

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890089

研究課題名（和文）ヘリコバクター・ピロリ菌感染を契機とした胃発癌分子機構の解明

研究課題名（英文）Study of the molecular mechanism underlying genomic alterations during *Helicobacter pylori*-associated gastric carcinogenesis.

研究代表者

松本 裕子 (MATSUMOTO YUKO)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：20452360

研究成果の概要（和文）：ヒト胃発癌過程において、ヘリコバクター・ピロリ菌感染を契機とした慢性胃炎を背景として種々の癌関連遺伝子に異常が生成されるが、その機序は不明であった。ヒトに生理的に備わっている遺伝子編集酵素 Activation-Induced Cytidine Deaminase (AID) が、ヘリコバクター・ピロリ菌感染を契機として胃上皮に異常発現し、さらに AID の異常発現の結果、種々の癌関連遺伝子異常を引き起こすことを明らかにし、胃発癌過程における遺伝子異常生成に AID が重要な役割を果たしている可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：With persistent infection of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), gastric cancer develops by a multistep process occurring through the accumulation of genetic alterations in gastric epithelial cells. The mechanisms how the gastric epithelial cells with *H. pylori* infection and the resultant inflammatory response acquire the genetic changes leading to malignant transformation, however, remain unknown. Activation-induced cytidine deaminase (AID) induces somatic mutations in various host genes of non-lymphoid tissues, thereby contributing to carcinogenesis. Indeed, we demonstrated that *H. pylori* infection induced aberrant AID expression in gastric epithelial cells, resulting in the accumulation of *p53* tumor suppressor gene mutations. Our findings suggested the novel link among *H. pylori* infection, accumulation of genetic changes and human gastric cancer development. The process of accumulation of genetic alterations induced by AID activity, however, have not yet been clarified.

We plan to investigate the role of AID in the occurrence of genetic alterations, including somatic mutations and chromosomal changes. We clarify the overall genetic alterations induced by aberrant AID activity using the genome-wide array comparative genomic hybridization (CGH) analyses as well as the comprehensive mutation assays. The results are also assessed in mouse models with the oral challenge of *H. pylori* and in AID transgenic mice to investigate whether aberrant AID expression induced by *H. pylori* infection *in vivo* could contribute to the occurrence of tumor-promoting genetic changes, leading to the gastric cancer development. A successful outcome of this research project would provide the novel insight into the molecular mechanisms of infection- and inflammation-associated carcinogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,130,000	339,000	1,469,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,630,000	789,000	3,419,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：ヘリコバクター・ピロリ、胃癌、ゲノム異常

1. 研究開始当初の背景

本邦では、胃癌は癌死亡の第2位を占め、年間約5万人が死亡している。胃癌の成因として最も重要視されているのは胃上皮細胞へのヘリコバクター・ピロリ菌感染であり、このためWHOにより class I carcinogen (確実な発癌物質) と認定されている。一方、ヒト胃発癌過程において、ヘリコバクター・ピロリ菌感染を契機とした慢性胃炎を背景として種々の癌関連遺伝子に異常が生成・蓄積されることが多数報告されているが、その分子機構については不明であった。申請者らは、ヒトに生理的に備わっている遺伝子編集酵素 Activation-Induced Cytidine Deaminase (AID) の発現異常が、発癌過程にみられる各種癌関連遺伝子異常に関与している可能性に着目した。

申請者らのこれまでの研究成果から、1) AID トランスジェニックマウスに胃癌が発生すること、2) 臨床的に病原性を有する *cagPAI* 陽性ヘリコバクター・ピロリ菌株の感染によりヒト胃上皮細胞に異所性にAIDが発現誘導されること、3) AID の発現の結果、癌抑制遺伝子 *p53* に点突然変異が高率に誘導されること、4) ヘリコバクター・ピロリ菌感染を伴ったヒト胃上皮細胞 (胃炎・胃癌組織) では高率にAIDが発現していること、が明らかとなり、ヘリコバクター・ピロリ菌感染による慢性胃炎からの胃発癌過程における遺伝子変異生成・蓄積にAIDが重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、胃上皮細胞への遺伝子異常を導入する活性をもつ遺伝子編集酵素 AID が、ヘリコバクター・ピロリ菌感染からの胃癌発生過程に果たす役割を明らかにするとともに、胃癌発生過程に生じる遺伝子異常 (点突然変異、染色体異常) の全体像を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) ゲノムアナライザーおよび高感度 CGH アレイを用いた、AID 発現により胃上皮にもたらされる遺伝子異常の全体像の探求; AID を過剰発現する胃上皮細胞において、既知のすべての遺伝子 DNA 全エクソンの塩基配列と染色体異常について解析を行い、胃上皮における AID の持続発現の結果生じる遺伝子異常生成・蓄積の全体像を明らかにする。
- (2) 胃発癌過程における AID の役割についての胃癌モデルマウスを用いた検討; さまざまな胃癌モデルマウスと AID ノックアウトマウスをかけあわせ、胃癌発生の頻度について検討し、胃発癌過程における AID の重要性を明らかにする。

4. 研究成果

AID を過剰発現する胃上皮細胞において、既知のすべての遺伝子 DNA の塩基配列と染色体異常についてゲノムアナライザーおよび高感度 CGH アレイを用いて網羅的解析を行い、胃上皮における AID の持続発現の結果生じる遺伝子異常生成・蓄積の全体像を明らかにする目的で以下の実験を行った。

(1) 活性化AIDを過剰発現する胃上皮培養細胞株の樹立および AID トランスジェニックマウスから胃上皮を採取し、AID 過剰発現下の胃上皮細胞における体細胞変異の全体像をゲノムアナライザーを用いて検討する。また、野生型マウスにヘリコバクター・ピロリ菌 を経口感染させると、胃上皮細胞に内在性 AID が発現誘導され、遺伝子変異生成の有無をゲノムアナライザーを用いて網羅的に検討したところ、癌関連遺伝子に変異を認めた。一方、AID ノックアウトマウスにヘリコバクター・ピロリ菌を感染させても遺伝子変異を認めなかった。

(2) AID 過剰発現下の胃上皮細胞における遺伝子 DNA コピー数の変化および染色体異常 (転座、欠失など) の有無につき、CGH アレイ法による解析を行ったところ、癌関連遺伝子に欠失を認めた。引き続き、CGH アレイ法により同定された染色体欠失想定部位に対し、Fluorescent in situ hybridization (FISH) 法を施行したところ、染色体欠失が生じたことが確認された。また、野生型マウスに HP 菌を感染させることにより、胃上皮細胞に内在性 AID が発現誘導され、癌関連遺伝子 DNA コピー数の減少を認めた。一方、AID ノックアウトマウスにヘリコバクター・ピロリ菌を感染させても癌関連遺伝子 DNA コピー数の減少を認めなかった。

(1), (2)の結果から、胃上皮における AID 異常発現により、遺伝子異常生成が AID 依存性に引き起こされ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 Yuko Matsumoto, Shuko Morita, Shunsuke Okuyama, Yoko Kitamura,

Akihisa Tomori, Tsuneo Oyama, Yuji Amano, Yoshikazu Kinoshita, Tsutomu Chiba and Hiroyuki Marusawa.

Bile acid-induced expression of activation-induced cytidine deaminase during the development of Barrett's oesophageal adenocarcinoma. *Carcinogenesis*, 32, 1706-1712, 2011. 査読有

DOI: [10.1093/carcin/bgr194](https://doi.org/10.1093/carcin/bgr194)

- ② Shunsuke Okuyama, Hiroyuki Marusawa, Tomonori Matsumoto, Yoshihide Ueda, Yuko Matsumoto, Yoko Endo, Atsushi Takai and Tsutomu Chiba.

Excessive activity of apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide 2 (APOBEC2) contributes to liver and lung tumorigenesis.

Int J Cancer; 130(6):1294-301, 2011. 査読有

DOI: [10.1002/ijc.26114](https://doi.org/10.1002/ijc.26114).

- ③ Yuko Matsumoto, Hiroyuki Marusawa, Kazuo Kinoshita, Yoko Niwa, Yoshiharu Sakai and Tsutomu Chiba.

Up-regulation of Activation-Induced Cytidine Deaminase Causes Genetic Aberrations at the CDKN2b-CDKN2a in Gastric Cancer.

Gastroenterology, 139(6), 1984-1994, 2010.

査読有

<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2010.07.010>.

- ④ Tomohiro Watanabe, Naoki Asano, Stefan Fichtner-Feigl, Peter L. Gorelick, Yoshihisa Tsuji, Yuko Matsumoto, Tsutomu Chiba, Ivan J. Fuss, Atsushi Kitani and Warren Strober.

Nucleotide-binding Oligomerization
Domain 1 Contributes to Host Defense
against *Helicobacter pylori* via
Induction of Type I IFN and Activation
of the IFN-stimulated Gene Factor 3
Signaling Pathway.

J Clin Invest, 120(5):1645-62, 2010.

査読有

DOI: 10.1172/JCI39481

〔学会発表〕（計1件）

- ① 松本裕子、丸澤宏之、千葉 勉：胃発癌
過程における activation-induced
cytidine deaminase を介した癌抑制遺
伝子領域の変異生成の分子機構。
日本ヘリコバクター学会、
2010年6月24日、京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 裕子 (MATSUMOTO YUKO)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：20452360

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし