

令和元年6月25日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09283

研究課題名(和文) 胃上皮性腫瘍におけるヘリコバクターピロリ除菌の脱腫瘍化誘導機構の解明

研究課題名(英文) Re-differentiation of gastric cancer tissue by eradication therapy

研究代表者

伊藤 公訓 (Ito, Masanori)

広島大学・医歯薬保健学研究科(医)・准教授

研究者番号：60325206

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ヘリコバクター・ピロリ除菌治療後に発見される胃癌(いわゆる除菌後胃癌)について、その特性を明らかにした。これらの胃腫瘍は、内視鏡的に診断が困難であり、従来の胃癌に比し粘膜下層浸潤がんで発見される頻度が有意に高いことを明らかにした。さらに、その早期診断には画像強調拡大内視鏡が有用であることを報告した。また腫瘍表層に出現する特異的な上皮反応は、腫瘍組織の再分化により出現することを遺伝子学的検査により明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦で急速に増加しつつある除菌後発生胃癌に対して、早期発見の困難性と、それを克服する有用な診断方法を提示することができた、これにより、胃内視鏡検診などの実施方法に改善の余地があることを示すことができた。より有効な胃内視鏡検査方法を確立することは、国民の利益に直結する事柄である。また除菌治療による腫瘍組織の再分化現象は、これまでの病理学的常識を覆すものであり、当該分野における病態解析についての道筋を開くことができた。

研究成果の概要(英文)：We clarify the clinic-pathological feature of gastric cancer after eradication therapy. We reported the difficulty to detect these cancers and demonstrated the usefulness of magnifying narrow band imaging (M-NBI) method for the early detection. In addition, we demonstrated that the epithelium with low grade atypia on the surface of cancer tissue was induced by re-differentiation of gastric cancer by H. pylori eradication therapy.

研究分野：消化器内科学

キーワード：ヘリコバクター・ピロリ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

胃癌撲滅は、本邦の癌対策において柱になるべき施策である。胃癌一次予防には、*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)除菌治療が有効であり、各自治体において若年者に対する除菌介入が広がりつつある。一方、*H. pylori* 除菌治療後にも胃癌は発見されるが、その胃癌組織には特有の形態があることを、我々は世界ではじめて見出した(Ito M et al. AP&T, 2005)。すなわち、胃癌組織の表層部には、腫瘍組織に比し異型度の低い上皮組織が出現しており、我々はこれを低異型度上皮 (ELA: epithelium with low grade atypia) と命名した。この上皮の由来は不明であり、この現象が惹起する臨床的重要性は明らかでなかった。

### 2. 研究の目的

本研究の核心をなす問いは、「胃癌は *H. pylori* 除菌治療などによる後天的介入により再分化するか?」というものである。従来、胃腺癌においては、正常組織に見られる表層部への分化傾向を示すことはないと考えられてきた。そのため、胃生検診断に際しては、「表層部への分化傾向が認められた場合、その組織は腫瘍とは診断できない」という診断基準が存在している。

一方、我々は、既知の胃腫瘍に除菌治療を行うと、胃腫瘍の表層部に、腫瘍組織と比し明らかに異型性が低い特異的な上皮が出現することを報告したが、本研究ではその組織変化の本質を明らかにするとともに、その現象が惹起すると想定される臨床的課題を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

現状における臨床的課題を1)で示し、さらに、それに対する課題克服の手段を研究2)で明らかにした。さらには、ELAの由来について検討3)で明らかにし、従来の概念を覆す「胃腺癌組織再分化」の可能性について提言を行った。

研究1：除菌後胃癌における内視鏡的診断の限界について（逐年内視鏡検査実施例における粘膜下層浸潤癌として診断された *Helicobacter pylori* 除菌後分化型胃癌症例の特性解析）

除菌後発見胃癌は、我々が発見した ELA の出現により、内視鏡的診断が困難なことが多い。除菌後発見胃癌は、逐年検査を実施しても浸潤癌で発見される頻度が高い、という検証仮説を立て、検討を行った。2005年1月から2017年12月まで、当院にて内視鏡的粘膜下層剥離術を施行した2,795例（男性2,055例、平均年齢70.0歳）を対象とした。当院ならびに関連施設での内視鏡検査履歴を後ろ向きに検討し、胃癌発見の6-18ヶ月前に内視鏡検査を実施していた（逐年内視鏡検査実施例）分化型早期胃癌220症例（男性179例、平均年齢71.0歳）を抽出し、最終検討対象とした。これらを、胃癌診断前に *H. pylori* 除菌治療を施行していた群（除菌群）と非除菌群（対照群）に分け、年齢、性別、初発・二次癌、を共変量とし、ロジスティック回帰法にてプロペンシティスコアを算出し、マッチング後に2群間の特性を比較検討した。さらに、粘膜下層浸潤癌と診断された除菌後胃癌症例の特性について検討した。

研究2：除菌後胃癌早期発見のため、除菌後症例でみられる発赤陥凹性病変の質的診断における NBI 拡大内視鏡観察の有用性について

除菌後早期胃がんは、内視鏡的に発赤陥凹として視認されるが、その質的診断は容易ではな

い。新しい質的診断方法として、NBI 拡大内視鏡観察の有用性について検討した。2015 年 6 月から 2017 年 1 月まで、当院ならびに関連施設にて上部消化管内視鏡検査を施行した除菌後症例のうち、白色光観察で発赤陥凹病変を認め、同部の NBI 拡大観察が可能であった連続する 90 例（男性 67 例）、104 病変を前向きに登録し検討対象とした。生検による修飾が加わっている病変は対象から除外した。八尾らの基準に基づき、不整な粘膜微細構造や血管構造を認めた場合は、生検による組織診断を追加した。除菌後にみられる発赤陥凹において、1) NBI 拡大観察における不整所見の出現頻度、ならびに 2) 不整と判定し生検を行った病変の陽性反応的中率を算出した。また生検で非腫瘍性病変と診断された粘膜の組織学的特徴を検討した。

### 研究 3：除菌後胃癌表層に出現する低異型度上皮のゲノム変異解析

ELA の由来を明らかにするため、遺伝学的解析を行った。対象は 2013 年から 2016 年に当院で内視鏡的切除術を施行した除菌後早期胃癌で、広範囲に ELA を認めた 10 症例(男女比 4 : 6、年齢中央値 : 74 歳、病変径中央値 : 15mm、除菌から ESD までの期間中央値 : 3 年)とした。各症例のホルマリン固定パラフィン包埋検体から、レーザーマイクロダイセクションにて癌部・正常部・ELA を切り出し、DNA (背景粘膜 100ng・癌部 100ng・ELA10ng) を抽出した。抽出した DNA は qPCR にて Quality check を行い、癌関連 90 遺伝子を搭載したパネルを用いてライブラリーを作成し、次世代シーケンサー(NGS)にて deep sequence を行った。全血由来 DNA の sequence と比較して、それぞれの組織での somatic mutation を同定した。

## 4 . 研究成果

### 研究 1：除菌後胃癌における内視鏡的診断の限界について（逐年内視鏡検査実施例における粘膜下層浸潤癌として診断された *Helicobacter pylori* 除菌後分化型胃癌症例の特性解析）

除菌群は 81 症例、対照群は 139 症例であった。粘膜下層浸潤癌で発見された症例は、除菌群で 13 例（16.0%）、対照群で 10 例（7.2%）であり、両群間に有意差を認めた( $P=0.038$ )。プロペンシティスコアマッチング後に両群（各群 81 例）を比較すると、粘膜下層浸潤癌で発見された症例は除菌群で 13 例（16.0%）、対照群で 4 例（4.9%）であり、全症例での検討と同様に有意差を認めた( $P=0.021$ )。また、粘膜下層浸潤癌を対象とした比較検討では、胃癌の局在、腫瘍径、前年度生検など、内視鏡的存在診断能に影響を及ぼす因子に関して、両群間に差は認めなかった。以上より、*H. pylori* 除菌治療は分化型早期胃癌の内視鏡的視認性を低下させ、粘膜下層浸潤癌の比率を増加させることが明らかとなった。

### 研究 2：除菌後胃癌早期発見のため、除菌後症例でみられる発赤陥凹性病変の質的診断における NBI 拡大内視鏡観察の有用性について

(1) 除菌後 301 症例中 117 症例 (39%) では背景胃粘膜に発赤陥凹を認め、対照群 (7%) と比較し有意に高率であった ( $p<0.01$ )。除菌群、対照群の性、年齢に差異はなかった。発赤陥凹の出現因子について、年齢、性、木村・竹本分類による内視鏡的萎縮境界、胃腫瘍の既往を要因として単変量解析を行ったところ、60 歳以上、男性、open type の萎縮、胃腫瘍の既往ありで有意に出現頻度が高率であった。多変量解析では、男性 (OR:2.32、95%信頼区間

(CI):1.33-4.17) open type の萎縮(OR:2.24、95%CI:1.32-3.83) 胃腫瘍の既往あり(OR:4.00、95%CI:1.31-15.0) が独立したリスク因子として抽出された。発赤陥凹を認めた 117 症例のうち、83 症例で生検を施行したが、癌と診断されたのはわずか 2 例のみであった(生検陽性率は 2.4%)。生検陰性例は組織学的には腸上皮化生の頻度が高かった。

(2)M-NBI で不整と判定し生検を行った 21 病変 (20%)において、9 病変が癌と診断された(生検陽性率は 43%)。白色光観察のみで生検を施行した群との比較において、M-NBI 群では要生検率は有意に低く、陽性反応的中率は有意に高率であった ( $p<0.01$ )。さらに、年齢、性、胃粘膜萎縮の程度、癌の既往を共変量としロジスティック回帰法にてプロペンシティブスコアを算出し、マッチング後(PSM)に白色光観察群と M-NBI 群を比較検討した。PSM 後においても M-NBI 群では有意に要生検率は低く、陽性反応的中率は有意に高率であった。

### 研究 3 : 除菌後胃癌表層に出現する低異型度上皮のゲノム変異解析

10 症例全例において NGS 解析に質的・量的に使用可能な DNA が癌部・背景粘膜・ELA より採取可能であった。NGS 解析の結果、癌・ELA 検体では 10 例中 8 例に somatic mutation を認め、癌部で計 11 個の変異、ELA で計 17 個の変異が認められた。背景粘膜では変異は認められなかった。癌部で認めた変異は、全て同一症例での ELA で変異が認められた。また、6 個の変異が ELA に特異的に認められた。中でも CHEK2 遺伝子上の変異は ELA でのみに 3 例で認められた。この結果から ELA は癌由来の組織であること、CHEK2 遺伝子が ELA の形質変化に関連している可能性が示唆された。この研究で我々は除菌後胃癌表層に発現する ELA のゲノム変異解析に成功し、解析の結果、ELA は癌由来であることが示唆された。

### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

- 1) Hata K, Ito M, Boda T, Kotachi T, Kiso M, Masuda K, Kurihara M, Kuroki K, Yorita N, Nagasaki N, Abduwali M, Tanaka S, Chayama K. Gastric Cancer with Submucosal Invasion after Successful Helicobacter pylori Eradication: A Propensity Score-Matched Analysis of Patients with Annual Patient Endoscopic Survey. Digestion. 99: 59-65, 2019. (査読あり)
- 2) Kotachi T, Ito M, Boda T, Kiso M, Masuda K, Hata K, Kawamura T, Sanomura Y, Yoshihara M, Tanaka S, Chayama K. Clinical significance of reddish depressed lesions observed in the gastric mucosa after Helicobacter pylori eradication. Digestion 98, 48-55, 2018. (査読あり)
- 3) Kotachi T, Ito M, Yoshihara M, Boda T, Kiso M, Masuda K, Matsuo T, Tanaka S, Chayama K: Serological evaluation of gastric cancer risk based on pepsinogen and Helicobacter pylori antibody: Relationship to endoscopic findings. Digestion 95, 4, 314-318, 2017. (査読あり)
- 4) Kiso M, Yoshihara M, Ito M, Inoue K, Kato K, Nakajima S, Mabe K, Kobayashi M, Uemura N, Yada T, Oka M, Kawai T, Boda T, Kotachi T, Masuda K, Tanaka S, Chayama K: Characteristics of gastric cancer in negative test of serum anti-Helicobacter pylori antibody

and pepsinogen test: a multicenter study. Gastric Cancer 20, 5, 764-771, 2017. ( 査読あり )

〔学会発表〕(計 6 件)

- 1) Ito M. Diagnosis and treatment of gastric cancer discovered after H.pylori eradication The 27th Annual Meeting of the Korean College of Helicobacter and Upper Gastrointestinal Research & The 16 Japan-Korea Joint Symposium on Helicobacter Research, Busan, 2019
- 2) 伊藤公訓: 胃癌予防と除菌後胃癌. 日本ヘリコバクター学会 平成30年度第2回教育講演会, 2018.
- 3) 伊藤公訓: ピロリ除菌後の胃がん 分かってきたこと、分からないこと. 第109回日本消化器病学会中国支部例会ランチョンセミナー, 2018.
- 4) 伊藤公訓: ピロリ菌関連疾患の内視鏡診断と治療. 第27回日本消化器内視鏡学会中国支部セミナー, 2018.
- 5) 伊藤公訓, 保田智之, 小刀崇宏, 他: 除菌治療後に発見される胃がんの特性と適正な診断. 第24回日本ヘリコバクター学会学術集会, 2018.
- 6) 益田和彦、卜部祐司、中村耕樹、伊藤公訓、田中信治、茶山一影: 除菌後胃癌表層に出現する低異型度上皮のゲノム変異解析第15回消化管学会コアシンポ1 2018

〔図書〕(計 1 件)

- 1) Ito M, Boda T, Kotachi T, Kiso M, Masuda K, Hata K, Yoshihara M, Tanaka S, Chayama K: Chapter6 Serum Markers. Gastric Cancer: With Special Focus on Studies from Japan, A Shiotani Ed, Springer, Singapore, 79-86, 2018.

〔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:  
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:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。