氏　　名	松（まつ）　本（もと）　裕（ゆう）　子（こ）
学位（専攻分野）	博　士（医　学）
学位記番号	医　博　第 3138 号
学位授与の日付	平成 19 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	*Helicobacter pylori* infection triggers aberrant expression of activation-induced cytidine deaminase in gastric epithelium. （*Helicobacter pylori* 感染による胃上皮細胞における activation-induced cytidine deaminase を介した遺伝子変異生成の分子機構に関する検討）
論文調査委員	（主　査） 教授 湊　長博　教授 光山正雄　教授 清水　章

論　文　内　容　の　要　旨

諸外国と比較して本邦では胃癌は特に発生率が高く、癌死亡の第 2 位を占めている。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（以下 *H. pylori* と略す）感染であり、このため *H. pylori* は WHO により class I carcinogen（確実な発癌物質）と認定されている。*H. pylori* には種々の菌株が同定されているが、その中でも *H. pylori* ゲノム中に病原性に関与する *cag* pathogenisity island（*cag*PAI）と呼ばれる一連の遺伝子群を有する菌株と胃癌との関連が近年注目されている。一方、ヒト胃発癌過程において、慢性胃炎を背景として種々の癌遺伝子・癌抑制遺伝子に変異が生成・蓄積されるという報告が多数なされている。つまり、*H. pylori* の慢性感染の結果、胃上皮細胞に遺伝子変異が蓄積するという可能性が示唆されているのであるが、その分子機構については未だ不明である。本研究では、生理的には活性化 B 細胞でのみ発現し機能する遺伝子編集酵素 activation-induced cytidine deaminase（AID）に着目した。AID は遺伝子に変異を誘導する活性を有するが、この AID を過剰発現したマウスモデル（AID トランスジェニックマウス）ではさまざまな臓器において悪性腫瘍が発生する。今回、我々のさらなる検討により、AID トランスジェニックマウスでは、肺癌や肝細胞癌などの上皮性悪性腫瘍に加え、胃腺腫が発生することが見出された。この結果をふまえ、AID が *H. pylori* 感染を契機に胃上皮細胞で異常発現・機能し、発癌過程にみられる種々の癌関連遺伝子に変異を誘導する可能性の有無についての検討を行った。

まず *In vitro* において、ヒト胃上皮培養細胞に各種 *H. pylori* 菌株を感染させたところ、*cag*PAI 陰性 *H. pylori* 感染では癌抑制遺伝子 *p53* に遺伝子変異は全く認められなかったが、*cag*PAI 陽性 *H. pylori* 感染では *p53* 遺伝子の変異が生成・蓄積することが確認された。そこで、この *H. pylori* 感染による遺伝子変異生成に AID が関与している可能性を検討するために、ヒト胃上皮培養細胞における mRNA およびタンパク質レベルでの AID 発現の検討を行った。Real-time RT-PCR 法および Immunoblot 法では、*H. pylori* 非感染細胞や *cag*PAI 陰性 *H. pylori* 感染細胞において AID の発現を検出できなかったのに対し、*cag*PAI 陽性 *H. pylori* 感染細胞では内在性 AID が強く発現誘導されることが明らかとなった。*cag*PAI 陽性 *H. pylori* 感染による胃上皮培養細胞における AID 発現は、転写因子 NF-κB 活性を抑制することにより著明な減少を認めたため、NF-κB 依存性であることが明らかとなった。炎症性サイトカインである TNF-α 投与により胃上皮培養細胞における内在性 AID 発現が誘導されたが、同様にこの AID 発現は NF-κB 依存性であることが示された。また、*cag*PAI 陽性 *H. pylori* 感染による *p53* 遺伝子変異の生成は AID 依存性に誘導されることも明らかとなった。ヒト臨床検体を用いた免疫染色による検討からは、*H. pylori* 感染陽性の慢性胃炎・胃癌組織では、胃上皮細胞や癌細胞において高率に AID タンパク染色が陽性であり、同時に Real-time RT-PCR 法で AID mRNA 発現が有意に高いことも確認された。

以上の研究成果により、（1）ヒト胃上皮細胞において *cag*PAI 陽性 *H. pylori* 感染により NF-κB 依存性に AID が発現誘導されること、（2）ヒト胃上皮細胞において AID 依存性に *p53* 遺伝子に変異が誘導されること、が示され、*H. pylori* 感染を契機とする慢性胃炎からの胃発癌過程における癌関連遺伝子の遺伝子変異生成において、DNA/RNA 編集酵素である AID

が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヘリコバクター・ピロリ菌感染は胃発癌の重要な危険因子であるが、その発癌の分子機構は未だ不明である。本研究において申請者は、生理的には活性化 B 細胞でのみ発現し機能する遺伝子編集酵素 activation-induced cytidine deaminase（AID）が、ヘリコバクター・ピロリ菌感染を契機に胃上皮細胞で異常発現・機能し、発癌過程にみられる各種癌関連遺伝子変異に関与する可能性について検討を行った。*In vitro* では、胃上皮培養細胞において病原性の強い *cag*PAI 陽性ヘリコバクター・ピロリ菌感染が誘引となり、内在性の AID が過剰に発現誘導され、癌抑制遺伝子である *p53* に遺伝子変異が誘導されることが明らかとなった。活性化 AID を誘導する胃上皮培養細胞系を樹立し、癌関連遺伝子への変異の有無について検討したところ、AID 活性化の結果、*p53* 遺伝子に高頻度の遺伝子変異が生じることが判明した。ヒト臨床検体の検討からは、ヘリコバクター・ピロリ菌感染を伴った胃炎・胃癌組織では高率に AID タンパクが発現していることが明らかとなった。以上の結果より、ヘリコバクター・ピロリ菌感染による慢性胃炎から胃発癌に至る過程において、AID の異所性発現による遺伝子変異の生成・蓄積が発癌に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

以上の研究は胃発癌過程における遺伝子変異生成・蓄積の分子機構の解明に貢献し、胃癌研究の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位申請者は平成 19 年 5 月 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。