HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Helicobacter pylori除菌後異時性胃癌症例の臨床病理学的特徴とDNAメチル化異常に関する検討［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	田中, 一光
Description	配架番号：2702
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14962号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85834
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	TANAKA_Ikko_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　田中 一光

学 位 論 文 題 名

Helicobacter pylori 除菌後異時性胃癌症例の臨床病理学的特徴と DNA メチル化異常に関する検討
(Evaluation of clinicopathological features and aberrant DNA methylation after *Helicobacter pylori* eradication focused on metachronous gastric cancer)

【背景と目的】*Helicobacter pylori*（*H. pylori*)は胃粘膜に感染することで慢性活動性胃炎を惹起し、それが進行した萎縮性胃炎や腸上皮化生は胃癌発生母地として知られている。*H. pylori* 除菌介入により胃発癌が抑制される効果が多くの臨床研究により示されている。*H. pylori* 除菌により慢性活動性胃炎は改善し、胃粘膜の萎縮や腸上皮化生も長期的には改善することが胃発癌の抑制に繋がると考えられている。一方で、除菌後も一定の割合で胃癌は発見され、稀ながら繰り返す症例も経験される。分子学的機序として、DNA プロモーター領域のメチル化異常が胃発癌に関連していることが知られている。*H. pylori* 未感染胃粘膜では DNA メチル化異常は起こらないが、*H. pylori* 活動性胃炎粘膜は高メチル化であり、*H. pylori* 除菌により特定の遺伝子のメチル化は低下する。また、除菌後に持続する胃粘膜の高メチル化は異時性胃癌 (Metachronous gastric cancer: MGC) 発生に関連することも報告されているが、MGC 症例において除菌後長期的なメチル化異常の変化と組織学的相関を検討した報告はない。今回、我々は早期胃癌治療後かつ *H. pylori* 除菌後に MGC が発生した症例における胃癌の臨床病理学的特徴、背景胃粘膜の長期的なメチル化レベルの変化および組織学的胃炎との関連性について評価した。

【対象と方法】すでに採取された病理組織検体を用いた単施設後方視的研究を行った。2004 年 1 月から 2018 年 12 月までの期間で、北海道大学病院において早期胃癌を内視鏡的切除(ER：endoscopic resection)し *H. pylori* 除菌に成功した患者の中で、除菌後に MGC が発生した患者を MGC group、除菌後 5 年以上胃癌が発生しなかった患者を Non-MGC group と定義した。コントロール群として、胃癌の既往がなく除菌成功後 5 年以上胃癌が発生しなかった患者を HP group とした。胃前庭大弯の内視鏡的生検検体を用いて、除菌前後の updated Sydney system に準じ 4 つの項目における組織学的胃炎の評価(Mono(単核球浸潤)、Neutro(好中球浸潤)、Atrophy(萎縮)、IM(腸上皮化生))および DNA メチル化解析を行った。MGC group は除菌前および異時性胃癌発生時、Non-MGC group と HP group は除菌前および除菌後 5 年目の生検検体を使用した。DNA メチル化はパイロシークエンス法を用いて mi-R124a-3、EMX1、NKX6-1 遺伝子のプロモーター領域における定量的メチル化解析を行った。評価項目として各群における患者背景および組織学的胃炎の違い、各群における除菌前後の背景胃粘膜メチル化レベルの変化、除菌後に 2 回以上異時性胃癌が発生した症例におけるメチル化レベルの経時的変化、胃粘膜メチル化レベルと組織学的胃炎との相関を評価した。メチル化レベルは、Z-score 解析を用いて遺伝子毎に各サンプルのメチル化レベルを正規化し、3 遺伝子の平均値を Z-score とした。

【結果】早期胃癌を ER 後に *H. pylori* の除菌療法に成功した症例は 184 名であり、その中

で除菌後に胃癌を発生したMGC症例は38例であった。累積胃癌発生率は除菌5年後で19.7%、除菌10年後で31.0%でと算出された。期間中に条件を満たす症例はMGC group25名、Non-MGC group17名、HP group29名が解析された。MGC groupの患者背景は男性21名(84%)、除菌時平均年齢は70.8歳であった。除菌前に癌が多発していた症例はMGC groupで8名(32%)であり、Non-MGC group 0名と比較し有意に多かった(P = 0.01)。背景胃粘膜の組織学的胃炎の評価では、除菌前のMGC groupとHP groupのNeutro,AtrophyおよびIMスコアで有意差が見られた (Neuro: 0.63 ± 0.82, 1.54 ± 0.88, P < 0.001, Atrophy: 1.66 ± 0.98, 0.95 ± 0.67, P = 0.01, IM : 1.21 ± 1.18, 0.54 ± 0.88, P = 0.03)。胃粘膜のDNAメチル化レベルは、除菌前のメチル化レベルは3群間で有意な差はみられなかった。除菌後にはHP groupではmi-R124a-3とEMX1の平均メチル化レベルが除菌後に有意に低下した(mi-R124a-3: 32.9 ± 9.5%→24.6 ± 10.7%, P < 0.01、EMX1: 29.2 ± 16.2%→21.7 ± 5.4%, P = 0.03)。Non-MGC groupでは、mi-R124a-3の平均メチル化レベルのみが有意に低下した(37.9 ± 11.7%→29.4 ± 14.6%, P < 0.01)。MGC groupでは、NKX6-1のメチル化レベルおよび3遺伝子の平均値(Z-score)は除菌後に上昇した(NKX6-1: 33.8 ± 13.2%,→36.9 ± 15.9%, P = 0.03、Z-score: -0.12 ± 0.71→0.30 ± 0.78, P = 0.03)。除菌後のメチル化を3群で比較すると、MGC groupではmi-R124a-3、EMX1、Z-scoreのメチル化レベルがHP groupよりも高値であった(それぞれP < 0.01)。さらにMGC groupの中で、除菌後に2回以上MGCが発生した症例6名のメチル化レベルは4名で除菌後経時的にメチル化レベルが上昇する傾向であった。組織スコアとメチル化レベルにはNeutroスコアおよびMonoスコアはいずれの遺伝子おいても胃粘膜のメチル化レベルとの相関はみられなかった。AtrophyおよびIMスコアは除菌前後ともにメチル化レベルと正の相関を認めた。

【考察】MGC groupでは除菌前のMonoおよびNeutroスコアは低値で、AtrophyおよびIMスコアは高値であった。MGC groupは除菌前の段階ですでに炎症は消退し、萎縮・腸上皮化生とへと進展した胃癌の発生母地が完成している状態であった。胃粘膜のメチル化異常の検討において、胃癌が発生しなかったHP groupと初回のER後にMGCが発生しなかったNon-MGC groupでは除菌後にメチル化レベルは低下したが、MGC groupでは除菌後も胃粘膜のメチル化が長期的に改善しなかった。除菌成功後に高メチル化レベルが持続することは、MGC発生のリスク要因となると考えられた。特に除菌後に2回以上MGCが発生した症例は除菌後も経時的にメチル化レベルは上昇傾向であることから、除菌後にメチル化が抑制されないことが示唆された。除菌後にMGCが発生する症例でメチル化が改善しない、あるいは増悪する原因は明らかではないが、このような症例では除菌前に多くの幹細胞がメチル化されており、*H. pylori*除菌後に多くのメチル化された分化細胞が脱落したとしても、メチル化された幹細胞からの細胞分化が続いているため、除菌後もメチル化が改善されない可能性が考えられる。年齢、胃癌の家族歴、喫煙が胃粘膜のメチル化異常と関連していることも報告されており、*H. pylori*以外の原因が影響している可能性が考えられる。*H. pylori*関連胃炎がある程度まで進展すると、*H. pylori*除菌の効果が得られない「Point of no return」という概念が知られている。MGC groupは除菌後も高度の萎縮および腸上皮化生は改善せず、高メチル化が持続しており、それらには正の相関がみられた。組織学的にも遺伝子学的にも粘膜の障害が*H. pylori*除菌により改善されないところまで達していると思われた。

【結論】*H. pylori*除菌後にMGCが発生する症例は、除菌後長期経過しても胃粘膜のメチル化異常は改善していなかった。胃粘膜に高レベルの異常なDNAメチル化が残存していることは、重度の組織学的萎縮と腸上皮化生を反映しており、長期的な異時MGCの発生と関連していた。病態の解明には、症例の蓄積とさらなる分子生物学的な検討が必要と考える。