

研究報告書  
令和2年度：A課題

令和4年4月18日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 東海大学医学部

住 所 神奈川県伊勢原市下糟屋143

研究者氏名 津川 仁

J

(研究課題)

消化管内共生細菌代謝物による CD44v9 陽性胃癌幹細胞の発生制御機構の解明

令和3年3月1日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

**【背景及び目的】**ピロリ菌感染は胃発がんの重要なリスク因子であるが、胃がんの発症には、ピロリ菌に加えて特定の胃内共生細菌が別途必要であることが明らかにされている (Gastroenterology, 40 : 210-20, 2011, Gut, 63 : 54-63, 2014)。しかしこれまでに、これらの胃内共生細菌は同定されていないため、胃内共生細菌が胃発がんにどのように関与しているのかも明らかにされていない。これまでに我々は、ピロリ菌感染胃粘膜において、CD44v9 陽性細胞がん幹細胞が発生すると、早期胃がんの再発率が大幅に増加することを明らかにし (Br. J. Cancer, 109 : 379, 2013)、また、CD44v9 陽性細胞は、ピロリ菌由来の CagA がんタンパク質を細胞内に蓄積させたアクチン重合制御タンパク質 CAPZA1 の過剰発現細胞から発生することを明らかにしている (Autophagy, 15 : 242, 2019, Cell. Mol. Gastroenterol, Hepatol, 8 : 319, 2019)。また興味深いことに、CAPZA1 の発現はヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤によって誘導されることも明らかにしている (Autophagy, 15 : 242, 2019)。腸内細菌代謝物の短鎖脂肪酸 (SCFA) は、HDAC を阻害することが知られている (J. Biol. Chem., 253 : 3364, 1978)。これらの知見から、SCFA がピロリ菌感染胃粘膜で CAPZA1 過剰発現細胞を誘導し、CD44v9 陽性のがん幹細胞様細胞の発生につながると仮説できる。本研究では、SCFA が CAPZA1 発現の増加を介して CD44v9 陽性細胞を誘導するかどうかを調べ、胃内共生細菌の 16SrRNA ライブラリーを構築し、CD44v9 陽性細胞の発生に関わる SCFA 産生細菌を検索した。

**【方法】** Helicobacter pylori G27 および G27 cagPAI 欠失変異株 ( $\Delta$ cagPAI) を使用した。胃液からの 16SrRNA ライブラリーは、TA クローニングによって構築され、サンガー法によって配列決定されました。

**【結果と考察】** SCFA のひとつである酪酸は、胃オルガノイド由来単層上皮細胞 Mucosoid における CAPZA1 発現を顕著に亢進させた。酪酸の存在下でのピロリ菌感染では、CAPZA1 過剰発現細胞が検出されると同時に、チロシンリン酸化体 CagA の増加も確認された。さらに、CagA に対する免疫染色解析の結果は、CAPZA1 過剰発現細胞内に蓄積する CagA を検出した。これらの結果から、酪酸刺激した Mucosoid では、CAPZA1 の発現が増加し、ピロリ菌のがん蛋白質 CagA が CAPZA1 の過剰発現細胞内に安定化することを示している。さらに、酪酸下でピロリ菌感染した Mucosoid では、検出される CAPZA1 過剰発現細胞において CD44v9 発現が陽性化しており、酪酸存在下での CD44v9 陽性細胞の発生誘導が明らかとなった。一方で、ピロリ菌の CagA 欠損株を感染させた Mucosoid では CD44v9 陽性細胞数は顕著に減少し、CD44v9 陽性細胞の発生に CAPZA1 の過剰発現細胞内に CagA が安定化することが要求されると考えられた。さらに、CD44v9 陽性細胞では、LGR5、KLF5、および SALL4 も陽性化しており、酪酸下でのピロリ菌感染が CD44v9 陽性細胞に幹細胞特性を付与することが示された。16SrRNA ライブラリーを使用した解析結果は、胃がん患者の胃内で特定の SCFA 産生細菌として、Streptococcus 属細菌の相対的存在量が非胃がんの患者よりも胃がん患者の胃内で有意に高いことが示された。この関連性は、年齢、ピロリ菌感染状態、および多変量ロジスティック回帰分析を使用した胃粘膜萎縮の有無を調整した後も一貫していた。

**【結論】** SCFA 産生細菌である Streptococcus 属細菌とピロリ菌の同時感染状態の胃内では、CD44v9 陽性がん幹細胞が発生しやすい環境となっており、胃の発がんリスクが亢進している可能性がある。

#### **【成果発表】**

1. 津川仁. 胃がんの発症を制御する胃内の細菌. 日本がん予防学会 News Letter, 107:4, 2021.
2. 津川仁. H. pylori 病原性, 病態発生の最新知見. 日本ヘリコバクター学会誌, 23(1) 17, 2021.
3. 津川仁, 鈴木秀和. 胃オルガノイド由来単層上皮培養系を用いた CagA 依存的 CD44v9

陽性癌幹細胞の発生メカニズムの解析. 主題シンポジウム 8. 第 26 回日本ヘリコバクター学会. 浜松 (WEB 中継との共開催). 2021 年 1 月 9 日

4. **津川仁**, 上田孝, 鈴木秀和. CD44v9 陽性胃癌幹細胞発生過程に対する胃内共生細菌と *H. pylori* の協調, 第 27 回日本ヘリコバクター学会学術集会, Web 開催, 2021 年 9 月 24 日
5. **津川仁**, 鈴木秀和. Role of gastric non-Helicobacter commensal bacteria in the development of CD44v9-positive cancer stem cells, 第 80 回日本癌学会, パシフィコ横浜, 2021 年 9 月 3 1 日
6. **津川仁**. 発がん過程を加速させる消化管内共生 pathobiont の悪巧み. 日本薬学会 142 年会シンポジウム 37, Web 開催, 2022 年 3 月 27 日
7. **Tsugawa H.**, Ueda T., Matsuzaki J., Suzuki H., Identification of non-Helicobacter bacteria essential in gastric carcinogenesis in *H. pylori*-infected stomach, Digestive Diseases Week 2022, San Diego, Ca., USA, 23<sup>th</sup> May, 2022.

**【謝辞】**

本研究機会を与えてくださった御財団、並びに、共同研究者に深く御礼申し上げます。