

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 4 月 19 日現在

機関番号：17301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890138

研究課題名（和文）：ヘリコバクターピロリ産生 VacA 毒素によるアポトーシス機序
～ER ストレスの関与～研究課題名（英文）：Endoplasmic reticulum stress is involved in *H. Pylori*
associated gastritis

研究代表者：

赤澤 祐子（AKAZAWA YUUKO）

長崎大学・病院・助教

研究者番号：80582113

研究成果の概要（和文）：

これまで、ヘリコバクター・ピロリと小胞体（ER）ストレスの関連は知られていなかった。本研究では、ER ストレス（GRP-78, GADD34）がヘリコバクター・ピロリ陽性患者胃粘膜上皮で多く誘導されていることを明らかにした。また培養細胞を用いた研究では同菌の空胞化毒素 VacA によるアポトーシス誘導に ER stress、とくに転写因子 CHOP 発現が関与していることが判明した。ヘリコバクター・ピロリ胃炎の病態に ER ストレスが関わっている可能性があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Apoptosis by *H.pylori* vacuolating cytotoxin (VacA) plays a role in *H.Pylori* induced apoptosis in gastric epithelial cells. However, precise mechanism of VacA apoptosis is not understood. Our aim was to examine involvement of ER stress and pro-apoptotic BH3 only proteins in human *H.Pylori* infection and in VacA treated cells. GADD34 mRNA and GRP 78 mRNA were significantly increased in *H.Pylori* infected gastric mucosa. Immunohistochemistry showed CRP78 staining in gastric epithelial cells. Apoptosis inducing ER stress marker CHOP was significantly elevated in AZ521 treated with VacA, and was contributing to apoptosis. The present study is, to our knowledge, among the first to implicate the association of ER stress with human *H.Pylori* infection and its apoptosis inducing toxin, VacA.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,050,000	315,000 円	1,365,000
2011 年度	1,050,000	315,000 円	1,365,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,100,000	630,000	2,730,000

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：VacA, ヘリコバクターピロリ, BH3 オンリー蛋白, アポトーシス, ER stress

1. 研究開始当初の背景

ヘリコバクター・ピロリ (*H.pylori*) から産生される空胞化毒素 VacA は重要な病原因子のひとつであり培養胃上皮細胞においてアポトーシスを誘導する。

しかし VacA が胃上皮細胞にアポトーシスを誘導する詳細な機序は知られていない。

2. 研究の目的

本研究では、*H. pylori* では知られていなかった ER stress と BH3 only proteins が VacA によるアポトーシスに関わっていることを明らかにすることを目標とした。

3. 研究の方法

培養胃上皮細胞 AZ521 を用い、VacA を投与した胃上皮細胞において、各 ER stress marker と BH3 only proteins の上昇を real time PCR と western blotting で確認し、その pathway を抑制することにより下流のアポトーシスシグナルが抑制されるか検討した。

さらに、*H.pylori* 感染患者と健常患者、より RNA を抽出し、ER stress marker の比較検討を行った。

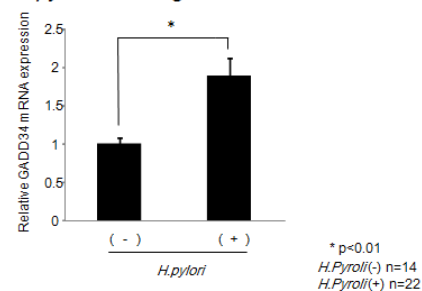
一部については免疫染色を行い、胃粘膜のどの部分に発現しているか、検討を行った。

4. 研究成果

H. pylori 陽性胃粘膜では、*H. pylori* 陰性患者と比較して、ER ストレスマーカーである、GADD34、GRP-78 の有意な上昇が見られた。

GRP78 は免疫染色で胃上皮に発現しており、胃粘膜上皮においてトレスが誘導されていると考えられた。

Elevated expression of GADD34 mRNA in *H.pylori* infected gastric mucosa



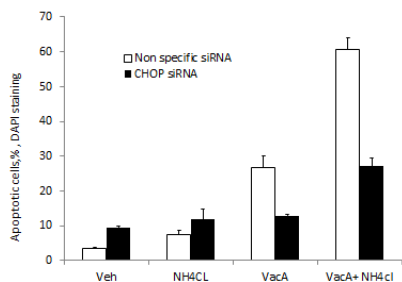
培養胃上皮細胞 AZ521 においても、VacA 単独投与にて ER stress マーカー GADD34 が上昇していた。

さらに VacA と塩化アンモニウムを同時に投与したところ、VacA 単独投与と比較して AZ521 細胞のアポトーシスは著明に増加した。

同時に ER stress によるアポトーシスにおいて重要な働きをもつ CHOP の mRNA、蛋白が有意に多く発現していた。

また、下流に位置すると考えられる、BH3-only 蛋白 Bim の mRNA の上昇も見られた。

CHOP siRNA decreases VacA induced cell death



また siRNA による CHOP の mRNA 発現を抑制したところ、VacA による細胞毒性は抑制された。

よって ER ストレス、特に CHOP の発現が VacA によるアポトーシスに貢献していると考えられた。

【結論】以上より、H. pylori 関連胃炎においては ER ストレスマーカーおよび BH3-only protein の mRNA が有意に上昇していた。

また In vitro では特に VacA による胃上皮細胞アポトーシスに寄与している可能性が高いことが示唆された。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

著者名：
Ibrahim Samar, Yuko Akazawa, et al.

雑誌名：
J Hepatol

論文標題：Glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) inhibition attenuates hepatocyte lipoapoptosis.

査読：有

巻：;54(4)

発行年：2011

最初と最後のページ：765-772

〔学会発表〕(計 2 件)

赤澤祐子
消化器病学会総会
2012年4月16日

赤澤祐子
日本肝臓病学会
2011年6月2日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.nagasaki-u.ac.jp/gastro/research/gastro-g08.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤澤 祐子 (AKAZAWA YUUKO)

長崎大学・病院・助教

研究者番号 : 80582113

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし