

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23510346

研究課題名(和文)性差に基づいた胃発癌抑制の試み

研究課題名(英文)prevention of gastric carcinogenesis based on gender specific medicine

研究代表者

大谷 昌弘(Ohtani, Masahiro)

福井大学・医学部・助教

研究者番号：20372500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：女性ホルモンが胃癌発症に対し予防的に作用する可能性が示唆されており、選択的エストロゲン受容体作動薬のラロキシフェン(RAL)を用いて、胃癌発症の抑制効果について検討した。INS-GASマウスを4群(非感染対照群、非感染RAL投与群、ヘリコバクターピロリ(HP)感染群、HP感染RAL投与群)に分けて検討を行った。HP感染RAL投与群はHP感染群と比較して胃炎が抑制される傾向にあった。HP感染に関わらず、胃組織のTNF- $\alpha$ のmRNAレベルはRAL投与群で低い傾向にあった。RALは動物実験モデルにおいて、胃炎に対し抗炎症性に作用し、胃発癌において予防的に作用する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Female hormone may have a protective role against gastric carcinogenesis. We examined the effect of raloxifene, which is selective estrogen receptor modulator, on gastric carcinogenesis using INS-GAS mice. Male INS-GAS mice were divided into 4 groups, including controls group, control RAL group, H. pylori infected group and H. pylori infected RAL groups. H. pylori infected mice showed severe gastritis compared to uninfected mice. Histopathology of gastritis in H. pylori infected RAL groups were attenuated inflammation and dysplasia compared to those in H. pylori infected groups. The mRNA levels of RAL group were significantly lower than those of controls groups. Raloxifene may have a suppressive effect on gastric carcinogenesis in INS-GAS mice.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ジェンダー・ジェンダー

キーワード：ラロキシフェン 胃癌 ヘリコバクターピロリ エストロゲン

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 胃癌の発生率は近年減少傾向にあるものの、未だ全世界において癌関連死亡原因の第2位であり、その予防と治療のためには胃発癌機構の解明が必要である。一般に胃癌の罹患率は男性の方が高く、女性の約2倍とされている。疫学的検討では閉経の遅延や更年期障害に対する女性ホルモン補充療法が胃癌のリスクを下げるという報告がなされており、女性ホルモンが胃癌発症において抑制的に働く可能性が示唆されている。

(2) Gender-specific Medicine(性差医療)とは発症の男女比が傾いている疾患、または男女間で臨床的に差をみる病態に関する研究をすすめ、その結果を疾病の診断、治療法、予防医学へ反映することを目的とした新しい視点の医療であり、近年、本邦においてもその概念が浸透してきている。

(3) 近年、閉経後の骨粗鬆症に対して用いられているラロキシフェン等の新しい選択的エストロゲン受容体モジュレーター(SERM)は組織によりその作用が異なり、女性ホルモン補充療法で認められた乳癌や冠動脈性心疾患発症等の有害事象を低減または増加させないことが報告されている。

(4) Raloxifen に対する消化管への作用を研究した報告はまだ少ないものの、大腸癌の cell line を用いた検討では Estrogen receptor- (ER )を介して細胞増殖抑制に作用すること、また大腸癌の動物モデルにおいてその腫瘍発生の抑制に作用することが報告されている。

## 2. 研究の目的

我々はこれまでに INS-GAS マウスモデルにおいてエストロゲンによる胃発癌抑制効果を確認されており、今回は選択的エストロゲン受容体モジュレーターの1種であるラロキシフェン(RAL)を用いて、胃癌発症の抑制効果について検討した。

## 3. 研究の方法

(1) 雄 INS-GAS マウスに対して、ヘリコバクターピロリ菌感染を生後10週に行い、引き続き RAL は皮下埋め込みペレットを用いて、1日当たり 100 µg を 180 日に渡って投与を行い、対照群も作成してマウスを下記の4群に分けて動物実験を行った。

### <グループ>

- 非感染群(C)
- 非感染 RAL 投与群(RAL)
- HP 感染群(HP)
- HP 感染 RAL 投与群 (HP RAL)

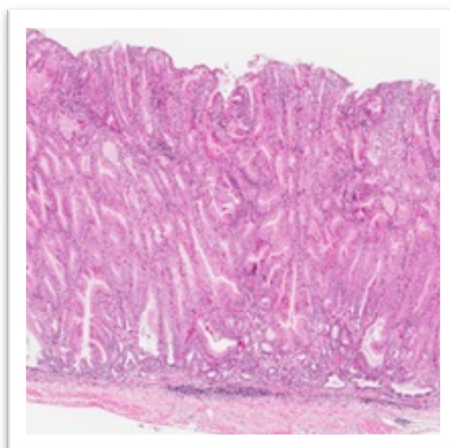
(2) RAL の 180 日間投与後に解剖を行い、下

記の項目について解析を行った。

胃組織の病理組織学的検討。  
Ki-67 免疫染色を行い、ラベリングインデックスを作成し、胃粘膜上皮における細胞増殖能についての検討。  
胃組織における炎症性サイトカインの IFN- と TNF- の mRNA 発現量の検討。

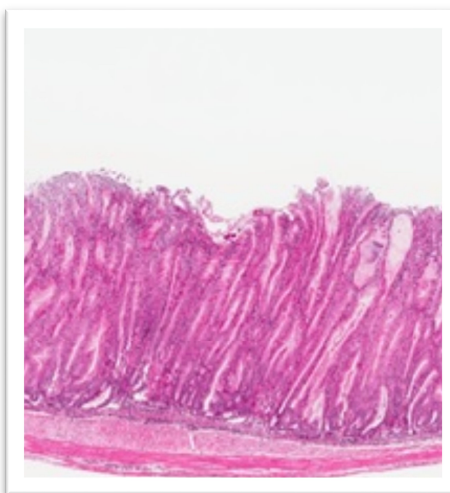
## 4. 研究成果

### (1) 病理組織学的検討



HP 感染群

上図は HP 感染群マウスの胃体部の病理所見。腺窩上皮の過形成と胃底腺の萎縮、異形成が高度である。

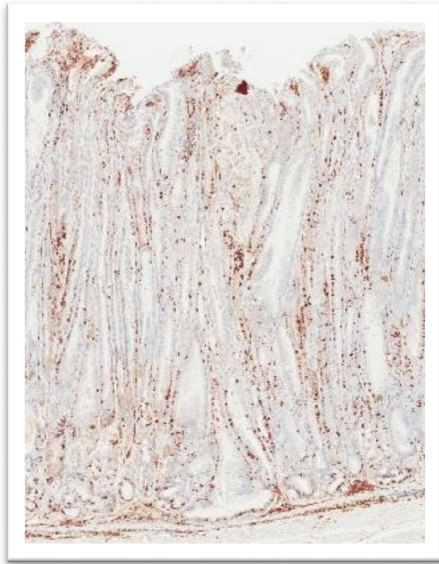


HP 感染 + RAL 投与群

上図は HP 感染 + RAL 投与群マウスの病理所見。腺窩上皮の異形成と過形成の程度は軽度である。

以上 HE 染色による組織学的評価の結果、HP 感染 + RAL 投与群の病理所見は HP 感染群と比較して、胃炎は軽度であり、腺窩上皮の過形成や異形成が抑制されている傾向が認められた。

(2) Ki-67 免疫染色による細胞増殖能



HP 感染群

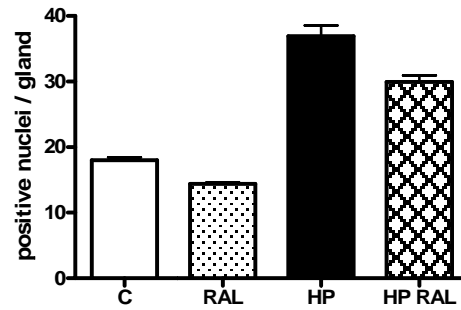
上図は HP 感染群マウスの Ki-67 免疫染色。腺頸部から腺上皮に渡って全体的に Ki-67 陽性核が認められる。



HP 感染 + RAL 投与群

上図は HP 感染 + RAL 投与群マウスの所見。HP 感染群と比較して、Ki-67 陽性核細胞数が少ない傾向にある。腺頸部と腺上皮表層を中心に陽性細胞を認める。

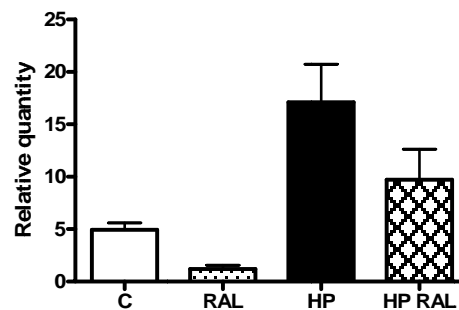
ラベリングインデックスを作成し、各群で比較を行った(下図)。HP 感染により Ki-67 ラベリングインデックスは有意に上昇していた。一方、RAL 投与群は対照群と比較して有意に低値であった。同様に、HP 感染 RAL 投与群は HP 感染群と比較して有意に低値であった。以上から、ラロキシフェンは胃腺窩上皮細胞において、細胞増殖抑制作用を有する可能性が示唆された。



Ki-67 ラベリング・インデックス

(3) 胃における炎症性サイトカインの発現

下図は各群における TNF- $\alpha$  の発現量を示す。TNF- $\alpha$  mRNA の胃組織発現量は対照群と比べて、HP 感染群では有意に高値であった。RAL 投与群における TNF- $\alpha$  mRNA 発現量は非感染群と比べて有意に低値であった。また、HP 感染 RAL 投与群における TNF- $\alpha$  mRNA 発現量は HP 感染群と比較して低い傾向が認められた。



TNF- $\alpha$  mRNA 発現量

IFN- $\gamma$  mRNA 発現量に関しては、TNF- $\alpha$  mRNA と同様に、HP 感染により IFN- $\gamma$  mRNA 発現量は有意に増加した。しかしながら、RAL 投与による変化は、HP 感染、非感染にかかわらず、いずれにおいても認められなかった。

(4) まとめ

INS-GAS マウスモデルにおいてラロキシフェンが胃発癌抑制作用を有する可能性が示唆された。その機序として、細胞増殖抑制作用や炎症性サイトカインの一つである TNF- $\alpha$  による調節が関与していると考えられた。

今回、ラロキシフェンの作用部位と推測されるエストロゲン・レセプターが胃組織においてびまん性に発現していることを、免疫組織化学染色により確認したものの、RAL 投与の有無における差異は指摘できなかった。今後の方針として、エストロゲンや SERM で認められたエストロゲン・レセプターを介した胃発癌抑制機序におけるシグナル伝達経路を明らかにする必要がある。

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 1 件)

Ohtani M., Ge Z, García A, Rogers AB, Muthupalani S, Taylor NS, Xu S, Watanabe K, Feng Y, Marini RP, Whary MT, Wang TC, Fox JG.  
17 $\beta$ -estradiol suppresses Helicobacter pylori-induced gastric pathology in male hypergastrinemic INS-GAS mice  
査読あり  
Carcinogenesis. 2011;32(8):1244-50.  
doi: 10.1093/carcin/bgr072.

〔学会発表〕(計 3 件)

大谷昌弘  
マウスモデルを用いた H. pylori 感染胃炎に対するエストロゲンの予防的作用の検討  
第9回 消化器病における性差医学・医療研究会  
2013年8月3日 大阪大学中之島センター

大谷昌弘  
INS-GAS マウスを用いた 17 $\beta$ -estradiol による胃発癌抑制作用の検討  
第50回日本臨床分子医学会  
2013年4月12-13日 東京国際フォーラム

大谷昌弘  
シンポジウム 消化器疾患と性差  
H.pylori 感染胃発癌モデルにおける胃粘膜免疫応答に対するエストロゲンの影響  
第54回日本消化器病学会大会  
2012年10月10-13日  
神戸国際会議場

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

大谷 昌弘(OHTANI MASAHIRO)  
福井大学・医学部・助教  
研究者番号: 20372500

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし