

令和 3 年 5 月 20 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07447

研究課題名(和文)ピロリ菌感染による胃癌発症の診断と発症機構の解析

研究課題名(英文)Diagnosis of gastric cancer due to Helicobacter pylori infection and analysis of mechanism

研究代表者

横田 憲治(Yokota, Kenji)

岡山大学・保健学研究科・教授

研究者番号：00243460

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：1) Th1/2と胃癌発症：感染マウスモデルを作成し、各マウスにサイトカインの投与を行い、Th1とTh2の免疫反応の誘導を行った。IgG1/IgG2サブクラスの測定結果より、サイトカインの投与には20U投与が免疫誘導に効果があると考えられる。また、IL-10投与群では細胞性免疫が抑制され、液性免疫が優位になっていることが判明した。

2) Cystatin A: Cystatin A が培養時の刺激に用いる抗原や種々のサイトカインに影響を受けて変化しているものなのかを検討し、PMA または GM-CSF/IL-4 刺激により、Cystatin A の発現が低下した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Helicobacter pylori (ピロリ菌) 感染は胃炎や胃粘膜委縮を起こし、消化性潰瘍、MALTリンパ腫、胃癌の原因になる。胃癌(intestinal type)は、日本において罹患率の高いガンであり、早期発見と予防が重要である。ピロリ菌感染がなければ、胃癌発症はなくなると考えられ、感染者を除菌するのが胃癌予防に最も有効である。そのため多くの無症状の感染者から感染者を効率よく見出すことと、さらに、感染者の中から胃癌を発症するリスクの高い人を見出すことができれば有効な検査が行える。またこれによりヒトにおける胃癌発症の原因の一つを明らかにできる。

研究成果の概要(英文)：1) Th1 / 2 immunity and gastric cancer: An infected mouse model was created, and blood sampling was performed to monitor the antibody titer subclass. After confirming infection in all mice, cytokines were administered to each mouse to induce an immune response between Th1 and Th2. From the measurement results of the IgG1 / IgG2 subclass, and 20U administration is effective in inducing immunity for cytokine administration. In addition, it was found that cell-mediated immunity was suppressed and humoral immunity was predominant in the IL-10-administered group than in the IFN- γ -administered group.

2) Cystatin A: We investigated whether Cystatin A was affected by the antigens used for stimulation during culture and various cytokines. PMA or GM-CSF / IL-4 stimulation reduced the expression of Cystatin A. The expression of Cystatin A was considered to be related to the activation of immune functions such as cytokine stimulation.

研究分野：細菌学

キーワード：Helicobacter pylori Gastric cancer T helper 1/2 Cytokine CystatinA

1. 研究開始当初の背景

Helicobacter pylori(ピロリ菌)感染は胃炎や胃粘膜委縮を起こし、消化性潰瘍、MALT リンパ腫、胃癌の原因になる。胃癌 (intestinal type) は、日本において罹患率の高いガンであり、早期発見と予防が重要である。ピロリ菌感染がなければ、胃癌発症はなくなると考えられ、感染者を除菌するのが胃癌予防に最も有効である。そのため多くの無症状の感染者から感染者を効率よく見出すことと、さらに、感染者の中から胃癌を発症するリスクの高い人を見出すことができれば有効な検査が行える。またこれによりヒトにおける胃癌発症の原因の一つを明らかにできる。本研究では、多くの感染者から少数の胃癌発症するヒトの免疫学的特徴を明らかにし、ヒトにおける胃癌発症のメカニズムを明らかにする。

2. 研究の目的

ピロリ菌感染による胃癌発症を予測するマーカーとして、IgG サブクラスなどがすでに報告されているが、我々の研究の精度が高い。それは、我々の IgG サブクラス測定に使用している抗原 (cagA; ABD, vacA; s1c/m1, cagE+, iceA1, and babA2; 代表的日本人分離株) は、非常に日本人の抗体測定に適しており、WAKO の市販の試薬にも導入されている抗原を用いているためと思われる。この抗原を見出したのは我々独自の研究成果である。また、CystatinA (Stefin A とも言われる) は Cystatin Family に属する 11.17kDa の蛋白である。Cystatin Family は 3 つの Family からなる一群のプロアーゼインヒビターであり、CystatinA は免疫反応に関与すると報告されている。このタンパクに注目し、免疫反応の最初の段階で抗原の処理にかかわるタンパクが、免疫反応に影響している可能性を考え、ピロリ菌による胃癌発症の新しいマーカーになりうる可能性があり、胃癌誘導する免疫反応にもかかわっている可能性もある。

3. 研究の方法

1) Th2 優位の免疫を強く誘導すると、胃癌発症が誘導できるのか? 動物実験を行う。

マウスは、系統により細胞性免疫優位なマウス (C57BL/6) や液性免疫優位なマウス (BALB/c) などがある。今回の実験は、単純感染でも MALT リンパ腫発症が報告されている BALB/c を使用する。週齢の若いマウスにピロリ菌 (SS1 株) を感染させ、コントロール群、IL10 投与 (Th-2) 誘導群、IFN- γ (Th-1) 誘導群の 3 群に分け、採血によりピロリ菌抗体のサブクラスをモニタリングしながら経過観察す。局所の反応をさらに強く誘導するため、手術により胃の漿膜側より IL10、IFN- γ を局所投与し 2-3 か月後、胃の病理切片を作製し病態を見る。これを 2 年目で行う。3 年目からはさらに半年以上観察期間を延ばす予定。これにより Th2 優位の免疫反応を強く誘導した場合、胃癌発症するのか明らかにしたい。

2) CystatinA のピロリ菌感染時の免疫学的機能と胃癌患者での発現解析 (胃癌発症のマーカーになるか?) の研究では、すでに患者の末梢血をピロリ菌で刺激したリンパ球を -80 で保存してあるので、Light Cyler で CystatinA の発現量を、胃癌患者と胃ガン発症していない胃炎患者で比較検討する。培養細胞 NOMO1 (単球/マクロファージ系株化細胞) を用いて、抗原提示細胞での CystatinA 発現と抗原提示能に関係あるのか (HLA class2 の発現) 検討する。CystatinA の発現が免疫に与える影響と、低下した Th1 免疫がピロリ菌感染による発癌に影響するか明らかにする。

4. 研究成果

1) Th1/2 と胃癌発症

早期胃癌で内視鏡手術を受けて経過観察中に 5 年以内に胃癌を発症した患者を調べると、IgG1 (Th2) 抗体が、再発しない患者に比べ優位に高かった (右図 B)。この Th1 を抑制するサイトカインである IL10 のプロモーター領域の IL10 産生に影響する 3 か所の SNP (A1082G、C819T、A592C) を調べると、1082 と 592 が胃癌再発に関係していることが判明した。

感染マウスモデルを作成し、採血により抗体価のサブクラスのモニタリングを行った。全てのマウスの感染を確認後、各マウスにサイトカインの投与を行い、Th1 と Th2 の免疫反応の誘導を行った。IgG1/IgG2 サブクラスの測定結果より、サイトカインの投与には 20U 投与が免疫誘導に効果があると考えられる。また、IL-10 投与群では IFN- 投与群よりも細胞性免疫が抑制され、液性免疫が優位になっていることが判明した。

2) Cystatin A

Cystatin A が培養時の刺激に用いる抗原や種々のサイトカインに影響を受けて変化しているものなのかを検討した。PMA または GM-CSF/IL-4 刺激により、Cystatin A の発現が低下した。また、サイトカイン刺激をした場合、抗原の有無は Cystatin A の発現量には関係がなかった。以上より、Cystatin A の発現はサイトカイン刺激のような免疫機能の活性化と関わりがあると考えた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Take S, Mizuno M, Ishiki K, Kusumoto C, Imada T, Hamada F, Yoshida T, Yokota K, Mitsuhashi T, Okada H.	4. 巻 55
2. 論文標題 Correction To: Risk of Gastric Cancer in the Second Decade of Follow-Up After Helicobacter Pylori Eradication	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Gastroenterol .	6. 最初と最後の頁 289-290
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-019-01654-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Take S, Mizuno M, Ishiki K, Kusumoto C, Imada T, Hamada F, Yoshida T, Yokota K, Mitsuhashi T, Okada H.	4. 巻 55
2. 論文標題 Risk of Gastric Cancer in the Second Decade of Follow-Up After Helicobacter Pylori Eradication	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Gastroenterol .	6. 最初と最後の頁 281-288
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-019-01639-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sato M, Miura K, Kageyama C, Sakae H, Obayashi Y, Kawahara Y, Matsushita O, Yokota K, Okada H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Association of host immunity with Helicobacter pylori infection in recurrent gastric cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Infect Agent Cancer.	6. 最初と最後の頁 4-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13027-019-0221-1. eCollection 2019.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Chihiro Kageyama, Mayu Sato, Hiroyuki Sakae, Yuka Obayashi, Yoshiro Kawahara, Takehiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Increase in antibiotic resistant Helicobacter pylori in a University Hospital in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Infect Drug Resist	6. 最初と最後の頁 597-602
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/IDR.S196452	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 横田 憲治, 林 俊治, 竹内 啓晃, 横田 伸一, 大崎 敬子
2. 発表標題 日本ヘリコバクター学会Helicobacter pylori薬剤耐性菌基準パネルの作製
3. 学会等名 第26回日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 榮 浩行, 横田 憲治, 岡上 昇太郎, 大林 由佳, 岡田 裕之
2. 発表標題 H.pylori感染胃炎における硝酸塩還元菌の胃内生息状況に関する検討
3. 学会等名 第26回日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大林 由佳, 横田 憲治, 榮 浩行, 河野 吉泰, 岡田 裕之
2. 発表標題 若年者のABC検診におけるペプシノーゲン値の検討
3. 学会等名 第24回 日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横田 憲治, 小畑 智実, 市原 愛夏, 美間 健彦, 山本 由弥子, 後藤 和義, 松下 治
2. 発表標題 ジスルフィラムのHelicobacter.pyloriに対する抗菌作用
3. 学会等名 第93回日本細菌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横田 憲治, 山本 由弥子, 美間 健彦, 後藤 和義, 松下 治
2. 発表標題 ピロリ菌の大学病院における薬剤耐性の現状
3. 学会等名 第92回日本細菌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 榮 浩行, 横田 憲治, 大林 由佳, 河野 吉泰, 岡田 裕之
2. 発表標題 感染診断法の現状と将来 血清H.pylori抗体の感染診断における既定のカットオフ値の妥当性に関する検討
3. 学会等名 第24回 日本ヘリコバクター学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	岡田 裕之 (Okada Hiroyuki) (60263563)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究 分担者	渡辺 朱理 (Watanabe Akari) (80585026)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学域)・講師 (16101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------