

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08336

研究課題名（和文）ISXに着目した非H. pylori胃細菌叢除菌による胃発癌対策治療の確立

研究課題名（英文）Establishment of anti-gastric carcinogenesis treatment by non-H. pylori gastric flora eradication focusing on ISX

研究代表者

須江 聡一郎（SUE, Soichiro）

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：00738619

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）：非H.pylori組織学的胃炎症例における胃液を用いた胃細菌叢解析を実施した。胃炎や腸上皮化生との関連が示唆される細菌叢を同定した。非H.pylori胃炎症例における胃生検組織を用いた胃細菌叢のメタ16S解析を実施した。非H.pylori感染の胃細菌叢の存在する胃粘膜に対して胃細菌叢除菌治療を実施し、前後の胃細菌叢の変化と胃炎、腸上皮化生の変化、ISX発現変化を評価する臨床研究法に基づく特定臨床研究を実施し、33例中20例の登録・実施を行っている（jRCTs031230207）。最終的な結果は総括報告書の概要として研究終了後にjRCTにおいて公表する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ISXは胃発癌と腸上皮化生に関係する分子で、ISX-K0マウスではニトロソ化合物による胃発癌モデルで腫瘍発生が抑制され、CDX2、CyclinD1、CD44を介した発癌に関与することを解明してきた。特定の非H.pylori胃細菌叢がニトロソ化を促進し胃発癌に関連することに着目し、ISX発現を抑制するように胃癌との関連が示唆されている非H.pylori胃細菌叢を除菌するという胃発癌対策の着想を得た。本研究は胃細菌叢とISX発現の関係を明らかとし、H.pylori除菌後の胃細菌叢除菌という先駆的なH.pylori除菌後胃発癌治療がISX発現を抑制するか、胃がん抑制効果が期待できるかを検証する。

研究成果の概要（英文）：Gastric flora analysis was performed using gastric juice in non-H. pylori histological gastritis cases. We identified bacterial flora suggested to be associated with gastritis and intestinal epithelialization. We performed a meta-16S analysis of gastric bacterial flora using gastric biopsy tissue in non-H. pylori gastritis cases. Conducted a specific clinical study based on the Clinical Research Act to evaluate changes in gastric flora and gastritis, intestinal epithelialization, and ISX expression changes before and after gastric flora eradication treatment on gastric mucosa with non-H. pylori infection, and enrolled and conducted 20 of 33 cases (jRCTs031230207). The final results will be published in jRCT after the study is completed as a summary in the summary report.

研究分野：消化器内科学

キーワード：ISX 胃細菌叢除菌 非H. pylori 胃発癌対策治療 腸上皮化生 胃細菌叢

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

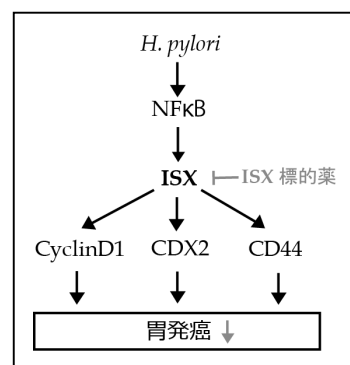
1. 研究開始当初の背景

Helicobacter pylori (*H. pylori*)感染は胃癌の主な原因であり、*H. pylori*はその種々の病原因子により宿主胃上皮細胞において様々な遺伝子変異・修飾を惹起すると共に(Cancer Genome Atlas, Nature, 2014)、NF- κ Bシグナルを代表として慢性炎症に重要な様々なシグナルの活性化を誘導し発癌に関与している (Sue, BioMed Res Int, 2015)。そのため *H. pylori* 除菌治療は胃癌対策として最も重要で、*H. pylori* の抗菌薬耐性に基づく治療戦略 (Sue, Helicobacter, 2018)、ペニシリンアレルギーの場合の除菌 (Sue, Gastroenterol Res Pract, 2018)、保険外の救済除菌治療 (Sue, J Gastroenterol Hepatol, 2019) が専門外来で展開されてきた。しかし除菌後も胃炎や腸上皮化生が残存し、除菌後胃癌が問題となっており、メカニズム解明やリスク評価、*H. pylori* 除菌後胃炎への治療介入の開発と有効性の評価が重要な課題であった。

私たちは胃癌と腸上皮化生の関係を説明する分子 ISX を明らかにした。ISX は正常胃では発現していないが、*H. pylori* 感染に伴う慢性炎症シグナル NF- κ B を介して発現増加し、ISX の発現は CDX2 の発現を介して腸上皮化生に、CyclinD1 の発現を介して細胞増殖に、CD44 の発現を介して幹細胞化の維持にそれぞれ働いていることを示してきた (2017 年消化器病学会奨励賞、Sue, J Gastroenterol, 2016)。またマウスの MNU 胃癌モデルを ISX ノックアウトマウスで行うと胃腫瘍の発生が有意に減少し、その効果は ISX の上流シグナルである NF- κ B ノックアウトマウスを用いた結果と同様であった (Sue, 2017, DDW oral presentation) ことから、ISX は NF- κ B の下流シグナルの中で特に胃癌と関連が強い分子であることが示された。さらに胃癌において ISX を強制発現すると xenograft モデルで増殖は亢進し、ノックダウンすると増殖は抑制された。

一方近年次世代シーケンサーを用いた 16SrRNA 遺伝子の解析により、*H. pylori* 以外の胃細菌叢に関する検討の研究が行われている。私たちも *H. pylori* 除菌後の胃炎において非 *H. pylori* ウレアーゼ産生菌が数多くの症例で存在していることを臨床的に確認してきた。胃癌と非癌の胃生検での検討からは *H. pylori* 以外に *Propionibacterium acnes* (OR=4.77, 95%CI=2.94-7.74, $p < 0.001$), *Prevotella copri* (OR=2.54, 95%CI=1.42-4.55, $p = 0.002$) がリスク因子として、*Lactococcus lactis* (OR=0.21, 95%CI=0.10-0.44) は保護因子として報告された (Gunathilake, Sci Rep, 2019)。また胃癌における胃細菌叢は発癌性のあるニトロソ化合物を作成するニトロソ化機能が増強していた (Ferreria, Gut, 2018)。

MNU を用いた MNU 胃癌モデルで ISX をノックアウトすると胃腫瘍の発生が抑えられたことから、前述の非 *H. pylori* 胃細菌叢が胃癌に関与しているとする、胃における ISX 発現は胃癌リスクを予測する指標となり、それらの薬剤を除菌し、ISX 発現を抑制できれば *H. pylori* 除菌後の胃癌リスクをさらに下げることができるのではないかと考えた。



2. 研究の目的

H. pylori が感染していない (*H. pylori* 除菌後等) 胃において、胃癌と関連しニトロソ化を促進する胃細菌叢を除菌することは、胃癌と腸上皮化生に重要な役割を果たす ISX の発現を抑

制し、胃発癌対策として新たな治療選択となりえるかを検討すること。

具体的にはヒトの胃液や胃生検組織を用いてヒト胃細菌叢解析を 16SrRNA 解析・ショットガンメタゲノム解析の手法で実施し、ヒトでの介入研究実施の前段階の検討を行う。また、*H. pylori* の感染のない方を対象とした臨床研究法における特定臨床研究での胃細菌叢除菌を実施し、ISX 発現の抑制効果や、胃発癌抑制効果の検討を行う。

3 . 研究の方法

「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」に基づいて、観察研究として胃液を用いた胃細菌叢解析を行う観察研究を倫理委員会承認と文書での同意取得に基づき実施した。対象として尿素呼気試験、便中 *H. pylori* 抗原で *H. pylori* 感染の status が評価されている方。*H. pylori* 感染を認めないにも関わらず、胃炎や腸上皮化生を認める場合の胃細菌叢を解析することを主な目的として実施した。

「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」に基づいて、観察研究として胃生検組織を用いた胃細菌叢解析を行う観察研究を倫理委員会承認と文書での同意取得に基づき実施した。対象は早期胃癌内視鏡治療後の内視鏡的胃炎を有する患者で、主な評価項目は胃細菌叢の菌種と割合。

非 *H. pylori* 感染の胃細菌叢の存在する胃粘膜に対して胃細菌叢除菌治療を実施し、前後の胃細菌叢の変化と胃炎、腸上皮化生の変化、ISX 発現変化を評価する臨床研究法に基づく特定臨床研究を、認定 CRB 承認・管理者許可・jRCT (Japan Registry of Clinical Trials) 公表後に開始した。研究の名称は「ボノプラザン、メトロニダゾール、シタフロキサシンでの胃細菌叢除菌による胃癌抑制効果を腸上皮化生改善により評価する探索的介入試験」で臨床研究実施計画番号は jRCTs031230207。研究目的はヘリコバクターピロリの現感染のない腸上皮化生を有する方に、ボノプラザン、メトロニダゾール、シタフロキサシンでの胃細菌叢除菌を行い、腸上皮化生が改善するか検討すること。試験の種類は介入研究。試験のデザインは単一群、非盲検、治療目的。実施予定被験者数は 33 例。主たる選択基準は (1) 1 年 3 か月以内の内視鏡検査にて内視鏡的な腸上皮化生と考えられる方。(2) *H. pylori* の除菌治療後で除菌が成功したと評価されているか、*H. pylori* の現感染がないと臨床的に評価されている方 (3) 試験治療前の上部消化管内視鏡検査と生検、と試験治療後 1 年 ± 3 か月での上部消化管内視鏡検査と生検が実施できる方。介入の内容は、登録後、上部消化管内視鏡での生検を行い (登録から 30 日以内) その結果を説明し、胃前庭部の組織学的腸上皮化生スコアが 2 以上であれば治療開始する (上部消化管内視鏡から 30 日以内)。試験治療はボノプラザン 20mg1 日 2 回 (40mg/日)、メトロニダゾール 250mg1 日 2 回 (500mg/日)、シタフロキサシン 100mg1 日 2 回 (200mg/日) 以上 3 剤の 7 日間の内服治療。試験治療は過去に研究代表者らが実施した除菌治療において安全性が確認されているレジメンで (Sue, JGH Open, 2021)、かつターゲットとしている胃細菌叢に有効性が期待できる組み合わせで設定した。1 回目上部消化管内視鏡から 1 年 ± 3 か月での上部消化管内視鏡での生検を実施する。そして結果を説明する (上部消化管内視鏡から 30 日以内)。主たる評価項目は、組織学的腸上皮化生 (胃前庭部) の改善率 (定義 : 胃体部の Updated Sydney system の腸上皮化生スコアが 1 以下の割合。本研究では登録後胃体部の Updated Sydney system の腸上皮化生スコアが 2 以上の場合に介入を行い、1 以下に改善した割合を各群で評価する)。主要評価項目は胃発癌抑制効果の代替エンドポイントとして設定された。副次評価項目は、介入前後の組織学的スコアの変化、介入前後の内視鏡的スコアの変化、介入前後の CDX2 発現の変化、介入

前後の ISX の変化。

4 . 研究成果

胃液をもちいた胃細菌叢解析の結果として胃細菌叢を構成する門での上位5は *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Fusobacteria* の順に多かった。属レベルでの上位15は *Streptococcus*, *Acinetobacter*, *Lactobacillus*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Rothia*, *Actinobacillus*, *Actinomyces*, *Klebsiella*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Atopobium*, *Stenotrophomonas*, *Granulicatella*, *Leptotrichia* の順に多かった。 *Helicobacter* 属の細菌は検出されなかった。 *Acinetobacter*, *Lactobacillus*, *Actinobacillus*, *Fusobacterium* といった胃炎や炎症発がんとの関連が示唆されている胃細菌叢が検出された。特に *Acinetobacter* が全体の85%程度を構成し、細菌叢の多様性が極端に低下している症例を確認した。 *Acinetobacter* はマウスでの感染モデルにおいて *H. pylori* と同様の胃炎を来すことが報告されており (Zavros, *Infect Immun*, 2002)、そのメカニズムとしては *Acinetobacter* の OmpA like Protein が Gastrin や IL-8 プロモーターに作用することが報告されている (Ofori-Darko, *Infect Immun*, 2000)。 *H. pylori* 以外に胃炎を来す胃細菌叢が胃に存在しており、かつ病理学的な胃炎を来している症例が存在することが明らかになり、このような対象において胃細菌叢除菌を行うことで胃炎が改善できる可能性が示唆された。

胃生検組織を用いた胃細菌叢解析については症例登録中であり、解析に至っていない。

「ボノプラザン、メトロニダゾール、シタフロキサシンでの胃細菌叢除菌による胃癌抑制効果を腸上皮化生改善により評価する探索的介入試験」に関しては、2024年6月時点において承認されている33例中20例の登録、実施を行っているが、全予定症例の登録・実施、データ固定、実施計画・研究計画書に基づく解析は行われていないため、結果を報告することができない。本研究終了後に総括報告書の概要は jRCT において公表される予定である。それにより本研究で実施する胃細菌叢除菌治療の ISX 発現の抑制効果や、代替エンドポイントである腸上皮化生改善効果の評価により胃発癌抑制効果を明らかにすることができる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 須江 聡一郎
2. 発表標題 胃細菌叢と胃癌
3. 学会等名 神奈川Gut microbiotaセミナー 教育講演（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Soichiro Sue, Hiroaki Kaneko, Kuniyasu Irie, Takeshi Sato, Mao Matsubayashi, Shin Maeda
2. 発表標題 Gastric microbiota analysis of histological gastritis with UBT positive and H.pylori stool antigen negative
3. 学会等名 第26回ヘリコバクター学会 ワークショップ1
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 須江 聡一郎
2. 発表標題 胃細菌叢メタゲノム解析にてAcinetobacterが検出された非H.pylori胃炎
3. 学会等名 消化器病態治療研究会
4. 発表年 2021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	前田 慎 (Maeda Shin) (40415956)	横浜市立大学・医学研究科・教授 (22701)	

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
---------	---------