

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24年 5月 18日現在

機関番号：17102
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2010～2011
 課題番号：22790345
 研究課題名（和文）若年者胃癌発癌と H.ピロリ菌感染による細胞内酸化ストレスに関する研究
 研究課題名（英文）Investigation of relationship between gastric carcinogenesis in the young patients and intracellular oxidative stress induced by H. pylori infection
 研究代表者
 平橋 美奈子 (HIRAHASHI MINAKO)
 九州大学・大学病院・臨床助教
 研究者番号：90529877

研究成果の概要（和文）：ヘリコバクター・ピロリ菌感染による慢性胃炎により胃上皮細胞内に活性酸素(以下 ROS)が蓄積しやすく、発癌すると言われているが、詳細はまだ解明されていない。本研究では、ピロリ菌感染が高率に合併する30歳以下の若年者胃癌群と41歳以上の非若年者胃癌群を用いてROS過剰産生系物質(8OHdG, iNOS)とROS消去・分解系物質(peroxi redoxin, PRDX)の発現バランスの違いを比較し、両群での相違点を見出した。

研究成果の概要（英文）：Although *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)-infected chronic gastritis is described as accumulating reactive oxygen species (ROS) within the gastric epithelial cells and as relating to the carcinogenesis, the further relationship remains to be completely elucidated. In this study, we investigated the expression of ROS relating substances in the gastric cancer and noncancerous gastric mucosa, and compared the expression in young patients, under 30 years of age, coexisting *H. pylori*-infected gastritis, to that in not-young patients, more than 40 years of age. We found some difference between the two groups.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	800000	240000	1040000
2011年度	1400000	420000	1820000
年度			
年度			
年度			
総計	2200000	660000	2860000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：胃癌発癌，H.ピロリ菌，慢性炎症，活性酸素，病理学，8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8OHdG), peroxi redoxin (PRDX)

1. 研究開始当初の背景

(1)胃癌は、日本人において依然、発生率の高い癌である。近年 *Helicobacter*

pylori(*H. pylori*)感染が胃癌発癌に関連すると言われているが、そのメカニズムは未だ不明な点が多い。

(2) 30歳以下の若年者における胃癌発生率は4~10%未満と少ないが予後不良で、以前当教室から報告した、30歳以下の若年者胃癌105例における臨床病理学的検討では、若年者胃癌は女性に多く、低分化型腺癌が多かった¹⁾。さらに我々は、30歳以下の若年者粘膜内胃癌の低分化型腺癌23例の検討において、若年者のほとんど(96%)に*H. pylori*の感染を認め、非若年者の低分化型腺癌例と比べて、癌周囲粘膜の萎縮に差はなかったが、腸上皮化生の程度は軽度で、より高度な慢性炎症を伴うことを報告した²⁾。また癌の発生場所に関係なく、若年者では胃前庭部を中心とした粘膜内にリンパ濾胞の過形成をみる「鳥肌胃炎」という特徴的な胃炎を高頻度に伴っていた²⁾。すなわち、これまで*H. pylori*感染から長期経過し、萎縮性胃炎、腸上皮化生を介して主に分化型胃癌が発癌するとされていたが、若年者においては*H. pylori*感染を契機に鳥肌胃炎のような慢性表層性胃炎が生じ、腸上皮化生を介さずに低分化型胃癌を発癌することが推測された²⁾。

(3) Nishi bayashi ら³⁾は、*H. pylori*感染による皺壁肥大型胃炎が、胃上皮細胞のDNA酸化障害を引き起こすと報告し、また Lee ら⁴⁾や Farinati ら⁵⁾は、胃癌組織では正常組織と比べて、DNA酸化産物のひとつである8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)が過剰に発現しており、胃癌発癌にDNAの酸化障害が関連すると報告している。さらに半田ら⁶⁾は、*in vitro*の実験でCagAによる胃上皮細胞ミトコンドリアからの活性酸素産生を確認している。

細胞内活性酸素の抗酸化に働く酵素系は様々で、胃炎粘膜で高発現が疑われる抗酸化酵素はGlutathione peroxidase (GPx)である⁷⁾とか、peroxiredoxin (PRX)という細胞内小タンパクは細胞内過酸化水素(H₂O₂)を消去する働きを持ち、PRX2が過剰発現した胃癌細胞はシスプラチンに誘導されるアポトーシスを阻害する働きがある⁸⁾などの報告があるが、*H. pylori*感染を高率に認める若年者における胃癌発癌の経路はいまだ明らかにされていない。

参考文献

- 1) Nakamura T, et al. J Surg Oncol 71: 214-219, 1999
- 2) Hrabashi M et al. Med Pathol. 20: 29-34, 2007
- 3) Nishi bayashi H et al. J Gastroenterol Hepatol. 18: 1384-1391, 2003
- 4) Lee BM et al. Cancer Lett 125 : 61-68, 1998
- 5) Farinati F, et al. Gut 42 : 351-356, 1998

- 6) 半田修 GI.research 17: 129-134, 2009
- 7) Kekceci Y, et al. Eur J Internal Med 20 : 403-406, 2009
- 8) Chung YM et al. Anticancer Res 2001

2. 研究の目的

*H. pylori*感染率が高く、いまだ発癌経路に不明な点の多い低分化型腺癌が多くを占める若年者胃癌を用いて、活性酸素産生系の発現および細胞内抗酸化酵素発現と癌周囲胃炎粘膜および胃癌の組織型との関連を組織学的に詳細に比較検討することを目的とする。

3. 研究の方法

1973年~2008年の間、当教室に登録された30歳以下の若年者胃癌単発例83例および41歳以上の非若年者胃癌単発例115例を用いて、以下の組織学的評価を行った。

(1) 癌背景粘膜の胃炎の程度

癌近傍粘膜および癌周囲5mm以内の癌近傍粘膜に対して、以下の通りの方法で*H. pylori*感染および慢性胃炎の程度を組織学的に詳細に評価した。

① The update Sydney system(1994)に従い、以下の5項目を組織学的に4段階(0:正常、1:軽度、2:中等度、3:高度)に分けて評価する。

*H. pylori*感染(Gensa変法および免疫染色で評価)、好中球浸潤、慢性炎症細胞浸潤、腺管の萎縮、腸上皮化生。

② 粘膜内のリンパ濾胞は、癌周囲粘膜に観察できる胚中心を持ったリンパ濾胞の個数で4段階(0:なし、1:1-2個、2:3-4個、3:5個以上)で評価する。

(2) 癌背景粘膜および癌組織の各因子蛋白発現(免疫組織学的評価)

以下の抗体を用いた免疫染色(SAB法)で、癌および癌近傍非癌粘膜の腺窩上皮、腺頸部上皮の1000個当たりの陽性細胞の個数を数えた。

8-OHdGは核に強陽性のものを数え、iNOS、Peroxi redoxin 1-3は以下の陽性コントロールと同程度染色されたものを陽性細胞とした。

① 8-oxohydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)

② iNOS/NOS Type II

③ Peroxi redoxin 1(Prx1)

④ Peroxi redoxin 2(Prx2)

⑤ Peroxi redoxin 3(Prx3)

4. 研究成果

(1) 若年者胃癌群の臨床病理学的特徴

本研究に用いた若年者胃癌群(n=83)、非若年者胃癌群(n=115)の臨床病理学的事項を比較した。以下の表に示す通り、若年者群の年齢は7~30歳、平均年齢は27歳であった。30例(36.1%)が男性で、53例(63.9%)が女性であった。非若年者群の年齢は41~91歳、平均年齢は63歳、男性が73例(63.5%)、女性が42例(36.5%)であった。若年者群は非若年者群に比べて有意に女性が多かった(p<0.001)。癌の発生部位は、若年者群で8例が穹隆部、50例が体部、残りの25例が前庭部であった。非若年者群では、11例が穹隆部、63例が体部、41例が前庭部と、両群で差はなかった。両群ともに4型のスキルス胃癌を数例含んでいたが、いずれも潰瘍あるいは浅い陥凹面のある場所を発生部位として判断した。腫瘍径の平均は、若年者群5.4cm、非若年者群4.8cmで統計学的有意差はなかった。肉眼型は、両群とも0-IIc型が一番多く(若年者群45例(54.2%)、非若年者群59例(51.3%)、若年者群では純粋な隆起性病変は見られなかった。両群でほぼ同数の4型胃癌を認めた(若年者群7例(8.4%)、非若年者群6例(5.2%)。隆起性病変が優勢なものを隆起型、陥凹性病変が優勢であるものを陥凹型、4型のようなびまん性に浸潤するものをびまん浸潤型として分類した。両群とも陥凹型が多く、若年者に特徴的といえるものは認められなかった。組織型は、若年者群で中分化腺癌が7例、低分化腺癌が67例(80.7%)、粘液癌1例を含む印環細胞癌が9例、非若年者群で高分化腺癌が8例、中分化腺癌が20例、低分化腺癌が75例(65.2%)、粘液癌2例を含む印環細胞癌が12例であった。若年者群で低分化腺癌が多かった(80.7% vs. 65.2% p=0.004)。脈管侵襲に関しては、リンパ管侵襲を若年者群で32例、非若年者群で44例認め、静脈侵襲は若年者群で4例(4.8%)、非若年者群で25例(21.8%)認めた。静脈侵襲は非若年者群に多かった(4.8% vs. 21.8% p<0.01)。静脈侵襲を認めたもののうち、若年者群は全例低分化腺癌で、非若年者群は17例(68%)が分化型腺癌で、8例(32%)が低分化腺癌であった。リンパ節転移は、若年者群で20例(24.0%)、非若年者群で34例(29.6%)

認めた。

表 1

	若年者群(n=83)	非若年者群(n=115)	P値
年齢(平均)[歳]	7-30(27)	41-91(63)	—
性別(男性:女性)	30:53	73:42	<0.001
発生部位(UMD)	8:50:25	11:63:41	NS
腫瘍径(平均)[cm]	0.5-18.0[5.5]	0.7-15.0[4.8]	NS
深達度(T1a:T1b:T2:T3:T4)	23:17:5:28:10	42:27:10:19:17	NS
肉眼型(隆起:陥凹:びまん浸潤型)	0:76:7	3:106:6	NS
組織型(tub:por:si:g/mc)	7:67:9	28:75:12	0.004
リンパ管侵襲(+/-)	32:51	44:71	NS
静脈侵襲(+/-)	4:79	25:90	<0.01
リンパ節転移(+/-)	20:23	34:81	NS

両群で、臨床病理学的事項に有意差を認めたのは性別と組織型、静脈侵襲の有無で、癌の発生部位、腫瘍径、肉眼型、リンパ管侵襲、リンパ節転移の有無に有意差は認められなかった。

(2) 癌背景粘膜の胃炎の程度

若年者群では83例中63例(75.9%)の組織に*H. pylori*菌体を認めたが、非若年者群では115例中24例(20.9%)にしか認められなかった(p<0.001)。両群において癌周囲粘膜の慢性炎症細胞浸潤の程度に差はないが、若年者群の癌周囲粘膜には有意に好中球浸潤の程度が高く(p=0.0012)、萎縮や腸上皮化生の程度は低く(p<0.001)、若年者では慢性活動性胃炎粘膜に発癌していることが推測された。癌周囲粘膜内のリンパ濾胞形成に差はなかった。

表 2

	若年者群(n=83)	非若年者群(n=115)	P値
ピロリ菌	1.48±1.06	0.36±0.73	<0.001
好中球浸潤	1.35±0.76	0.98±0.78	0.0012
慢性炎症細胞	1.87±0.55	1.70±0.72	NS
萎縮	0.41±0.64	1.49±1.18	<0.001
腸上皮化生	0.43±0.77	1.54±1.18	<0.001
リンパ濾胞	1.12±0.90	0.91±0.87	NS

(3) 癌背景粘膜および癌組織の酸化ストレス関連蛋白発現

酸化ストレス関連蛋白発現に関しては、粘膜内低分化腺癌(若年者群22例、非若年者

群 28 例) で評価検討した。

① 8OHdG 発現

8OHdG は、両群で差はなく、両群とも非癌部の腺窩部・腺頸部に発現率の差はなく、癌部は非癌部に比べて有意に過剰発現していた ($p < 0.001$ 、図 1)。

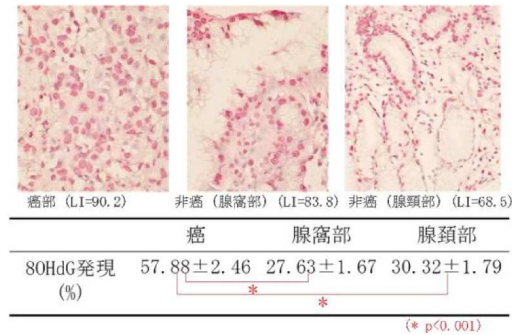


図 1. 8OHdG 発現

② iNOS 発現

iNOS 発現率は、非若年者群で若年者群に比べて有意に高率であった ($p < 0.001$ 、図 2)。

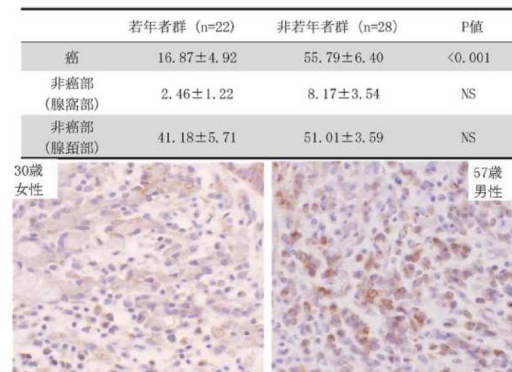


図 2. iNOS 発現

③ Peroxi redoxin (PRX) 発現

PRX1 発現率は、若年者群、非若年者群で有意な差はなかった (図 3)。

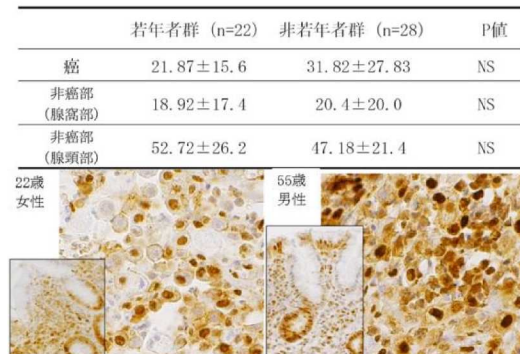


図 3. PRX1 発現

PRX2 発現率は、癌部と非癌部腺窩部で、若年者群は非若年者群に比べて有意に低かった ($p < 0.05$ 、図 4)。

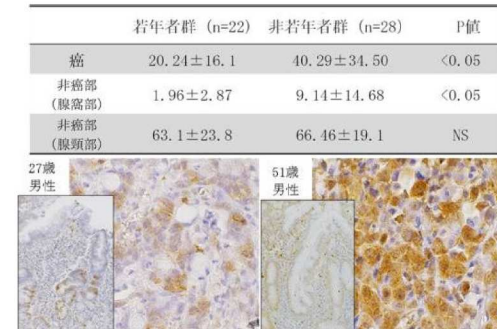


図 4. PRX2 発現

PRX3 発現率は、癌部と非癌部腺頸部で差はなかったが、非癌部腺窩部で非若年者群に比べて若年者群が有意に高かった ($p < 0.05$ 、図 5)。

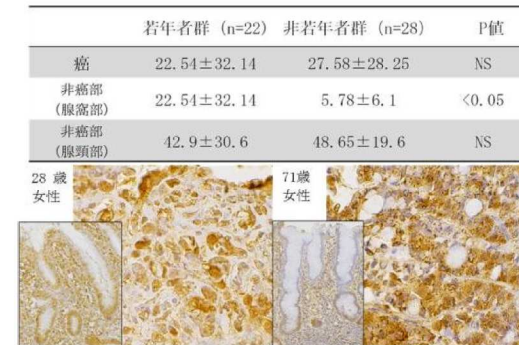


図 5. PRX3 発現

以上の結果から、年齢に関係なく癌部では 8OHdG が核内に過剰に蓄積しており、胃癌発癌に活性酸素 (ROS) が関与している、すなわち、胃上皮細胞内の酸化ストレスが蓄積することにより発癌することがわかった。

次に、非若年者の癌部には ROS 産生に関連する蛋白である iNOS 発現率が若年者に比べ

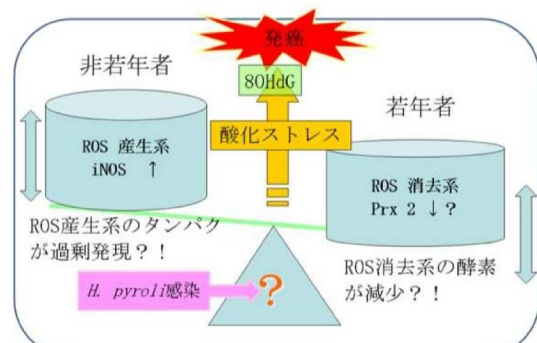


図 6. 胃癌における酸化ストレスのバランス

て高率であり、また ROS 除去に働く PRDX は非若年者に比べて若年者で発現が低下していることから、若年者胃癌と非若年者胃癌の発癌背景には、図 6 に示すような ROS 産生あるいは除去に関与する蛋白発現のバランスが異なることが示唆された。

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 1 件)

- ① 平橋美奈子、小田義直、若年者胃癌の特徴 中高年に認める胃癌との相違—病理の立場から、胃と腸、査読無、46巻、2011、1308-1315

[学会発表] (計 1 件)

- ① M Hrahashi. EXPRESSION OF ANTIOXIDANT PROTEIN IN THE INTRAMUCOSAL POORLY DIFFERENTIATED GASTRIC CANCER IN YOUNG PATIENTS. 9th International Gastric Cancer Congress (IGCC 2011), 2011. 04. 22. Soul, Korea

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平橋 美奈子 (HIRAHASHI MINAKO)
九州大学・大学病院・臨床助教
研究者番号：90529877