

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 15 日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790640

研究課題名（和文）レニン-アンジオテンシンシステム抑制による胃化学発癌予防のメカニズムの解明

研究課題名（英文）Chemoprevention for gastric carcinogenesis by inhibition of renin-angiotensin system

研究代表者

杉本 光繁 (SUGIMOTO MITSUSHIGE)

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80397398

研究成果の概要（和文）：200 文字

HP 非感染スナネズミでは胃粘膜中のアンジオテンシン II タイプ I 受容体(AT1R)やタイプ II 受容体(AT2R)の発現は低値であったが、HP 感染モデルでは、感染後の時間経過によって AT1R や AT2R の発現レベルが徐々に増加した。それは、胃粘膜内の単核球を含めた炎症細胞浸潤の程度とも明らかに相関をしており、HP の病原因子の一つである dupA や cagA の存在や活性度と関与していた。また、消化性潰瘍を生じた動物で高発現していることから、RAS 抑制薬で消化性潰瘍の予防とともに、胃化学発癌予防が可能である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Gastric mucosal AT1R and AT2R mRNAs/ β -actin mRNA ratios were approximately zero in *H. pylori* uninfected animals throughout the 12-month observation period. On the other hand, both AT1R and AT2R mRNA ratios in animals treated with wild-type *H. pylori* gradually increased during the time course. The median MNCs infiltration score was significantly correlated with AT1R and AT2R levels. The *cagA*- and *oipA*-knockout strain induced significantly milder inflammation compared with the wild-type. AT1R and AT2R mRNA levels were significantly higher in gerbils that developed gastric ulcers than in gerbils without gastric ulcer, suggested that RAS inhibitors may have chemoprevention for gastric carcinogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：上部消化管学(食道、胃、十二指腸)

1. 研究開始当初の背景

HPの胃粘膜内への感染は、消化性潰瘍、MALTリンパ腫、胃癌などの上部消化管疾患の発症と相関することが明らかになっている。本邦

を含めた東アジア一帯はHPの感染率が高いために胃癌の発症率も高く、その対策をたてるのが急務である。胃癌発症の予防のためにはHPを胃粘膜内から可能な限り速やかに排除

することが必要であるが、現時点において感染者全員に対して除菌治療を行うことは困難である。したがって、HP感染と胃癌発症のメカニズムを探ることにより、対策を練ることが胃癌発症予防に有効である。

レニン-アンジオテンシン(RA)システムは、血圧や体液、電解質のバランスの調節を行う体循環の調節系システムであり、最終活性物質であるアンジオテンシン(AT)IIが細胞膜上に存在するATII受容体に結合することにより種々の生理作用を示す。ATIIの受容体にはタイプI(AT1)受容体とタイプII(AT2)受容体の2種類が存在しているが、AT1受容体の方が優位に存在し、アルドステロン、炎症性サイトカイン、TGF- β などの産生を亢進することによって血管収縮、血管増生、組織繊維化、腫瘍増生などの作用を示す。また、疫学的にRAシステムが活性化している高血圧患者では正常血圧者よりも腫瘍の発症率が高いことが報告され、この分野における発癌メカニズムに関する研究が注目されている。

胃癌組織中にはACEやキマーゼなどのRAシステムの陽性細胞が多く、胃癌においてもRAシステムの関与が示唆されている。その中で、申請者はRAシステムの遺伝子多型でも、各分子の高産生性の多型をもつ群で胃癌発症のリスクが高くなることも報告した。しかしながら、RAシステムの胃癌発症に対する直接的な発癌メカニズムに関して、HP感染後の自然史を考慮して行われた検討はない。

HP 感染胃粘膜内の病理組織学的な特徴は高度な炎症細胞浸潤であるが、それには *vacA*, *cagA*, *babA*, *oipA*などのHP病原因子(virulent factor(VF))遺伝子の存在とその活性度が大きく影響する。申請者は上記のVF遺伝子のノックアウト菌を使用することによってVFが胃粘膜中のサイトカイン濃度に多大な影響を及ぼすことを報告してきた。しかし、RAシステムとVFとの関係について詳細な検討をした報告はなく、RAシステムの胃粘膜障害のメカニズムを考える中で、菌側の要因も考慮する必要があると思われる。

2. 研究の目的

HP感染における上部消化管疾患の多様性を規定する因子の一つであるRAシステムの胃粘膜内における生理活性メカニズムを、胃癌細胞株あるいは動物スナネズミモデルで解明することを目的とした。

3. 研究の方法

実験1. HP感染胃粘膜内のRAシステムの発現調節

方法: 動物: 生後6週齢雄性スナネズミ

HP: VF陽性の7.13 wild type

感染: 1×10^9 CFUのHP1mlを経口投与

グループ: 下記4群で各1群25匹

1. HP陰性コントロール群
2. HP陽性コントロール群 (wild type)
3. ACE阻害薬内服群
4. ARB内服群

観察期間: 18ヶ月

方法: 感染1, 3, 6, 12, 18ヶ月後に各群5匹ずつ屠殺し、胃、十二指腸を分離する。

検討項目:

- (1) 病理組織: 胃粘膜内の萎縮程度、炎症程度を評価し、免疫染色にてRAシステムの各因子陽性細胞の数や分布を評価する
- (2) 胃粘膜中のmRNAを抽出し、RAシステムの各因子、炎症性サイトカイン、増殖因子(VEGF, EGF)のmRNA量をRT-PCR法により測定する
- (3) 胃粘膜中のタンパクを抽出し、上記因子のタンパク発現量をWestern Blotting法により測定
- (4) 上記因子の発現量を経時的に評価し、病理組織との相関、各種因子との相関を明らかにして、RAシステムの発現のメカニズムを探る

実験2. HP感染胃粘膜内のVFによるRAシステムの発現調節

方法: 動物: 生後6週齢雄性スナネズミ

HP: *vacA*-KO 7.13

cagA-KO 7.13

babA-KO 7.13

oipA-KO 7.13

グループ: 各群1群25匹

1. HP *vacA*-KO 感染群
2. HP *cagA*-KO 感染群
3. HP *babA*-KO 感染群
4. HP *oipA*-KO 感染群

観察期間: 18ヶ月

検討項目:

1. 病理組織, mRNA, タンパク: 実験1と同様の項目に関して測定評価を行う
2. RAシステム因子、炎症性サイトカイン、増殖因子の発現量を経時的に評価し、各VFの前述の分子の発現に関わるメカニズムを探る

4. 研究成果

(1)HP 感染後の消化性潰瘍の発生率

wild-type のHPに感染しているスナネズミでは感染後3ヶ月で44%、6ヶ月後に30%、12ヶ月後の60%の動物モデルの前庭部に消化性潰瘍を認めた。胃体部には3ヶ月後に56%、6ヶ月後に60%の動物モデルに消化性潰瘍を認めた。しかしながら、非感染群やoipA-KO菌を感染させた動物モデルには、観察期間内に消化性潰瘍は認めなかった。

(2)HP 感染後のスナネズミモデルにおける胃粘膜の病理組織学的な変化

HPを感染後の6ヶ月後と12ヶ月後には、wild-typeのHPに感染している動物モデルの全ての動物で、胃癌発症に密接に関与する腸上皮化生を認めた。しかし、非感染群やoipA-KO菌に感染した動物では腸上皮化生は前庭部、体部ともに認めなかった。

炎症細胞であるMNCとPMNの胃粘膜内への浸潤は非感染群では認めなかったが、wild-type感染群では前庭部、体部ともに3-12ヶ月後には高度のMNCとPMNの浸潤を認めた。このことは、炎症細胞浸潤は単なる加齢では生じないことが示唆された。また、HPの感染密度、胃壁の厚さ、炎症細胞浸潤程度は前庭部、体部ともに、全ての時点で非感染群と比較して有意に高かった。

病原因子であるOipAの胃粘膜への炎症の惹起作用を評価するためにoipA-KO菌を感染させたところ、wild-typeのHPに感染しているスナネズミモデルと比較して、観察期間内では胃粘膜内の炎症反応は軽微であった。しかし、その程度は前庭部においては非感染群よりも強く、oipAは炎症の惹起には重要な役割を果たすが、他の病原因子の影響により軽微の炎症が惹起された可能性が示唆された。

(3)HP 感染スナネズミにおける胃粘膜中のAT1RとAT2RのmRNA発現

胃粘膜内のAT1RとAT2RのmRNA発現程度は、観察期間内において前庭部、体部ともに非感染群では発現をしていなかった。wild-typeの感染群では感染後、感染期間に従って発現量は増加した。感染後1,6ヶ月後には前庭部のAT1RのmRNAは、体部と比較して有意に高かった。AT2Rは体部において同様に傾向であった。12ヶ月後には、前庭部よりも体部において高値であった。AT1RとAT2RのmRNA発現程度は前庭部、体部ともに、全ての時点で非感染群と比較して有意に高かった。このことから、HPが感染することによりRASが活性化され、経時的な変化により発現量が増すことから胃癌の発症に関与していることが予想される。

また、oipA-KO菌に感染したスナネズミモデルでは、wild-typeのHPに感染している動

物モデルと比較して観察期間内では有意にAT1RとAT2RのmRNA発現程度は低値であった。しかし、体部における発現程度はwild-type感染群と比較して同程度であった。oipA-KO菌に感染した動物では、非感染群よりも発現レベルは有意に高かった。このことより、oipAは、RASの発現に重要な働きを示して可能性が考えられた。

(4)RASの発現程度と炎症細胞浸潤程度との関係

MNCの胃粘膜内への浸潤程度は前庭部において明らかにAT1Rの発現量と相関をしていた($r = 0.327$, $p = 0.039$)。その相関は、胃体部の粘膜でも同様であり($r = 0.559$, $P < 0.001$)、AT2Rの発現量も前庭部($r = 0.350$, $p = 0.026$)や体部($r = 0.589$, $P < 0.001$)で明らかに相関をしていた。更に、AT1Rの発現量は、AT2Rに発現量とも相関をし($r = 0.887$, $P < 0.001$)、RASシステム自身での調節機構の存在が示唆された。

(5)胃潰瘍を発症したモデルにおけるmRNAの発現

AT1RとAT2Rの胃粘膜内のmRNAの発現レベルは、消化性潰瘍を発症している動物モデルの方が、消化性潰瘍を有しない動物モデルと比較して有意に高かった($P < 0.001$)。また、炎症細胞浸潤の程度も消化性潰瘍を発症している動物モデルの方が、していない動物モデルと比較して有意に高かった。この事は、AT1Rの発現が炎症を介することにより胃粘膜の萎縮性変化と関連して、最終的に消化性潰瘍や胃癌の発症に密接に関与する可能性が考えられた。

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2件)

- (1) Sugimoto M, Ohno T, Graham DY, Yamaoka Y. Gastric mucosal expression of angiotensin II type 1 and type 2 receptor mRNA in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils. J Gastroenterology 2011;36:1177-1186
- (2) Sugimoto M, Yamaoka Y, Shirai N, Furuta T. The role of the renin-angiotensin system in gastric oncogenesis. J Gastroenterol Hepatol. 2012;27:442-451

[学会発表] (計1件)

杉本光繁ら。H. pylori感染におけるレニン-アンギオテンシンシステムの関与。ヘリコバクター学会 学術集会。2010年6月24日。京都

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 光繁 (SUGIMOTO MITSUSHIGE)
浜松医科大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80397398

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：