach.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2011年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2012年度	3,100,000	930,000	4,030,000
総計	12,400,000	3,720,000	16,120,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：マイクロRNA、アパタイトナノキャリア、がん遺伝子、胃がん、担がん動物、細胞内導入

### 1. 研究開始当初の背景

これまでの多くの研究では蛋白をコードする遺伝子のみが注目されてきたが、これらの遺伝子はヒトゲノムのわずか 2-3%を占めるにすぎない。残りの領域は蛋白をコードしない不要部分と考えられていた。しかし、近年の研究から、こうした非コード領域にもマイクロRNA(miRNA)をはじめとするヒトの疾患に関わる重要な遺伝子が隠されていることが明らかになってきた。miRNAは、21-25塩基のsmall RNAで、遺伝子発現を抑制的に制御し、発生分化やがんなどの疾患で、発現プロファイルを変化させ、遺伝子発現を調節する。とくに、miRNAの発現プロファイルは、通常のmRNAよりも鋭敏に腫瘍発生を反映する(Nature 435:834, 2005)。

一方、エピジェネティクスとは、塩基配列の変化を伴わずに遺伝子発現の変化をもたらすクロマチン構造の変化で、DNAメチル化やヒストン修飾があげられる。こうしたクロマチンの構造変化は通常可逆的で、これがジェネティック変化とは決定的に異なる点で、DNAメチル化阻害薬やヒストン脱アセチル化酵素阻害薬などによりがん化の状態にある細胞を通常状態に戻すことが可能であると考えられる。研究分担者の斎藤はmiRNAのプロモーター領域にCpG配列の豊富なDNA領域が存在する場合、エピジェネティック治療によりmiR-127発現が活性化され、標的がん遺伝子、BCL6発現を抑制する機序を膀胱がんでは報告した(Cancer Cell 9: 435, 2006; Cell Cycle 19: 2220, 2006)。

さて、miRNAを治療応用するには、細胞質への移行性が問題となる。研究分担者の赤池は、pH感受性を有する炭酸アパタイトナノ粒子に細胞を認識する分子を付与したキャリアを開発し、これを用い細胞にDNA、siRNAや低分子量薬物を導入することに成功した。このナノ粒子は核酸に高親和性を示す一方、エンドソーム内の酸性条件下では迅速に溶解し、「プロトンスポンジ効果」によって細胞質中への核酸放出を促進させるという特徴を有し、この過程での最終核酸発現量は既法の100倍以上に達する。miRNA、anti-miRNA oligonucleotideを、このアパタイトナノ粒子に搭載することで、効率的に胃がん細胞に導入することが可能になる。なお、胃がんは、上部消化管内視鏡で直接的にアプローチする

ことができ、将来的には、内視鏡下局注針によるmiRNA治療の実現性も高い。

さて、胃がんにおけるmiRNA、anti-miRNAの治療効果を検討するために、ヒト胃がんを移植した動物モデルでの検討が必要である。NOGマウス(NOD/Shi-scid, IL-2RγKOマウス)は、研究分担者の大西らが2000年に樹立したT, B, NK細胞が欠損した重度複合免疫不全マウスで、異種細胞の受容性は、従来の免疫不全マウスを圧倒的に凌駕しており、将来的には個別の患者胃がん細胞を移植し、テーラーメイド治療の検討が可能と考えられる。本研究では、miRNAの分子病理学的知見を基盤に、NOGマウスに移植したヒトがん塊も評価系とする。

### 2. 研究の目的

胃がんや食道がんでもmiRNA発現プロファイルや標的がん遺伝子の発現調節機序も次々に解明されてきている。多彩な病理所見を呈する消化器がんには、このような多方向性の分子治療が最適で、miRNAを標的とした治療が期待されているが、合成miRNAやanti-miRNAを効率的にがん細胞に作用させるには技術的障壁があった。本研究では、miRNAの胃がん、食道腺がんでの発現プロファイルを解明し、miRNA、anti-miRNAを生体物質でもあるアパタイトのナノ粒子に搭載し、特異的核酸デリバリーによる治療応用基盤を構築する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 胃の悪性腫瘍の発生・進展に関連したmiRNAの探索

胃の腫瘍性病変(胃腺腫、胃がん、胃MALTリンパ腫)の患者より十分なインフォームド・コンセントを得て、病変組織ならびに正常粘膜組織を採取し(慶應義塾大学医学部倫理委員会承認No. 18-96-2; No.19-68-4)、マイクロRNAの発現変化をマイクロアレイおよび定量的PT-PCRによって網羅的に解析した。有意な発現変化のみられたmiRNAについては、個々の臨床情報との相関を解析し、その標的遺伝子についても検討した。

#### (2) miRNAプロモーターアレイによるエピジェネティック変化で制御されるmiRNAの同定

英国サンガー研究所のデータベース (<http://microrna.sanger.ac.uk>) の情報から miRNA のプロモーター領域を想定し、それらの配列を搭載した DNA マイクロアレイを独自に開発した。胃癌細胞株 AGS を DNA メチル化阻害薬 5-Aza-CdR とヒストン脱アセチル化阻害薬 4-Phenylbutyric acid (PBA) にて処理し、アセチル化ヒストン H3 抗体、メチル化ヒストン H3 リジン 4 抗体を用いたクロマチン免疫沈降 (ChIP) とマイクロアレイ解析を組み合わせた ChIP on chip 解析を行った。これにより、エピジェネティック変化で制御されている胃癌関連 miRNA を同定した。

### (3) 炭酸アパタイトナノキャリアによる miRNA の細胞内導入

pre-miRs の細胞内導入に際し、研究分担者の赤池らが開発した、細胞障害性が極めて少なく細胞内蛋白への影響も少ない炭酸アパタイトナノキャリア (生分解性、多機能性ナノ粒子) を用い、胃癌で発現低下が既に報告されている miR-375、miR-152 を AGS や分化型胃癌細胞株 MKN74 に導入した。本系で、がん細胞の分化度や miRNA 自体の違いによる導入効率を比較した。

### (4) miR-375 の細胞内導入と、がん幹細胞

胃癌組織で発現低下する miR-375 は、胃癌細胞 MKN74 に導入すると、直接標的である PDK1 の翻訳を抑制し、PI3K-Akt 系を抑制し、細胞増殖を抑制することが報告されており、発がん抑制に関与すると考えられる。本研究では、miR-375 を MKN74 に導入し、シスプラチン (CDDP)、5-fluorouracil (5-FU) 投与下での細胞障害性、アポトーシス誘導性を検討した。

胃癌において、がん幹細胞 (cancer stem cell) の表面マーカーである CD44 は、近年、その splicing variant である CD44 variant 9 (CD44v9) の治療抵抗性への関連が注目されている。CD44v9 発現で、細胞膜上のシスチン輸送体が安定化し、細胞内へのシスチンの取り込みが増加し、還元型 glutathione が上昇し、活性酸素種 (ROS) 抵抗性獲得につながることを報告されている (Cancer Cell 19(3):387, 2011)。本研究では、CD44 陰性胃癌細胞株にこの CD44v9 強制発現させた細胞を用い、CDDP 或いは 5-FU 投与下での細胞障害性、miR-375 発現誘導性を評価した。

### (5) 食道腺がん細胞の miR-221/222 発現

食道扁平上皮細胞株 HET-1A に CDX2 発現ベクター導入細胞 (HET1A+Cdx2) と mock ベクター導入細胞 (HET1A+LacZ) を作製し、コール酸曝露下に、細胞増殖能、CDX2 蛋白量の変化、及び CDX2 分解を抑制する p27<sup>Kip1</sup>、とその標的の miR-221/222 の発現を比較した。また、食道腺がん細胞 OE33 或いは NOG マウスの背

部皮下移植腫瘍塊にて、アパタイトナノキャリアを用い、Anti-miR-221/222 の導入効果を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) ① miR-29c 発現低下と胃癌進展

miRNA アレイによる miRNA 発現の網羅的解析により、miR-29c 発現が非がん部に比べ胃癌組織で有意に低下していた。さらに、miR-29c 発現が、前がん病変である胃腺腫から早期胃癌へと進行する過程で低下し、さらに進行胃癌では早期胃癌よりも顕著に低下することを確認した。さらに miR-29c の標的遺伝子の一つである Mcl-1 の発現が進行胃癌で上昇しており、miR-29c の発現低下が Mcl-1 を活性化して胃癌に重要な役割を果たしていることが考えられた。また、pre-miR-29c の細胞内導入でも Mcl-1 発現が低下した。胃癌細胞において miR-29c の活性化が Mcl-1 発現抑制を介してアポトーシスを誘導することを確認した。

### (1) ② MALT リンパ腫における miR-142-5p、miR-155 の発現変化と除菌治療への反応

胃 MALT リンパ腫の約 70% の症例で *H. pylori* 除菌治療により胃 MALT リンパ腫の寛解を認めるが、病変部で *API2-MALT1* キメラ遺伝子が存在すると除菌効果が低い。胃 MALT リンパ腫で miRNA 発現プロファイルを解析すると、*API2-MALT1* キメラ遺伝子陽性の除菌治療抵抗性胃 MALT リンパ腫では、miR-142、miR-155 の発現が著明に上昇していた。また、除菌治療で完全寛解 (complete remission: CR) を示したグループに比べ、除菌治療抵抗性 (no change: NC) であった群では、miR-142、miR-155 の発現が有意に上昇していた。さらに、これら miRNA の標的である TP53INP1 の発現抑制を認めた。miR-142 は造血系細胞特異的 miRNA で、miR-155 は腫瘍特異的 miRNA である。miR-142、miR-155 の過剰発現ががん抑制遺伝子、TP53INP1 発現の抑制を介して *API2-MALT1* 陽性胃 MALT リンパ腫発生の一因となっていることが示唆された。

### (2) ChIP on chip 解析によるエピジェネティクス変化で制御される miRNA の同定

マイクロ RNA プロモーターアレイを用いた ChIP on chip 解析法を独自に開発した。ChIP on chip 解析にて、アセチル化ヒストン H3 及びメチル化ヒストン H3 リジン 4 の有意なシグナル上昇を認め、かつ CpG アイランドを有している 22 のマイクロ RNA を同定した。

本解析により同定されたエピジェネティクス変化で制御される miRNA 候補の中で、転移性がんや乳がんにてがん抑制 miRNA として機能することが報告されている miR-9 に注目した。胃癌検体を用いた検討では、miR-9 発現が非がん部胃粘膜に比べ胃癌組織で有意に低下し

ていた。さらに胃がん細胞株を、DNA メチル化阻害薬 5-Aza-CdR 及びヒストン脱アセチル化阻害薬 4-Phenylbutyric acid (PBA) で処理することで、*miR-9* の著明な発現上昇を認めた。

### (3) 炭酸アパタイトナノ粒子による *miRNA* の細胞内導入

*pre-miR-375* 導入で、AGS での *miR-375* 発現は  $4 \times 10^5$  倍に上昇した。一方、*miRNA* 挿入 vector を用いた長期発現系では、*miR-375* 発現は AGS で 2000 倍、MKN74 で 8 倍、*miR-152* の発現は、AGS、MKN74 共に 7,000 倍に上昇した。つまり、がん細胞の分化度や *miRNA* の違いで導入効率が異なることがわかった。

### (4) *miR-375* の細胞内導入と、がん幹細胞

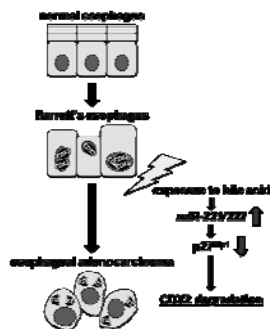
*miR-375* 導入胃がん細胞 MKN74 では、CDDP の IC<sub>50</sub> が control の 60% に減少し、アポトーシスが促進された。しかし、siPDK1 導入では CDDP 感受性は変化せず、異なる標的を介すと考えられた。つまり、*miR-375* は、胃がん抑制だけでなく、CDDP の抗がん作用も増強した。さらに、5-FU に対する感受性も、*miR-375* 導入細胞では control と比較し有意に増強され、胃がん化学療法における *miR-375* の有用性が示された。

CD44v9 強制発現細胞では、CDDP、5-FU 耐性を獲得した。この際、CDDP、5-FU 投与後に誘導される *miR-375* を評価すると、CD44v9 発現細胞では誘導率が低下しており、この耐性獲得機序に関与することが示唆された。つまり、*miR-375* 導入は、がん幹細胞も含めた治療抵抗性胃がんの化学療法の感受性を上げる、新たな治療オプションとなりうる可能性が考えられた。

### (5) 食道腺がん細胞での *miR-221/222* の検討

コール酸曝露で HET1A+LacZ で細胞増殖は抑制されたが、HET1A+Cdx2 では促進され、HET1A+Cdx2 中で、CDX2 量はコール酸の濃度依存性に減少、*miR-221/222* の発現は上昇、p27<sup>Kip1</sup> 発現は低下した。胆汁酸は、*miR-221/222* の発現を上昇させ、標的である p27<sup>Kip1</sup> を減少させ、proteasome 分解系を介した CDX2 分解を促進すると考えられた。また、食道腺がん細胞

OE33 或いは NOG マウスの背部皮下移植腫瘍塊での、アパタイトナノキャリアを用いた *miR-221/222* 機能阻害でも CDX2 量の上昇とともに細胞増殖が抑制された。特異的阻害で細胞増殖が抑制された。つまり、



図：食道腺がん発がん過程における *miR-221/222* の役割

*miR-221/222* は、食道腺がんの新たな分子標的になりうると考えられた。

## 考察

*miRNA* は長さ 21-25 塩基程度であるために非常に安定性が高く、mRNA よりも *miRNA* の発現プロファイルが鋭敏に腫瘍の状態を反映する。そのため、胃がん、胃 MALT リンパ腫、食道がんの診断や再発の有無、進行胃がんの悪性度や転移・予後を *miRNA* 発現で予想出来ることが期待されている。

本研究では、胃腫瘍性病変における *miRNA* 発現プロファイルが組織所見や治療に対する反応性と有意に相関し、診断や予後評価に有効であることが示された。胃がんにおける *miR-29c*、胃 MALT リンパ腫における *miR-142*、*miR-155* が病変の新たな分子マーカーや治療標的となることが期待される。さらに *miRNA* の ChIP on Chip という新たな方法によって、エピジェネティック機序で制御されている *miRNA* が同定されたが、その中で、がん抑制 *miRNA*、*miR-9* は胃がんが発現が低下しており、エピジェネティック治療で活性化することから、胃がんの診断・治療の新たな標的となる可能性が示唆された。

正常食道上皮からバレット食道の形成過程で、重要と考えられる胆汁酸は、腸上皮の NF- $\kappa$ B を活性化させ、CDX2 発現を増強させることが報告されている。今回、胆汁酸(コール酸)が CDX2 の分解促進にも寄与することを証明し、バレット食道から食道腺がん発生過程にも重要であることを示した。*miR-221/222* は p27<sup>Kip1</sup> の翻訳を抑制し、腫瘍の増殖を促す“oncomiR”であるが、CDX2 の蛋白分解を *miR-221/222* が促進的に作用することも示され、バレット腺がんの悪性化の指標や治療標的分子としての有用性が期待される。

このように、*miRNA* は、内在性の siRNA ともいえ、がん治療薬の新たな標的として大きな注目を集めている。エピジェネティック治療で元来、生体に存在する *miRNA* 発現を制御することも可能で、従来の外来性 siRNA などを用いた遺伝子治療よりも安全性の点で格段に優れると考えられる。

本研究の成果が現行の化学療法でも効果の得られない進行胃がんに対する新たな治療戦略につながることを期待される。

## 5. 主な発表論文等 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 18 件)

1. Suzuki, H., Moayyedi, P. *Helicobacter pylori* infection in functional dyspepsia. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 10(3):168-74, 2013. 10.1038/nrgastro.2013.9.【査読有】
2. Nishizawa, T., Suzuki, H. The role of microRNA in gastric malignancy. *Int. J. Mol. Sci.* 14(5):9487-9496, 2013. 10.3390/ijms14059487 【査読有】

3. Saito, Y., Suzuki, H., Kanai, Y., et al. (10名中1番目、2番目、8番目) The tumor suppressor *microRNA-29c* is downregulated and restored by celecoxib in human gastric cancer cells. **Int. J. Cancer** 132(8):1751-60, 2013. 10.1002/ijc.27862. 【査読有】
  4. Suzuki, H., et al. (5名中1番目) Roles of oxidative stress in stomach disorders. **J. Clin. Biochem. Nutr.** 50(1):35-39, 2012. 10.3164/jcbn.11-115SR. 【査読有】
  5. Tsugawa, H., Suzuki, H., et al. (5名中2番目) FecA1, a bacterial iron transporter, determines the survival of *Helicobacter pylori* in the stomach. **Free Radic. Biol. Med.** 52(6):1013-1010, 2012. 10.1016/j.freeradbiomed.2011.12.011. 【査読有】
  6. Yahiro, K., Suzuki, H., et al. (11名中7番目) Low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1) mediates autophagy and apoptosis caused by *Helicobacter pylori* VacA. **J. Biol. Chem.** 287(37):31104-15, 2012. 10.1074/jbc.M112.387498. 【査読有】
  7. Saito, Y., Suzuki, H., et al. (9名中1番目、2番目) Development of a novel *microRNA* promoter microarray for CHIP-on-chip assay to identify epigenetically regulated microRNAs. **Biochem. Biophys. Res. Com.** 426(1):33-37, 2012. 10.1016/j.bbrc.2012.08.012. 【査読有】
  8. Saito, Y., Suzuki, H., et al. (11名中1番目、2番目) Overexpression of *miR-142-5p* and *miR-155* in gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma resistant to *Helicobacter pylori* eradication. **PLoS One** 7(11):e47396, 2012. 10.1371/journal.pone.0047396. 【査読有】
  9. Tsugawa, H., Suzuki, H., et al. (9名中2番目) *Helicobacter pylori* CagA degradation by reactive oxygen species-mediated autophagy is escaped in CD44 variant-expressing cancer stem-like cells. **Cell Host Microbe.** 12(6):764-777, 2012. 10.1016/j.chom.2012.10.014. 【査読有】
  10. Fujii, Y., Suzuki, H., et al. (8名中3番目) CDX1 confers intestinal phenotype on gastric epithelial cells via induction of stemness-associated reprogramming factors SALL4 and KLF5. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 109(50):20584-20589, 2012. 10.1073/pnas.1208651109. 【査読有】
  11. Tsugawa, H., Suzuki, H., Saito, Y., et al. (8名中2番目、6番目) Two amino acids mutation of Ferric uptake regulator (Fur) determines *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole. **Antioxid. Redox Signal.** 14(1):15-23, 2011. 10.1089/ars.2010.3146. 【査読有】
  12. Saito, Y., Suzuki, H., et al. (7名中1番目、2番目) Dysfunctional gastric emptying with downregulation of muscle-specific microRNAs in *Helicobacter pylori*-infected mice. **Gastroenterology** 140(1):189-198, 2011. 10.1053/j.gastro.2010.08.044. 【査読有】
  13. Matsuzaki, J., Suzuki, H., Saito, Y., et al. (7名中2番目、4番目) Etiological difference between ultrashort-segment Barrett's esophagus and short-segment Barrett's esophagus in Japan. **J. Gastroenterol.** 46(3):332-8, 2011. 10.1007/s00535-010-0353-y. 【査読有】
  14. Suzuki, H., et al. (4名中1番目) Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter** 16(Suppl.1):65-69, 2011. 10.1111/j.1523-5378.2011.00883.x. 【査読有】
  15. Imaeda, H., Suzuki, H., Saito, Y., et al. (9名中3番目、4番目) Effect of lansoprazole versus roxatidine on prevention of bleeding and ulcer healing after endoscopic submucosal dissection for superficial gastric neoplasia. **J. Gastroenterol.** 46(11):1267-72, 2011. 10.1007/s00535-011-0447-1. 【査読有】
  16. Saito, Y., Suzuki, H., et al. (8名中1番目、2番目) MicroRNAs in hepatobiliary and pancreatic cancers. **Front. Gene.** 2:66, 2011. 10.3389/fgene.2011.00066. 【査読有】
  17. Matsuzaki, J., Suzuki, H., Saito, Y., et al. (7名中2番目、4番目) Gallstones increase the prevalence of Barrett's esophagus. **J. Gastroenterol.** 45(2):171-8, 2010. 10.1007/s00535-009-0153-4. 【査読有】
  18. Hirata, K., Suzuki, H., Saito, Y., et al. (8名中2番目、6番目) Contribution of efflux pumps to clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. **J. Gastroenterol. Hepatol.** 25(s1):S75-79, 2010. 10.1111/j.1440-1746.2009.06220.x. 【査読有】
- 〔学会発表〕(計18件)
1. Suzuki, H., et al. Resistance to oxidative stress is a principal pathway for the survival and disease development of *Helicobacter pylori*. "Helicobacter pylori and Tissue Injury" 7<sup>th</sup> International Symposium on Cell/Tissue Injury and Cytoprotection/Organoprotection, Honolulu, USA, Sept. 11, 2012.
  2. Suzuki, H. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. Symposium 7 "Helicobacter pylori -Pathogenesis & Clinical Manifestation-" The 14<sup>th</sup> Meeting of International Conference on Ulcer Research (ICUR), Tokyo, Japan, July 13, 2012.
  3. Tsugawa, H., Suzuki, H., et al.: Specific amino acid mutation of p53 enhanced the stability of intracellular *cagA* by inhibiting autophagy induction. AGA Research Forum, DDW2012, San Diego, USA, May 21, 2012.
  4. Saito, Y., Suzuki, H., et al. Dysfunctional gastric emptying with downregulation of muscle-specific microRNAs in *Helicobacter pylori*-infected mice. The 2nd Asian Pacific Topic Conference, Asian Pacific *Helicobacter pylori* Meeting 2012, Kuala Lumpur, Malaysia, Jan 13-15, 2012.
  5. Matsuzaki, J., Suzuki, H., Saito, Y., and Akaike, T., et al. Proliferation of *cdx2*-expressing human esophageal cells is enhanced by bile acid with upregulation. UEGW2011, Stockholm, Sweden October

- 25, 2011.
6. Tsugawa, H., **Suzuki, H.**, et al.: H. pylori-Derived Oncoprotein, CagA, is Degraded by Autophagy in Human Gastric Epithelial Cells. **AGA Research Forum DDW2011**, Chicago, USA, May 7, 2011.
  7. **Suzuki, H.**, **Saito, Y.**, et al.: Enhanced Expression of *MicroRNA-142-5p* and *MicroRNA-155* and Suppressed Expression of *Tp53inp1* Would Be Novel Molecular Biomarkers for Gastric Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (MALT) Lymphoma, Resistant to *H. pylori* Eradication. **AGA Research Forum DDW2011**, Chicago, USA, May 7, 2011.
  8. **Suzuki, H.**, **Saito, Y.**, **Kanai, Y.**, et al.: Activation of the tumor suppressor *microRNA-29c* by the selective cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib in human gastric cancer. **AGA Research Forum DDW2011**, Chicago, USA, May 9, 2011.
  9. **Suzuki, H.**, **Saito, Y.**, **Kanai, Y.**, et al.: Upregulation of oncogenic *microRNA-21* followed by the downregulation of the tumor suppressor *microRNA-29c* in the progression of human gastric cancer. **UEGW2010** Barcelona, Spain, Oct. 25, 2010.
  10. **Suzuki, H.** (invited): Gastric cancer development – from the aspects of sonic hedgehog and *microRNAs* -. **Gachon International Gastric Cancer Symposium 2010**, Incheon, Korea, Oct. 9, 2010.
  11. **Suzuki, H.** (invited), **Saito, Y.**, et al.: Nitric oxide involvement in gastric disorders. **Symposium SP-04 “Nitrosative stress in the gastrointestinal tract”, The 6<sup>th</sup> International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide**, Kyoto, Japan, Jun. 15, 2010.
  12. **Suzuki, H.** (invited): Gastric Cancer Screening in Japanese. **ASGE Clinical Symposium DDW2010**, New Orleans, USA, May 1-5, 2010.
  13. **Saito, Y.**, **Suzuki, H.**, et al.: Overexpression of *miR-142-5p* and *miR-155* and suppression of tumor protein 53-induced nuclear protein 1 in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. **AGA Research Forum DDW2010**, New Orleans, USA, May1-5, 2010.
  14. **Saito, Y.**, **Suzuki, H.**, et al.: Chronic infection with *Helicobacter pylori* induces downregulation of muscle-specific microRNAs and smooth muscle hypertrophy of the mouse stomach. **AGA Research Forum DDW2010**, New Orleans, USA, May1-5, 2010.
  15. Tsugawa, H., **Suzuki, H.**, **Saito, Y.**, et al.: Induction of *H. pylori* resistance to metronidazole through enhanced expression of a bacterial efflux pump. **AGA Research Forum DDW2010**, New Orleans, USA, May1-5, 2010.
  16. Tsugawa, H., **Suzuki, H.**, **Saito, Y.**, et al.: The role of the Ferric uptake regulator (Fur) in *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole. **AGA Topic Forum DDW2010**, New Orleans, USA, May1-5, 2010.
  17. Matsuzaki, J., **Suzuki, H.**, **Saito, Y.**, et al.: Caudal-related homeobox 2 (Cdx2) suppresses stratification of esophageal squamous epithelial cells by down-regulating *microRNA-221/222*. **DDW2010**, New Orleans, USA, May 1-5, 2010.
  18. **Saito, Y.**, **Suzuki, H.**, et al.: Downregulation of the tumor suppressor *microRNA-29c* plays a critical role in the progression of human gastric cancer. **DDW2010**, New Orleans, USA, May 1-5, 2010.
- [図書] (計 2 件)
1. **Suzuki, H.**, Nishizawa, T., Tsugawa, H., Hibi, T. Free radicals in *Helicobacter pylori* infection. **Free Radical Biology in Digestive Diseases**, Front. Gastrointest. Res. (eds.) Naito, Y., Suematsu, M., Yoshikawa, T., Karger, Basel., 2011, vol. 29, pp111-120.
  2. **Suzuki, H.**, **Saito, Y.**, Hibi, T. Chapter 5: MicroRNAs in Gastric Cancer. **MicroRNAs in Cancer Translational Research** (eds.) William C.S. Cho, Springer, 2011, pp135-143.
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
鈴木 秀和 (SUZUKI HIDEKAZU)  
慶應義塾大学・医学部・准教授  
研究者番号：70255454
  - (2) 研究分担者  
斎藤 義正 (SAITO YOSHIMASA)  
慶應義塾大学・薬学部・准教授  
研究者番号：90360114
- 赤池 敏宏 (AKAIKE TOSHIHIRO)  
東京工業大学・生命理工学部・教授  
研究者番号：30101207
- 金井 弥栄 (KANAI YAE)  
国立がん研究センター・研究所・副所長  
研究者番号：00230315
- 大西 保行 (ONISHI YASUYUKI)  
実験動物中央研究所・研究員  
研究者番号：70201382