

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590915

研究課題名(和文)ヘリコバクター・ピロリ関連胃発癌過程におけるゲノム異常生成機構の解明

研究課題名(英文) Study of the molecular mechanism underlying genomic alterations during Helicobacter pylori-associated gastric carcinogenesis.

研究代表者

松本 裕子 (Matsumoto, Yuko)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20452360

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト胃発癌過程において、ヘリコバクター・ピロリ菌感染を契機とした慢性胃炎を背景として種々の癌関連遺伝子に異常が生成されるが、その機序は不明であった。ヒトに生理的に備わっている遺伝子編集酵素 Activation-Induced Cytidine Deaminase (AID) が、ヘリコバクター・ピロリ菌感染を契機として胃上皮に異常発現するが、本研究では、ヘリコバクター・ピロリ菌感染からの胃発癌過程にAIDが果たす役割を明らかにするとともに、胃発癌過程に生じる遺伝子異常 (geneticおよびepigeneticな変化) の全体像を解明することを目的とした。

研究成果の概要(英文)：With persistent infection of Helicobacter pylori (*H. pylori*), gastric cancer develops by a multistep process occurring through the accumulation of genetic alterations in gastric epithelial cells. The mechanisms how the gastric epithelial cells with *H. pylori* infection and the resultant inflammatory response acquire the genetic changes leading to malignant transformation, however, remain unknown. Activation-induced cytidine deaminase (AID) induces somatic mutations in various host genes, and we demonstrated that *H. pylori* infection induced aberrant AID expression in gastric epithelial cells.

We plan to investigate the role of AID in the occurrence of genetic alterations, including genetic and epigenetic changes. We clarify the overall genetic alterations induced by aberrant AID activity using the next generation sequencing. A successful outcome of this research project would provide the novel insight into the molecular mechanisms of infection- and inflammation-associated carcinogenesis.

研究分野：医学

キーワード：ヘリコバクター・ピロリ 胃癌 ゲノム異常

1. 研究開始当初の背景

本邦では、胃癌は癌死亡の第2位を占め、年間約5万人が死亡している。胃癌の成因として最も重要視されているのは胃上皮細胞へのヘリコバクター・ピロリ菌感染であり、このためWHOによりclass I carcinogen (確実な発癌物質)と認定されている。一方、ヒト胃発癌過程において、ヘリコバクター・ピロリ菌感染を契機とした慢性胃炎を背景として種々の癌関連遺伝子に異常が生成・蓄積されることが多数報告されているが、その分子機構については不明であった。申請者らは、ヒトに生理的に備わっている遺伝子編集酵素 Activation-Induced Cytidine Deaminase (AID) の発現異常が、発癌過程にみられる各種癌関連遺伝子異常に関与している可能性に着目した。

申請者らのこれまでの研究成果から、

- (1) AID トランスジェニックマウスに胃癌が発生すること
- (2) 臨床的に病原性を有する *cagPAI* 陽性ヘリコバクター・ピロリ菌株の感染によりヒト胃上皮培養細胞およびマウス胃組織に異所性に AID が発現誘導されること
- (3) AID 発現の結果、癌抑制遺伝子 *p53*, *CDKN2A*, *CDKN2B* に点突然変異が高率に誘導されること
- (4) AID 発現の結果、癌抑制遺伝子領域 *CDKN2b-CDKN2a* locus に染色体欠失が誘導されること
- (5) ヘリコバクター・ピロリ菌感染を伴ったヒト胃上皮細胞 (胃炎・胃癌組織) では高率に AID が発現していること

が明らかとなり、ヘリコバクター・ピロリ菌感染による慢性胃炎からの胃発癌過程におけるゲノム異常生成・蓄積に AID が重要な役割を果たしている可能性が示

唆された。

2. 研究の目的

本研究では、胃上皮細胞への遺伝子異常を導入する活性をもつ遺伝子編集酵素 AID が、ヘリコバクター・ピロリ菌感染からの胃癌発生過程に果たす役割を明らかにするとともに、胃癌発生過程に生じる遺伝子異常 (genetic な変化 (点突然変異、染色体異常) および epigenetic な変化 (DNA メチル化異常) の全体像を次世代シーケンス解析を用いて解明することを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 次世代シーケンス解析を用いた、AID 発現により胃上皮にもたらされる genetic な変化 (点突然変異 (塩基の置換・欠失・挿入) 染色体異常) の全体像の探求;
AID を過剰発現する胃上皮細胞、AID トランスジェニックマウスやヘリコバクター・ピロリ菌を感染させた野生型マウスの胃上皮、ヘリコバクター・ピロリ菌陽性胃癌・慢性胃炎臨床検体において、既知のすべての遺伝子 DNA 全エクソンの塩基配列と染色体異常について次世代シーケンサーを用いて解析を行い、胃上皮における AID の持続発現の結果生じる遺伝子異常生成・蓄積の全体像を明らかにする。
- (2) 次世代シーケンス解析を用いた、AID 発現により胃上皮にもたらされる epigenetic な変化 (DNA メチル化異常) の全体像の探求;
AID を過剰発現する胃上皮細胞、AID トランスジェニックマウスやヘリコバクター・ピロリ菌を感染させた野

生型マウスの胃上皮、ヘリコバクター・ピロリ菌陽性胃癌・慢性胃炎臨床検体において、DNA メチル化異常について次世代シーケンサーを用いて解析を行い、AID によって誘導されるメチル化異常の全体像を明らかにする。

4 . 研究成果

AID を過剰発現する胃上皮細胞において、genetic な変化 (既知のすべての遺伝子 DNA の塩基配列と染色体異常) および epigenetic な変化 (DNA メチル化異常) について次世代シーケンサーを用いて網羅的解析を行い、胃上皮における AID の役割および AID の持続発現の結果生じる遺伝子異常生成・蓄積の全体像を明らかにする目的で以下の実験を行った。

- (1) 活性化 AID を過剰発現する胃上皮培養細胞株を樹立、AID トランスジェニックマウスおよびヘリコバクター・ピロリ菌感染させた野生型マウスから胃上皮を採取、ヘリコバクター・ピロリ菌陽性胃癌・慢性胃炎臨床検体からそれぞれ DNA を採取し、AID 過剰発現下の胃上皮細胞における genetic な変化; 点突然変異 (塩基の置換・欠失・挿入)・染色体異常 (DNA コピー数の変化および転座・欠失など) の全体像を次世代シーケンサーを用いて検討した。
- (2) 活性化 AID を過剰発現する胃上皮培養細胞株を樹立、AID トランスジェニックマウスおよびヘリコバクター・ピロリ菌感染させた野生型マウスから胃上皮を採取、ヘリコバクター・ピロリ菌陽性胃癌・慢性胃炎臨床検体からそれぞれ DNA を採取し、AID 過剰発現下の胃上皮細胞における epigenetic な変化; DNA メチル

化異常の全体像を次世代シーケンサーを用いて検討した。

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 4 件)

Takahiro Shimizu, Hiroyuki Marusawa, Yuko Matsumoto, Tadashi Inuzuka, Atsuyuki Ikeda, Yosuke Fujii, Sachiko Minamiguchi, Shin'ichi Miyamoto, Tadayuki Kou, Yoshiharu Sakai, Jean E. Crabtree, Tsutomu Chiba.

Accumulation of Somatic Mutation in *TP53* in Gastric Epithelium With *Helicobacter pylori* Infection.

Gastroenterology, 147(2):407-17, 2014.

査読有

doi: 10.1053/j.gastro.2014.04.036., 2014

Atsuyuki Ikeda, Takahiro Shimizu, Yuko Matsumoto, Yosuke Fujii, Yuji Eso, Tadashi Inuzuka, Aya Mizuguchi, Kazuharu Shimizu, Etsuro Hatano, Shinji Uemoto, Tsutomu Chiba, Hiroyuki Marusawa. Leptin Receptor Somatic Mutations are Frequent in HCV-Infected Cirrhotic Liver and Associate with Hepatocellular Carcinoma.

Gastroenterology, 146(1):222-32, 2014.

査読有

doi: 10.1053/j.gastro.2013.09.025.

Soo Ki Kim, Akihiro Nasu, Junji Komori, Takahiro Shimizu, Yuko Matsumoto, Yasuko Minaki, Kenji Kohno, Kazuharu Shimizu, Shinji Uemoto, Tsutomu Chiba, Hiroyuki Marusawa.

A model of liver carcinogenesis
originating from hepatic progenitor cells
with accumulation of genetic alterations.

Int J Cancer, 134(5):1067-76, 2014.

査読有

doi: 10.1002/ijc.28445.

Tsutomu Chiba, Hiroyuki Marusawa, Yuko
Matsumoto, Atsushi Takai.

Chronic inflammation and gastric cancer
development.

Nihon Rinsho, 2012 Oct;70(10):1694-8.

Japanese.

査読無

6. 研究組織

(1)研究代表者

松本 裕子 (MATSUMOTO YUKO)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：20452360

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし