

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15927

研究課題名（和文）Hp未感染印環細胞癌の浸潤能に関する研究

研究課題名（英文）Study on invasion potential of Helicobacter pylori uninfected signet ring cell gastric cancer

研究代表者

小刀 崇弘（Kotachi, Takahiro）

広島大学・病院（医）・助教

研究者番号：60838788

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：本邦における浸潤性の胃癌のほとんどはピロリ菌感染が関わっている。ピロリ菌が関与しない浸潤性の胃癌ではどのような遺伝子変異が見られるか研究の目的とした。今回胃癌の中でも未分化型腺癌について解析した。ピロリ菌未感染胃癌、除菌後胃癌の癌組織の遺伝子解析ではCDH1, RHOA, TP53, ZFH3の病的バリエーションを全体の10%以上で認めた。その中で未感染胃癌群では除菌後胃癌群と比較してCDH1の病的バリエーションの頻度が有意に高かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ピロリ菌感染が減少している本邦では胃癌は数十年後には稀な癌になる可能性がある。しかしピロリ菌に関与しない未分化型胃癌、特に印環細胞癌は一定頻度で発症しその中でも浸潤性の胃癌が命に関わってくる。粘膜内の印環細胞癌がどのような原因で浸潤性の胃癌に変わるのかメカニズムを解明することで胃癌治療の創薬に繋がる可能性がある。さらに、浸潤癌に移行する遺伝子バイオマーカーが同定できれば胃癌診療における新たなストラテジーが確立できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Most invasive gastric cancers are associated with H. pylori infection in Japan. The aim of this study was to investigate what kind of genetic mutations are found in invasive gastric cancers without H. pylori infection. In this study, we analyzed undifferentiated-type adenocarcinoma among gastric cancers. In the genetic analysis of cancer tissues from H. pylori uninfected and post-eradicated gastric cancers, pathogenic variants of CDH1, RHOA, TP53, and ZFH3 were found in more than 10% of all the cancer tissues. Among them, the frequency of CDH1 pathogenic variants was significantly higher in the uninfected gastric cancer group than in the post-eradicated gastric cancer group.

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未感染胃癌 未分化型癌 浸潤癌 除菌後胃癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、衛生環境の改善などによりヘリコバクター・ピロリ (Hp) の感染者が減少し、また Hp の除菌治療の普及によって Hp の現感染胃に発生する胃癌は減少傾向である。一方、Hp 未感染癌や Hp 除菌後胃癌は増加傾向であり、胃癌診療においてこれらの胃癌の発生機序についての解明は緊々の課題である。

胃には様々な組織型の癌が発生するが、印環細胞癌 (Sig) は比較的良好に観察される組織型の 1 つである。Sig では *CDH1* 遺伝子変異がよく観察され、この遺伝子異常が発生要因と考えられている(1)。

既報では、*CDH1* 遺伝子変異患者では Hp 除菌後を含む通常胃に発生した Sig、Hp 未感染胃に発生した Sig とともに高頻度で観察されることが報告されている(2)。しかし、胃の Sig は除菌後胃癌を含む通常型の胃癌では予後不良な組織型であるが、Hp 未感染胃に発生した Sig は長期間粘膜内癌から浸潤しない症例が多い(3)。このことから Hp 除菌後胃に発生する Sig と Hp 未感染胃に発生する Sig では浸潤形式に差があると推測される。しかし、「どのようにして粘膜内の Sig が粘膜下層に浸潤していくか。」については未だ明らかとなっていない。本研究にて胃の Sig がどのような機序で浸潤能を獲得するかが分かることによって、Hp 感染によってなぜ浸潤能を獲得するか、Hp 除菌後もなぜ浸潤能を保持しているのか、Hp 未感染胃に発生した癌はどのような機序で浸潤能を獲得するのかが明らかとなる。このような機序の解明によって、胃癌治療に関する創薬に繋がるのが期待できる。また Hp 未感染粘膜内 Sig が浸潤癌へ移行するメカニズムが解明できれば、ゲノムバイオマーカーとして利用することによって胃癌ガイドラインに提案でき、Hp 未感染時代の胃癌の診療の医療費を適正化し社会コストの是正にも貢献できると考えた。

2. 研究の目的

胃の粘膜内 Sig が浸潤能を獲得する機序を解明することが研究の目的である。Hp の影響を排除するために Hp 除菌後胃の粘膜下以深浸潤癌と Hp 未感染胃の粘膜下以深浸潤癌検体を用いて解析する。Sig は浸潤すると、低分化腺癌に変化するため、癌の表層の Sig の部位と低分化腺癌の部位から組織を抽出し、癌ゲノムプロファイリングを比較検討する。さらに Hp 除菌後胃癌と Hp 未感染胃癌における癌ゲノムプロファイリングの差を検討する。これらの検討において同定された遺伝子変異について将来的に胃癌細胞株を用いた *in vitro* の解析と *nude* マウスを用いた *in vivo* の解析を行って機序を解明する。

3. 研究の方法

当院で経験した Hp 未感染未分化型浸潤癌 12 病変 (未感染群)、Hp 除菌後未分化型浸潤癌 18 病変 (除菌後群) の 2 群に分け、両群間の患者背景 (性別、年齢、喫煙歴、家族歴)、臨床的病理学的特徴 (部位、腫瘍径、肉眼型、色調、組織型、深達度、脈管侵襲) について検討した。Hp 未感染胃の粘膜下層以深浸潤癌 12 例と Hp 除菌後胃の粘膜下層以深浸潤癌 19 例より粘膜内の Sig の部位と浸潤先進部の低分化腺癌の部位よりレーザーマイクロダイセクションにて組織を切り出し、gDNA を抽出する。抽出した gDNA を公共データベースの oncoKB で annotation されている 468 の癌関連遺伝子を搭載したカスタムパネルを用いて癌遺伝子パネル検査を行う。各症例の血液検体または正常組織からの gDNA を抽出し、生殖細胞系列の変異を除外し各部位における癌ゲノムプロファイリングを同定する。同定された癌ゲノムプロファイリングを同一症例で比較し、胃未分化型癌で Sig から低分化癌への変化に関与する遺伝子変異を同定する。

1 で同定された遺伝子が Hp 除菌後胃癌と Hp 未感染胃癌で差がないか検討する。

1, 2 で同定された遺伝子変異の機序について解明するため、胃 Sig 由来の癌細胞株に CRISPR-Cas9 を用いてゲノム編集し、変異を導入した細胞株を作成する。変異型細胞株と野生型細胞株をオールインワン蛍光顕微鏡にて細胞浸潤能や遊走能を評価し、悪性度について評価する。

3 で作成した細胞株をヌードマウスの胃壁に移植し、腫瘍の増殖能や肝転移巣の個数、大きさについて評価する。さらに 2 で同定された Hp 除菌後胃癌と Hp 未感染胃癌の遺伝子変異に差がないか検討する。

4. 研究成果

除菌後群は未感染群と比較して、高齢 (未感染群 vs. 除菌後群, 43 歳 [21-62] vs. 70 歳 [40-80]) で、0- c, 早期癌の割合が有意に高かった (43% [5/12] vs. 78% [16/18]), 25%

[3/12]vs . 83% [15/18])。性別，喫煙歴，家族歴，部位，腫瘍径，色調，組織型，脈管侵襲に差は認められなかった。がんゲノム異常は，解析可能であった未感染群 9 病変，除菌後群 16 病変のがんゲノム異常について検討した。*CDH1* ,*RHOA* ,*TP53* ,*ZFH3* の病的バリエーションを全体の 10% 以上で認めた。その中で未感染群では除菌後群と比較して *CDH1* の病的バリエーションの頻度が有意に高かった (44.4% [4/9]vs . 0% [0/16])。その他の遺伝子の病的バリエーションは両群間で有意差を認めなかった。粘膜内 Sig と浸潤部低分化腺癌の遺伝子変化については，特に未感染群では粘膜内 Sig の腫瘍量が著しく少ないこと，浸潤部低分化腺癌成分が desmoplastic reaction による繊維芽細胞との区別が容易でなく比較検討可能な検体採取が困難であったことから評価は困難であった。*CDH1* の病的バリエーションは既報の如く未感染胃群において多く認められたが，Sig，低分化腺癌の各遺伝子変異に関しては別の手法を用いた検討や症例数を増やして検討する必要があると考えられた。

参考文献

1. Kiso M, Urabe Y, Ito M, et al. Clinical and genomic characteristics of mucosal signet-ring cell carcinoma in Helicobacter pylori-uninfected stomach BMC Gastroenterol. 2020; 20: 243.
2. Yorita I, Ito M, Boda T et al. Potential of Helicobacter pylori-uninfected signet ring cell carcinoma to invade the submucosal layer J Gastroenterol Hepatol. 2019; 34: 1955-1962.
3. Nikaido M, Kakiuchi N, Miyamoto S et al. Indolent feature of Helicobacter pylori-uninfected intramucosal signet ring cell carcinomas with *CDH1* mutations Gastric Cancer. 2021; 24: 1102-1114.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小刀崇弘, 保田智之, 田中信治, 頼田尚樹, 木曾まり子, 二宮悠樹, Madina Abuduwaili, 長崎直子, 岡 志郎, 日山 亨, 伊藤公訓, 吉原正治, 茶山一彰
2. 発表標題 Helicobacter pylori 未感染未分化型浸潤癌の臨床的特徴
3. 学会等名 第17回日本消化管学会総会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 操田智之, 卜部祐司, 岡 志郎
2. 発表標題 Helicobacter pylori未感染胃と除菌後胃に発生した未分化型浸潤癌の臨床病理学的・遺伝学的特徴
3. 学会等名 JDDW 2024
4. 発表年 2024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
---------------------------	-----------------------	----

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