

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 28 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293145

研究課題名(和文)ヘリコバクター属感染と膵がん・胆道がんのリスク

研究課題名(英文)Infection of Helicobacter and risk of pancreatic and biliary tract cancer

研究代表者

菊地 正悟(Kikuchi, Shogo)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：40224901

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヘリコバクター・ピロリ菌抗体価が既に測定されていた84人の血漿のピロリ菌、ピリス菌、ヘパティカス菌抗体を、全菌体抗原法で測定した。測定済み結果と合わせて分析し、各抗体価の基準値を決めた。この測定法と基準値を用いて、ピロリ菌抗体陰性患者と対照の血漿中ピリス菌抗体とヘパティカス菌抗体を測定した。陽性率はそれぞれ膵がん患者120人中7.5%と1.7%、胆道がん患者130人中14.6%と6.2%、対照117人中8.5%と0.9%であり、胆道がん患者では両抗体陽性率が対照に比べて有意に高かった。胆道がんの発生にピリス菌やヘパティカス菌が関与している可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：With whole cell antigens, Helicobacter pylori, H. bilis, and H. hepaticus antibodies were measured in plasma from 84 subjects, H.pylori antibody of which had been measured before. Analyzing the data and the measurement results, cutoff was decided for each infection. Using the cutoffs and the measurement method, H. bilis, and H. hepaticus antibodies were measured in plasma from H. pylori, seronegative cancer patients and control subjects. Seroprevalence of H. bilis, and H. hepaticus were 7.5% and 1.7%, respectively in 120 pancreatic cancer, 14.6% and 6.2%, respectively in 130 biliary tract cancer patients and 8.5% and 0.9% respectively in 117 control subjects. The seroprevalences in biliary tract cancer patients were significantly higher compared with control subjects. H. bilis and H. hepaticus may increase biliary tract cancer cases.

研究分野：疫学・予防医学

キーワード：血漿抗体 膵がん 胆道がん ヘリコバクター・ピリス感染 ヘリコバクター・ヘパティカス感染 ヘリコバクター・ピロリ感染 全菌体抗原法

## 1. 研究開始当初の背景

わが国の2011年の膵がん死亡は男性14.8千人(がんで5位)、女性で14.0千人(同4位)、胆道がん死亡は男性9.0千人(同8位)、女性9.2千人(同6位)で、予後が悪いので、特に発生そのものを予防する一次予防は重要である。申請者らは、文科省の助成による大規模コホート研究により、膵がんで喫煙(Lin Y, CCC 13:249-, 2002)、胆嚢がんで喫煙、飲酒(Yagyu K, IJC 122:924-, 2008)、便通(Yagyu K, Cancer Sci 95:674-, 2004)がリスク要因であることを明らかにしてきた。いずれも発がんに強い影響を与える要因ではないので、効果的な予防のためには、より強い影響を与える要因を明らかにする必要がある。

*Helicobacter pylori* 感染と胃がんの関係が明らかにされた。このことから、消化器系に慢性感染する *Helicobacter* 属による慢性炎症が他のがんのリスク要因となっている可能性が高いと考えられる。膵がんに関しては、*H. pylori* 感染、中でも毒性の弱い CagA 陰性株の感染が膵がんリスクを上昇させる(Risch H, J Natl Cancer Inst 102:502-, 2010)という結果が米国から報告されている。わが国を含む東アジア地域の *H. pylori* は、ほとんどが CagA 陽性の強毒性の株である。わが国を含む東アジアにおいて、*H. pylori* 感染と膵がんの関係について十分な例数による分析はなされていない。

胆道がんに関しては、わが国とタイで *H. bilis* 感染がリスクを上昇させるという分担研究者の神谷らの報告がある(Matsukura N, Jpn J Cancer Res. 93:842-, 2002)。*H. hepaticus* 抗体の測定系は、分担研究者の福田が開発し(Fukuda Y, Helicobacter. 14:66-, 2009)、少数例の分析だが胆道がんのリスクを上昇させるという報告(Shimoyama T, J Gastroenterol Hepatol. 25 suppl: S86-, 2010)がある。また、マウスでの研究であるが *H. bilis* についても血清抗体が測定されており、感染を反映することが報告されている(Hdzic E, Comp. Med. 51:406-, 2001)。

## 2. 研究の目的

*Helicobacter* 属の胆汁中の感染を血清抗体測定がどれだけ正確に診断できるかを明らかにする。また、*H. pylori* が胆汁中から検出されるかを明らかにする。

国立がん研究センターのがん研究開発費(21分指-11-、H21-23年度)の助成などで、平成25年9月末で、膵がん症例607例、胆道がん症例274例、対照650例が収集済みである。各施設において症例と対照からの検体(血清もしくは血漿)、生活習慣情報、病理診断・進行度(症例のみ)の情報を収集する。収集済みのものを含めて、期間内に膵がん1000例、胆道がん500例の症例とそれぞれ

同数の対照からの検体・情報の集積を目標とする。

良性疾患を含めた対象から胆汁と血清を100例程度収集し、PCR法での胆汁中の *H. hepaticus*、*H. bilis* の菌体の検出をするとともに、血清抗体を測定する。この結果に基づき、それぞれの抗体価の最適なカットオフ値を決め、その時の感度・特異度を明らかにする。

## 3. 研究の方法

札幌医科大学病院、がん研究会有明病院、東京都立駒込病院、神奈川県立がんセンター、愛知医科大学病院で膵がん、胆道がん症例、対照からの情報、検体の収集を行う。事務局は愛知医大医学部公衆衛生学講座に置き、必要書類の送付、検体やデータの整理、保管などを行う。

胆道がんは部位別(胆嚢、肝内・肝外胆管)分析が重要であるが、症例数が少ないので、重点的に収集する。対照は、同じ病院を受診中か入院中の患者、症例の友人、膵がん及び胆道がん以外の疾患で入院中の患者の家族、友人、関連病院を受診中か入院中の患者、同じ施設の検診受診者のいずれかで、がんの治療中でない協力の同意が得られた者として、各施設の状況に応じて収集する。

質問票によって収集する情報は病理診断・進行度(症例のみ)、食品摂取頻度調査を含む生活習慣、既往歴である。各収集施設での生活習慣などの聞き取りは、一部研究補助者に依頼する。

収集する検体は、血清(血漿)で、SRL(株)に依頼して、検体の回収、血清の分離後に、事務局(愛知医大・医・公衆衛生)に保管する。

病理診断・進行度(症例のみ)や食品摂取頻度調査を含む生活習慣の情報、検体がそろった時点で符号化を行い、血清は-80以下、DNAはトリス・バッファー加で-30で保存した。これらの症例の血漿を用いて *H. bilis*、*H. hepaticus* および *H. pylori* の血漿抗体価を測定した。

首都圏の症例収集施設(がん研有明病院、神奈川県立がんセンター、都立駒込病院、同大塚病院)で胆汁を採取した。67例の患者について、検査時の残血清の提供もしくは血液5ml程度の追加採血を依頼し、胆汁は必要な検査後-80に凍結し、対応する血清とともに杏林大に輸送する。内視鏡的逆行性胆管膵管造影(ERCP)の時に胆汁、また、細胞診を行う時のブラシ検体の残余物を検体として収集した。これらの検体では *Helicobacter* 属細菌の培養およびPCR法による検出を試みた。

## 4. 研究成果

平成29年3月31日現在の膵がん、胆道がん症例と対照からの検体(血漿)および生活

習慣情報、病理診断・進行度（症例のみ）の情報の収集を行った。総計で膵がん 1,106 例、胆道がん 459 例、対照 819 例について、検体、情報の収集が済み、検体は凍結保存、情報は順次入力を進めている。

胆管からのブラシ検体は 9 例が収集された。培養では、*Eikenella corrodens* と *Lactobacillus sp.* が各 1 検体から検出されたが、*Helicobacter* 属は検出できなかった。PCR では、*E. corrodens* が検出された検体で、*H. pylori* ウレアーゼ遺伝子が検出された他に検出された遺伝子はなかった。

血清と胆汁のペアは、67 例について収集した。胆汁から、PCR 増幅ができたのは 7 例であった。ここで問題となるのが、PCR の増幅がうまくいかないばかりでなく、増幅していても、単一菌といえない多くの検体があることである。特異的に菌種同定ができるような方法の改良が必要である。なお検出された症例の疾患は、*Helicobacter* 属（16SrRNA 遺伝子）が、胆嚢がん症例 1 例、胆管がん症例 2 例、*H. bilis* が胆管がん 1 例、*H. hepaticus* が膵がん 1 例、*H. pylori* (*ureA* 遺伝子) が胆嚢がん、膵がん各 1 例であった。

*H. pylori*, *H. bilis*, *H. hepaticus* を超音波破砕して全菌体抗原を採取したものをを用いて（全菌体抗原 EIA 法）膵癌 32 例、胆道癌 32 例、対照 24 例の抗体価を測定し、相関をみたところ、*H. pylori* とは *H. bilis*, *H. hepaticus* とともに抗体価の相関が強く、特に後者で強かった。*H. pylori* は、既存のキット（E-plate Eiken *H. pylori* Antibody）で測定済みだったので、この結果から cutoff を決め、この値をもとに *H. bilis*, *H. hepaticus* の cutoff を決めた。

*H. pylori*, *H. bilis*, *H. hepaticus* は同じ *Helicobacter* 属細菌であり、共通抗原も多いことから、全菌体抗原 EIA 法では、*H. pylori* の感染者の場合、他の *Helicobacter* 属細菌に対する抗体価は高く正しく測定できない。このため、*H. pylori* 抗体陰性の膵がん 120 例、胆道がん 130 例、対照 117 例の血漿を、*H. bilis* と *H. hepaticus* の全菌体抗原 EIA 法で測定した。*H. bilis* は、cutoff 値 2.0 では、膵がん 9 例 (7.5%)、胆道がん 19 例 (14.6%)\*、対照 10 例 (8.5%) が陽性、cutoff 値 1.6 ではそれぞれ 26 例 (22%)、41 例 (32%)、32 例 (27%) が、*H. hepaticus* (cutoff 値 2.0) ではそれぞれ 2 例 (1.7%)、8 例 (6.2%)\*、1 例 (0.9%) が陽性であった。（\*対照に対して  $p < 0.05$ ）

対照に比べて胆道がん症例で、*H. bilis* と *H. hepaticus* の抗体保有率が有意に高く、膵がん症例でも有意ではないが、抗体保有率は高かった。より特異的な抗体測定系を開発し、正確な測定で確認する必要はあるが、膵がん、胆道がんの発生に *Helicobacter* 属が関与している可能性が示された。

## 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 2 件)

Ueno M, Ohkawa S, Morimoto M, Ishii H, Matsuyama M, Kuruma S, Egawa N, Nakao H, Mori M, Matsuo K, Hosono S, Nojima M, Wakai K, Nakamura K, Tamakoshi A, Takahashi M, Shimada K, Nishiyama T, Kikuchi S, Lin Y. Genome-wide association study-identified SNPs (rs3790844, rs3790843) in the NR5A2 gene and risk of pancreatic cancer in Japanese. *Sci Rep*. 査読有 2015;5:17018. doi: 10.1038/srep17018.

Kuruma S, Egawa N, Kurata M, Honda G, Kamisawa T, Ueda J, Ishii H, Ueno M, Nakao H, Mori M, Matsuo K, Hosono S, Ohkawa S, Wakai K, Nakamura K, Tamakoshi A, Nojima M, Takahashi M, Shimada K, Nishiyama T, Kikuchi S, Lin Y. Case-control study of diabetes-related genetic variants and pancreatic cancer risk in Japan. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(46): 17456-62. doi:10.3748/wjg.v20.i46.17456.

〔学会発表〕(計 4 件)

大崎敬子, 奥田真珠美, 米澤英雄, 蔵田訓, 花輪智子, 神谷茂. 腸肝系 *Helicobacter* 属細菌感染と膵臓癌および胆道癌との関連について. 第 91 回日本感染症学会総会・学術講演会第 65 回日本化学療法学会学術集会合同学会 2017 年 4 月 7 日

林櫻松, 笹平直樹, 石井浩, 上野誠, 江川直人, 来間佐和子, 中尾春壽, 菊地正悟. 膵がん罹患リスクに及ぼす遺伝子多型の検討. 第 24 回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2016)、デジタルポスター発表、神戸、2016 年 11 月 3 日

Yingsong Lin, Naoto Egawa, Shogo Kikuchi. Obesity and risk of pancreatic cancer: epidemiologic evidence and perspective. Poster presentation, The Joint Conference of International Association of Pancreatology, Japan Pancreas Society, and Asian Oceanic Pancreatic Association (2016), Sendai, August 4, 2016

来間佐和子, 江川直人, 菊地正悟, 肥満, 糖尿病関連遺伝子多型と膵臓癌 についての多施設共同研究, 第 100 回消化器病学会、シンポジウム 8 生活習慣病と消化器疾患・病態生理学の新たな展開、S8-8 追加発言、東京、

2014年4月23日

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

菊地 正悟 (KIKUCHI Shogo)  
愛知医科大学・医学部・教授  
研究者番号：40224901

### (2)研究分担者

神谷 茂 (KAMIYA Shigeru)  
杏林大学・医学部・教授  
研究者番号：10177587

上野 誠 (UENO Makoto)  
神奈川県立がんセンター・臨床研究所・その他  
研究者番号：10520760

森 満 (MORI Mitsuru)  
札幌医科大学・医学部・教授  
研究者番号：50175634

福田 能啓 (FUKUDA Yoshihiro)  
札幌医科大学・医学部・教授  
研究者番号：601458640  
(平成26年度)

奥田真珠美 (OKUDA Masumi)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号：40531091

(平成27・28年度)

中尾 春壽 (NAKAO Haruhisa)  
札幌医科大学・医学部・教授  
研究者番号：601458640

石井 浩 (ISHII Hiroshi)  
がん研究会有明病院・消化器内科・副部長  
研究者番号：70521855  
(平成26年度)

笹平 直樹 (SASHIRA Naoki)  
がん研究会有明病院・消化器内科・部長  
研究者番号：30401102  
(平成27・28年度)

来間 佐和子 (KURUMA Sawako)  
東京都立駒込病院臨床研究室・消化器内科・  
医員  
研究者番号：90627639

### (3)連携研究者

大崎 敬子 (OSAKI Takako)  
杏林大学・医学部・准教授  
研究者番号：90255406

林 櫻松 (LIN Yingsong)  
愛知医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：50340302

### (4)研究協力者

壇 直彰 (DAN Naoaki)  
東京都立大塚病院・消化器内科・部長

江川 直人 (EGAWA Naoto)  
東京都立広尾病院・病院長