

<原 著>

胃における *Helicobacter pylori* の発癌性に関する細胞化学的研究 — p53蛋白の発現について

谷 禮 夫* 木 平 健* 石 塚 彰 映**

要 旨

Helicobacter pylori (Hp) 感染によって胃癌の前癌状態と考えられている萎縮性胃炎が進展することと、Hp感染と胃癌との相関を示唆する疫学的報告に基づいてHpと胃癌との因果関係が追求されている。informed consentの得られた心窩部痛精査の患者21名を対象として、内視鏡時に採取した胃粘膜生検標本を用いて、p53蛋白発現率・萎縮性変化の程度について、Hp感染者と非感染者との間の比較検討を行った。Hp陽性は15例で、うちp53蛋白の発現が陽性のものは6例(40%)であった。Hp陰性例は6例(うち1例は除菌療法後1ヶ月の症例)で、p53蛋白の発現が陽性のものは除菌療法後の症例だけであった。萎縮性変化の程度は、全般にHp陽性例の方が高度であった。以上より、Hp感染によって慢性萎縮性胃炎が引き起こされ、それによって変異型p53遺伝子の過剰発現が起こり、細胞増殖の調節障害が招来され易くなり、発癌につながる可能性が示唆された。

キーワード：*helicobacter pylori*, 胃癌(stomach cancer), p53蛋白(p53 protein)

I. 緒言

Helicobacter pylori (以下Hpと略す) のヒト胃粘膜への持続感染によって炎症性細胞浸潤と組織障害が起こり、次第に慢性萎縮性胃炎が生じることは今日周知の事実となっている。また、慢性萎縮性胃炎の進展につれて、腸上皮化生が生じてくることが知られており、慢性萎縮性胃炎・腸上皮化生は一般に胃癌の前癌病変と考えられている^{1)~3)}。これらのことからHpと胃癌との関連性が想定された。それに加えてHp陽性率の高い国と胃癌の罹患率の高い国とが一致すること⁴⁾、Hpの抗体陽性率と胃癌の罹患率・死亡率とが正の相関を示すこと⁵⁾などの疫学的研究報告がなされたことから、Hpと胃癌との関連性が強く示唆され、現在Hpと胃癌との因果関係を立証すべく種々の研究が進行中である。

Hp感染によって引き起こされる胃粘膜の萎縮性変化がもし発癌性につながるならば、胃粘膜の細胞レベルにおいて何らかの生化学的な変化が起こっているのではないかと推測される。そこで著者らは、胃癌や胃腸上皮化生において変異型p53遺伝子の過剰発現・p53蛋白の増加がみられるとの報告^{3),6)}に基づき、Hp

感染者と非感染者との間にこの点における差異が認められるか否かを、内視鏡直視下に採取する胃粘膜生検標本を用いて検討した。

II. 対象

心窩部痛を主訴として国際医療福祉病院および国際医療福祉大学クリニックを受診した患者のうち、informed consentの得られた患者21名(男性13名、女性8名、平均年齢61.0才)を対象として検討を行った。

III. 方法

内視鏡直視下に幽門前庭部後壁と胃体部後壁から3ケずつ生検を行い、

1) はじめの1ケずつの標本については迅速ウレアーゼテスト(CLO-test)によるHp感染の有無の判定を行い、

2) 残りの2ケずつの標本についてはおのおのプレパラートを作成し、以下の検討を行った。

a) 1対はHE染色を行って慢性胃炎の程度、腸上皮化生の有無をシドニー分類⁷⁾にしたがって判定し、

所 属： *国際医療福祉大学 臨床医学研究センター

**国際医療福祉病院 消化器内科

受 付： 2002年3月7日

表1 Hp陽性例におけるp53蛋白発現の有無および組織学的所見

No.	年齢・性	内視鏡診断	P53蛋白	腸上皮化生	萎縮の程度		炎症性細胞浸潤の程度	
					幽門前庭部	胃体部	幽門前庭部	胃体部
1	92・♀	胃炎	(-)	(-)	(++)	(++)	(+)	(++)
2	50・♂	胃炎	(+)	(-)	(+)	(++)	(+)	(++)
3	54・♂	胃炎	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
4	57・♂	胃炎	(-)	(+)	(++)	(++)	(++)	(++)
5	23・♂	十二指腸潰瘍	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
6	45・♂	胃炎	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
7	53・♀	胃炎	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
8	70・♂	胃炎	(-)	(-)	(+)	(++)	(+)	(++)
9	43・♂	胃潰瘍癒痕	(-)	(-)	(+)	(+)	(++)	(++)
10	78・♂	胃潰瘍	(+)	(+)	(++)	(++)	(+)	(+)
11	55・♂	胃潰瘍癒痕	(+)	(+)	(+)	(++)	(+)	(+)
12	86・♀	胃潰瘍	(+)	(+)	(++)	(++)	(+)	(+)
13	64・♀	胃潰瘍	(+)	(-)	(++)	(++)	(++)	(++)
14	73・♀	十二指腸潰瘍	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
15	77・♀	十二指腸潰瘍	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)

b) もう1対については、米国ダイアトロン社製のp53特異抗体(NCL-p53-DO7)を用いてABC法による免疫染色を行い、p53蛋白の発現について検討を行った。

IV. 結果

1. Hp感染率とp53蛋白発現率

検討した21例のうち、Hp陽性は15例(男性9例、女性6例、平均年齢58.1才)で、そのうちp53蛋白の発現が陽性のものは6例(40.4%)であった(表1)。

Hp陰性例は6例(男性4例、女性2例、平均年齢60.2才)で、うち1例は3剤併用(アモキシリン・クラリスロマイシン・ランソプラゾール)によるHp除菌療法後1ヶ月の症例であった。p53蛋白の発現が陽性のものはこのHp除菌療法後の症例1例だけで、のこりの4例は全てp53蛋白の発現が陰性であった(表2)。

2. 組織像について(表1、表2)

Hp感染陽性例とHp感染陰性例とを比較すると、萎縮性変化は幽門前庭部、胃体部ともに全般に前者の方が高度であり、炎症性細胞浸潤の程度も前者の方が高度であった。また腸上皮化生はHp感染陽性例に4例、Hp感染陰性例に1例みられたが、いずれも萎縮性変化が比較的高度の症例であった。

p53蛋白の発現が陽性であった例についてみると、

表2 Hp陰性例におけるp53蛋白発現の有無および組織学的所見

No.	年齢・性	内視鏡診断	P53蛋白	腸上皮化生	萎縮の程度		炎症性細胞浸潤の程度	
					幽門前庭部	胃体部	幽門前庭部	胃体部
1	68・♂	胃炎	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
2	58・♂	胃潰瘍	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
3	20・♂	胃炎	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
4	87・♂	胃炎	(-)	(+)	(++)	(+)	(+)	(+)
5	62・♀	胃炎	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
*6	66・♀	十二指腸潰瘍	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)

(*: 除菌療法終了後1ヶ月の症例)

Hp感染陽性例の6例は23才の十二指腸潰瘍の症例を除くといずれも比較的高度の萎縮の程度であり、うち3例に腸上皮化生がみられている。Hp感染陰性例の1例は除菌後の十二指腸潰瘍の症例であるが、Hp感染陽性例の十二指腸潰瘍の症例と同様、萎縮の程度は軽度であった。

V. 考案

Hpの持続感染によって胃癌の前癌状態と考えられている萎縮性胃炎、腸上皮化生が進展することと、Hp感染と胃癌との相関を示唆する疫学的研究報告^{4,5)}から、Hpと胃癌との関連性が追究されるようになり、Hpと胃癌との因果関係を立証すべく、スナネズミなどのHpを感染させることの可能な動物を用いた発癌実験^{8,9)}、Hpの菌体成分・産生物質やHp感染によって誘導されるサイトカインなどの発癌性に関する研究¹⁰⁻¹³⁾、最低10年間という長期にわたる臨床的な介入試験¹⁴⁾など、種々の研究が進行中である。

Hp感染と胃癌との相関を示唆する疫学的研究報告としては、Hp陽性率の高い国と胃癌の罹患率の高い国とが一致すること⁴⁾、Hpの抗体陽性率と胃癌の罹患率・死亡率とが正の相関を示すこと⁵⁾などの報告があるが、最近の報告では、Asakaらは日本全国各地から胃癌患者の血清を213例集め、また全国人間ドックセンターから年齢・性をマッチさせた健常者の血清を同じ数あつめてHpの抗体価を測定し、抗体陽性率が健常者群が74.6%であるのに対し、胃癌群では88.2%と明らかに高いこと、オッズ比においても健常群が1であるのに対し、胃癌群は2.6と高値であったと報告している¹⁵⁾。Hp感染と胃癌との相関を示唆する疫学的報告に基づき、WHOの下部組織であるIARC(International Agency for Research on Cancer、国際癌研究機関)は、1994年6月、物質等のcarcinogenicityのgroup分類では、Hpは「group 1: define、すなわ

ち明らかに胃の発癌性を有するもの」として分類されるべきであるとの結論を出している¹⁶⁾。

著者らは、*Hp*感染が胃癌の発癌性につながるならば、胃粘膜の細胞レベルにおいて何らかの生化学的な変化が起こっているのではないかと推測のもとに、胃癌や胃腸上皮化生においてp53蛋白の過剰発現ないし変異型p53遺伝子の増加がみられるとの報告^{3),4)}に鑑みて、*Hp*感染者と非感染者との間にこの点における差異が認められるか否かを、内視鏡直視下に採取する胃粘膜生検標本を用いて検討を行った。

今回検討した21例の組織像において、全般的に *Hp* 感染陽性例の方が *Hp* 感染陰性例よりも萎縮性変化が高度であり、炎症性細胞浸潤の程度も高度であったという事実、腸上皮化生は比較的萎縮性変化が高度の症例にみられたという事実は、既に周知の事実となっている諸家の報告と一致するものである。

21例のうち、除菌後1ヶ月の症例を除けば、p53蛋白の発現は全て *Hp* 陽性例において認められたという結果であった。このことは、p53蛋白の発現が *Hp* 感染によって引き起こされたということを示唆しているものと思われる(除菌後1ヶ月の症例は除菌前に発現していたものがまだ残っていたと考えられる)。Jonesら¹⁷⁾、Hibiら¹⁸⁾、Satoら¹⁹⁾も *Hp* 感染者の胃粘膜にp53蛋白の発現が認められることを報告している。このうちSatoらは、*Hp*の除菌によって除菌後は1ヶ月後においてもp53蛋白の発現が消失ないし減少すると報告している。著者らの除菌症例は除菌前にp53蛋白の検索が行われていないので、Satoらのごとく除菌前後におけるp53蛋白陽性指数(胃腺窩の全細胞数に対する陽性細胞数の%)を比較することができないのが残念である。今後の経過追跡が望まれる。

今回の結果において、除菌後の症例を除き、p53蛋白陽性例6例のうち4例(66.7%)に腸上皮化生がみられたことは、胃癌や胃腸上皮化生においてp53蛋白の過剰発現がみられるとの報告に合致するものと考えられる。尚除菌後の症例を含めて比較的萎縮性変化の軽度な十二指腸潰瘍の2例にp53蛋白の発現がみられたことは意外であり、興味ある事実と思われる。

p53蛋白は393個のアミノ酸から成り、癌抑制遺伝子の1つであるp53遺伝子の産物である。p53遺伝子は細胞のDNAが損傷を受けると活性化され、その産物であるp53蛋白が細胞周期に作用して細胞増殖をストップさせたり、アポトーシスを誘導したりすることによって細胞の癌化を抑制していると説明されている。細胞のDNA損傷がある程度以上多く生じると、p53蛋白の過剰発現が起こり、免疫組織化学的に検出されるようになる。そしてその際はいくつかのコドンに突然

変異を起こした変異型のp53遺伝子の過剰発現を伴っており、それによって細胞増殖の調節障害が起こり易いとされている。一般に使用されているp53蛋白の抗体DO-7(著者らもこれを使用)は、野生型と変異型を区別できないが、PCR法などを用いた研究により、p53蛋白の過剰発現がみられる癌組織や腸上皮化生組織においては変異型の発現率が上昇している(胃癌で約50%)ことが報告されている^{2),20),21)}。以上のことと本研究の結果から *Hp*の持続感染による細胞傷害が変異型p53の過剰発現を誘導し、それによって細胞増殖の調節障害が招来され易くなり、発癌につながる可能性が示唆される。

VI. 結論

今回の著者らの結果から、*Hp*感染によって慢性萎縮性胃炎が引き起こされ、それによって変異型p53遺伝子の過剰発現、p53蛋白の増加が起こり、細胞増殖の調節障害が招来され易くなり、発癌につながる可能性が示唆された。

謝辞

稿を終えるにあたり、p53蛋白発現と粘膜組織像の判定についていろいろとsuggestionをいただいた自治医科大学消化器内科の佐藤貴一先生に深謝の意を表します。

また本研究は、国際医療福祉大学の学内研究費をいただいで行われたものであることを付記致します。

文献

- 1) 藤田哲也：消化管粘膜の細胞交代とその病態 — とくに胃癌のはじまりについて。日消誌, 76: 757-764, 1979
- 2) 田原栄一：ヒト胃癌の発生・増殖・進展 — 分子病理学的アプローチ。日病会誌, 81:21-49, 1992
- 3) 横崎宏, 田原栄一：胃の前がん病変における遺伝子変化。CRC 2:148-154, 1993
- 4) The Eurogast Study Group: An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. Lancet 341:1359-1362, 1993
- 5) Parsonnet J, Friedman DG, Vandersteen DP, et al: *Helicobacter pylori* infection and risk of gastric carcinoma. N. Eng. J. Med. 325:1127-1131, 1991
- 6) Imatani A, Sasano H, Yabuki N, et al: In situ analysis of tissue dynamics and P-53 expression in human gastric mucosa. J. Pathol. 179:39-42, 1996
- 7) Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, et al:

- Classification and grading of gastritis. — The Updated Sydney System. *Am. J. Surg. Pathol.* 20: 299-306, 1996
- 8) Sugiyama A, Maruta F, Ikeno T, et al: *Helicobacter infection* on the N-Methyl-N-nitrosourea-induced stomach Carcinogenesis in the Mongolian gerbil. *Cancer Res.* 58:2067-2069, 1998
- 9) Watanabe T, Tada M, Nagai H, et al: *Helicobacter infection* induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterology* 115:642-648, 1998
- 10) Tsujii M, Kawano S, Nagano K, et al: Ammonia: a possible promoter in *Helicobacter pylori*-related gastric carcinogenesis. *Cancer Lett.* 65:15-18, 1992
- 11) Ishii H, Tatsuta M, Baba M, et al: Enhancement by monochloramine of the development of gastric cancers in rats: a possible mechanism of *Helicobacter pylori* associated gastric carcinogenesis. *J. Gastroenterol.* 32:435-441, 1997
- 12) Davis GR, Simmonds NT, Stevens TR, et al: *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut* 35:179-185, 1994
- 13) Suganuma M, Kurusu M, Okabe S, et al: *Helicobacter pylori* membrane protein: A new carcinogenic factor of *Helicobacter pylori*. *Cancer Res.* 61:6356-6359, 1993
- 14) 齋藤大三 : 動き出した介入研究 : *Helicobacter pylori* と胃癌。 *Prog. Dig. Endosc.* 50:137-141, 1997
- 15) Asaka M, Kimura T, Kato M, et al: Possible role of *Helicobacter pylori* infection in early gastric cancer development. *Cancer* 73:2691-2694, 1994
- 16) International Agency for Research on Cancer: Infection with Shistosomes, Liver Flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monographs on the Evaluation Of Carcinogenic Risks to Humans. 61: 218-220, 1994
- 17) Jones NL, Shannon PT, Cutz E, et al: Increase in proliferation and apoptosis of gastric epithelial cells early in the natural history of *Helicobacter pylori*. *Am. J. Pathol.* 151:1695-1703, 1997
- 18) Hibi K, Mitomi H, Koizumi W, et al: Enhanced cellular proliferation and p-53 accumulation in gastric mucosa chronically infected with *Helicobacter pylori*. *Am. J. Clin. Pathol.* 108:26-34, 1997
- 19) Satho K, Kihira K, Kawata H, et al: P-53 expression in the gastric mucosa before and after eradication of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 6: 31-36, 2001
- 20) Shiao YH, Rugger M, Correa P, et al: p53 alteration in gastric precancerous lesions. *Am. J. Pathol.* 144:511-517, 1994
- 21) Murakami K, Fujioka T, Okimoto T, et al: Analysis of p53 gene mutations in *Helicobacter pylori*-associated gastritis mucosa in endoscopic biopsy specimens. *Scand. J. Gastroenterol.* 34:474-477, 1999

Cell-chemical Study on the Carcinogenicity of *Helicobacter pylori* against Gastric Mucosa — in Reference to the Expression of p53 Protein

TANI Norio*, KITAHARA Ken* and ISHIZUKA Akie**

*Center for Research of Clinical Medicine International University of Health and Welfare

**Department of Gastroenterology, International Hospital of Health and Welfare

ABSTRACT

A causal relationship between *Helicobacter pylori* (*Hp*) and gastric cancer was cell-chemically investigated according to the fact that continuous *Hp* infection develops atrophic gastritis which is considered to be precancerous condition and to several epidemiologic reports which suggests correlation between *Hp* infection and gastric cancer. Comparative study on the expression rate of p53 protein and the degree of atrophic change in the gastric mucosa between *Hp*-positive and -negative patients was performed using biopsy specimens of gastric mucosa obtained by endoscopy from 21 patients who visited our institute with symptom of epigastric pain, being based on the patients' informed consent in accordance with Helsinki Declaration. Six patients (40%) of 15 *Hp*-positive patients showed the expression of p53 protein, while no patients except for one patient who received anti-*Hp* therapy one month ago showed the expression of p53 protein. The grade of atrophic change was generally high in *Hp*-positive cases. From the results of this study atrophic change of gastric mucosa due to continuous infection of *Hp* may induce gastric cancer through increase of p53 protein or overexpression of mutant type p53 which may cause disturbance in the regulation of cell cycle.

Key Words : *helicobacter pylori*, stomach cancer, p53 protein