

財団法人日中医学協会
2006年度共同研究等助成金—調査・共同研究—報告書

2007年 3月 9日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った研究テーマについて報告いたします。

添付資料： 研究報告書

受給者氏名： 東 健 

所属機関名： 神戸大学医学部

所属部署： 医学医療国際交流センター 職名： 教授
〒650-0017

所在地： 神戸市中央区楠町7-5-1

電話： 078-382-6308 内線： _____

1. 助成金額： 880,000 円

2. 研究テーマ

日中におけるヘリコバクターピロリ感染の胃発癌リスク解析

3. 成果の概要（100字程度）

日本の研究代表者東が2006年9月に西安を訪問し、中国の共同研究代表者のJun Gong教授を2007年3月に招へいし、日本と中国のピロリ菌感染の現状について討議した。また、日本の沖縄と兵庫県さらに中国の西安で採取された慢性胃炎と胃癌由来のピロリ菌の病原因子CagAの遺伝子を解析したところ、兵庫県と西安では全て東アジア型のCagAを有していた。

4. 研究組織

日本側研究者氏名： 東 健 職名： 教授

所属機関： 神戸大学医学部 部署： 医学医療国際交流センター

中国側研究者氏名： Jun Gong 職名： 教授

所属機関： The Second Hospital of Xi'an Jiaotong University 部署： Department of Gastroenterology

—日中医学協会助成事業—
日中におけるヘリコバクターピロリ感染の胃発癌リスク解析

研究者氏名	東 健
所属機関	神戸大学医学部・教授
中国側共同研究代表者	葉 均
所属機関	中国西安交通大学第二病院・教授

要旨

Helicobacter pylori (*H. pylori*)が胃粘膜上皮細胞に接着すると、CagAが*H. pylori*から胃粘膜上皮細胞内へと注入され、上皮内でCagAがチロシンリン酸化を受け、細胞の増殖や分化に重要な役割を担う細胞質内脱リン酸化酵素 SHP-2 と結合する。また、*cagA* 遺伝子は SHP-2 結合部位に一致し多型性を示し、東アジア株に特異的な配列を認め、東アジア型の CagA は欧米型に比べ SHP-2 との結合が強いことを認めた。今回、CagA の多型の臨床的意義を解析するため、胃癌死亡率の異なるアジア地域(男人口 10 万対、兵庫:43.7、沖縄:18.2、中国:36.7)の菌株の CagA を検討した。兵庫株及び中国株の全ては東アジア型の CagA であったが、沖縄では胃炎株の 6 株(14.3%)は CagA 陰性で、8 株(19.0%)が欧米型、28 株(66.7%)が東アジア型の CagA であった。慢性胃炎株では、東アジア型の CagA を有する株の感染例において、CagA 陰性及び欧米型の CagA を有する株の感染例に比べ胃粘膜萎縮度が有意に高度であった。したがって、東アジア型 CagA は胃粘膜萎縮及び胃発癌に関与することが考えられた。

Key Words *Helicobacter pylori*、胃癌、慢性胃炎、CagA

緒言：

*H. pylori*は全世界で人口の50%以上に感染している最も感染率の高い慢性感染症であり、慢性胃炎、胃・十二指腸潰瘍、胃癌、胃 MALT(mucosa-associated lymphoid tissue)リンパ腫など多くの消化器疾患に関与している。「謎1：どうして*H. pylori*という単独の細菌感染により、病態の異なる多彩な消化器疾患が生じるのか？」

一方、アジア諸国は*H. pylori*感染率はおしなべて高いにもかかわらず、*H. pylori*感染が関与して生じる疾患の種類や頻度は各国により大きく異なっている。*H. pylori*感染は胃癌との関連が認められ、*H. pylori*は1994年に世界保健機構より1群の発癌因子に認定されている。しかし、疫学的研究における*H. pylori*感染による胃癌発症のオッズ比は、約2~23と国や地域により大きく異なる。日本、韓国、中国では胃癌の発症が極めて高いが、フィリピン、タイ、インドネシアでは極めて低い。「謎2：どうして*H. pylori*感染率が一律高いアジアにおいて胃癌の発症率がアジア諸国において異なるのか？」

この*H. pylori*感染の病態の民族差、「謎」、”Ethnical enigma”を明らかにすることが、*H. pylori*感染の病態解明につながると考えられる。*H. pylori*感染におけるこれら疾患の多様性に、*H. pylori*の菌の多様性が関与していることが考えられる。実際、*H. pylori*には遺伝子変異が極めて多いことが明らかにされ、*H. pylori*菌株における疾患特異性が解析されてきている。*H. pylori*のゲノムは、株により大きさ自体約160万から173万塩基対(大腸菌の約44%に相当)と異なる。このことは他の細菌ではみられない特徴的な現象である。*H. pylori*各株は生理・生化学的に共通する安定した性状を示すにも拘わらず、数個の物理的染色体地図の比較により、遺伝子の多型性が認められ、遺伝子の相互位置も大きく異なっている。これは、高い形質転換率を持ち、外因性のDNAが導入されやすいためと

考えられている。1997年にはイギリスの胃炎患者から分離された *H. pylori* 標準株 26695 のゲノムの全塩基配列が決定され、全長 1667867 塩基対で 1590 の遺伝子が認められた。次いで、1999年にはアメリカの十二指腸潰瘍患者から分離された菌株 J99 のゲノムの全塩基配列が決定され、全長 1643831 塩基対で 1495 の遺伝子が認められた。この2つの菌株間では、ゲノム構造は似かよったものであったが、6~7%の遺伝子がそれぞれの株に特異的であった。この違いが、胃炎と十二指腸潰瘍という、それぞれの病態の違いに関与していると考えられている。*H. pylori* はヒトの胃粘膜に特異的に接着し感染している。したがって、ヒトのこれまでの移動と共に、*H. pylori* も地球上を移動してきたと考えられる。*H. pylori* のゲノムを解析すると、*H. pylori* のゲノムの多型性の分布が、人類の起源や移動と一致することが示されてきた。これまで世界各地の菌株 370 株において、8つの遺伝子を選び(7つの構造遺伝子と病原遺伝子である細胞空胞化毒素遺伝子 *vacA*) 塩基配列を解析したところ、世界中の *H. pylori* 菌株は主に5つのグループ(2つのアフリカ株、1つのアジア株、2つのヨーロッパ株)に分けられることが報告されている。我々も、以前、世界7ヶ所の機関との共同研究により、同様な解析を行ったところ、アジア株の特異性を認めた。また、興味深いことに、*H. pylori* の生存に必須の構造遺伝子よりも、*vacA* などの病原遺伝子に菌株間の違いが大きいことが認められた。このことは、単に *H. pylori* がランダムに遺伝子変異を起こすだけでなく、*H. pylori* の生息環境や遺伝子の機能的な作用により選択的に変異が生じてきていることが示唆される。したがって、逆に変異の大きい遺伝子は病原性に関与していることが考えられる。また、*H. pylori* のゲノムには本来 *H. pylori* のものではない外来性の遺伝子群が存在している。これは病原性大腸菌など多くのグラム陰性菌に共通した現象であり、これらの細菌では、この外来性遺伝子群を持つことで病原性を発揮することが認められており、この遺伝子群を病原遺伝子群 (pathogenicity island, PAI) と呼んでいる。*H. pylori* では、病原因子の一つである細胞空胞化毒素関連蛋白(CagA)の遺伝子 *cagA* がこの PAI 内に位置しており、*cagPAI* と呼ばれている。*H. pylori* の *cagPAI* 内には、菌体内から菌体外へ、蛋白をそのままの形で放出する IV 型分泌装置を構成する遺伝子が存在している。我々は、*H. pylori* が胃粘膜上皮細胞に接着すると、IV 型分泌装置が *H. pylori* の細胞膜から上皮細胞膜へ針をさすように突き刺さり、その内腔を通して CagA が *H. pylori* から上皮細胞内へと注入され、上皮内に注入された CagA はチロシンリン酸化を受け、ヒト上皮細胞のシグナル伝達系を攪乱することを世界で初めて明らかにした(1)。また、胃粘膜上皮細胞内でチロシンリン酸化された CagA が、細胞の分化や増殖に重要な役割を担う細胞質内脱リン酸化酵素 Src homology phosphatase-2 (SHP-2) と特異的に結合し、細胞の異常増殖に作用することを発見した(2)。さらに、CagA のチロシンリン酸化部位となるアミノ酸配列(E-P-I-Y-A)モチーフを同定するとともに、リン酸化チロシン残基を含む CagA の SHP-2 結合配列を明らかにした。この SHP-2 結合配列部位に一致して、CagA に分子多型が認められ、大きく東アジア型と欧米型の2つに分けられ、東アジア型の CagA は欧米型の CagA に比べ SHP-2 とより強く結合し、より強い生物活性を発揮することが認められた(3)。したがって、東アジア型の CagA を有する *H. pylori* による感染は、病原性が強く細胞障害を強く生じ、胃粘膜萎縮及び胃発癌に関与することが考えられた。

本研究は、*H. pylori* 感染による胃発癌における日本・中国を中心とした東アジアの特異性を明らかにすることを目的とし、日本と中国で胃発癌死亡率の異なる地域において、*H. pylori* 感染の菌体-宿主-環境相互作用、特に今回、*H. pylori* の病原因子 CagA の分子多型と疾患との関係を民族疫学的に解析した。

対象と方法：

兵庫株 65 株 (慢性胃炎株 36 株、胃癌株 29 株)、沖縄株 67 株 (慢性胃炎株 42 株、胃癌株 25 株)、及び中国 20 株 (慢性胃炎 15 株、胃癌株 5 株) の *cagA* 遺伝子の塩基配列を決定するとともに組織学的解析を行った。西安から Zhao Ping 医師を神戸大学に 2007 年 1 月から 3 ヶ月間招へいし中国株と日本株の *cagA* 遺伝子解析の比較を行った。また、研究代表者の東が 2006 年 9 月に西安を訪問し、現地の

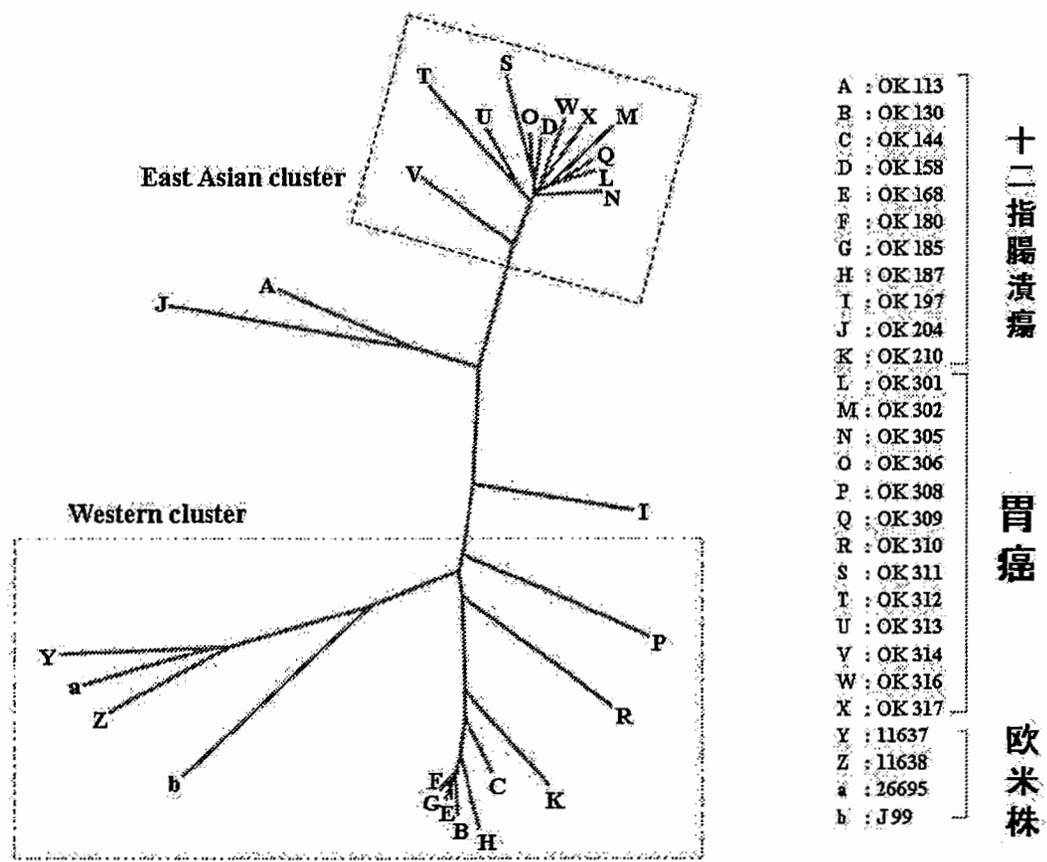
研究者との間で *H. pylori* 感染と胃癌についての中国と日本の違いについて議論し、Jun Gong 教授と Jia Ai 医師が 2007 年 3 月に来日し、中国の *H. pylori* 感染の現状と今後の展望について議論した。

結果：

兵庫株及び中国株の全ては東アジア型の CagA であったが、沖縄では胃炎株の 6 株 (14.3%) は CagA 陰性で、8 株 (19.0%) が欧米型、28 株 (66.7%) が東アジア型の CagA であった (表 1)。慢性胃炎株では、東アジア型の CagA を有する株の感染例において、CagA 陰性及び欧米型の CagA を有する株の感染例に比べ胃粘膜萎縮度が有意に高度であった。興味あることに、兵庫の胃癌株全て及び沖縄のほとんどの胃癌株が東アジア型の CagA を有していた。また、沖縄の十二指腸潰瘍株 11 株、胃癌株 13 株の *cagA* 遺伝子の全塩基配列を決定し、系統樹解析を行ったところ、胃癌株が東アジアの群を形成し、十二指腸潰瘍株は欧米の群に位置することが示された (図 1)。

表 1 : CagA の多型と疾患

	胃炎由来株			胃癌由来株		
	CagA 陰性	東アジア型	欧米型	CagA 陰性	東アジア	欧米型
兵庫	0	36	29	0	29	0
沖縄	6	28	8	0	23	2
中国	0	15	0	0	5	0



考察：

本検討により、東アジア型の CagA を有する *H. pylori* 感染と胃癌との関連が示唆された。例外として、沖縄の胃癌株で欧米型の CagA を持つ 2 株の、E-P-I-Y-A 繰り返し部位を検討したところ、1 株は A-B-C-C と C が 2 回、もう 1 株は A-B-C-C-C と C が 3 回繰り返された特異な欧米型であった。欧米型の CagA でも SHP-2 結合部位が繰り返されていると SHP-2 との結合も強くなり、東アジア型の A-B-D に近い働きをするものと考えられる。したがって、CagA と SHP-2 との結合が胃粘膜萎縮及び胃発癌の病態に関与することが示唆された。沖縄県が日本で最も胃癌の発症が低い理由の 1 つとして、以上の菌株の違いが関与していると考えられる。また、少なくとも沖縄では、胃癌と十二指腸潰瘍という異なった病態において、感染している *H. pylori* の菌株が異なることが示唆された。

参考文献：

1. Asahi M, Azuma T, Ito S, Ito Y, Suto H, Nagai Y, Tsubokawa M, Tohyama Y, Maeda S, Omata M, Suzuki T, Sasakawa C. *Helicobacter pylori* CagA protein can be tyrosine phosphorylated in gastric epithelial cells. J Exp Med 191: 593-602, 2000.
2. Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, Hatakeyama M. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. Science 295: 683-686, 2002.
3. Higashi H, Tsutsumi R, Fujita A, Yamazaki S, Asaka M, Azuma T, Hatakeyama M. Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:14428-14433, 2002