

受付番号：2020-1-971

課題名：ピロリ菌除菌後炎症性胃発癌機序における歯周病菌リポ多糖とグラム陽性菌ペプチドグリカンの粘膜バリア傷害能の違い

1. 研究の対象

2017年10月～2020年12月(病院2018-2-249)・2019年6月～2020年12月(病院2019-2-0115)の期間に、「除菌後胃癌(*H.pylori* 標準的除菌療法成功後24カ月以上経過した後に発見された胃癌)」病変に対する治療を予定・施行後に、当科内視鏡外来に通院されていた患者のうち、「*Helicobacter pylori* 除菌後胃癌発癌機序における胃内細菌叢による胃粘膜上皮バリア傷害の関与(UMIN000028641)」・「ピロリ菌除菌療法後胃癌発癌機序における歯周病菌とアセトアルデヒドによる胃粘膜バリア傷害の関与(UMIN000034376)」の研究に参加いただいた方80例

2. 研究期間

2021年2月(倫理委員会承認後)～2024年1月の3年間

3. 研究目的

胃癌は飲酒・喫煙と共に *Helicobacter pylori* (ピロリ菌) 感染による慢性炎症との強い関連があることが分かっており、胃癌発癌予防としてピロリ菌除菌療法が普及しております。しかし、除菌療法が成功し、ピロリ菌感染が駆除されても、胃癌発癌が認められる(「除菌後胃癌」)患者数が増えており、新たな課題となっています。しかし、どのように除菌後胃癌が起こるのか、どんな胃粘膜に除菌後胃癌が起こりやすいのかなど、不明な点が多く残されています。

ピロリ菌感染による慢性炎症にともなって、胃酸を分泌する「健康な」胃粘膜細胞は減少し、「病的な」胃粘膜組織への変化(「萎縮・腸上皮化生」といいます)が進んでいき、胃癌発癌につながっていきます。当科では、除菌療法後に「病的な」胃粘膜から「健康な」胃粘膜にどのくらい回復してくるのかを明らかにするために、内視鏡検査と内視鏡下生検検体をつかった研究を続けてきました。そして、除菌後にも酸分泌が戻らないような高度に萎縮した胃粘膜組織が残り、そこに除菌後胃癌が高率に発生することを報告しました。そのような「病的な」萎縮胃粘膜から胃癌がどのように発癌するのか?を明らかにす

るために、除菌療法後の胃内環境に近い状態を実験的に作り出し研究しております。もともと、消化管粘膜組織は消化管内腔に存在する細菌・刺激物などの生体内への侵入を防ぐバリアとしての役割を果たしていますが、除菌療法後の胃液に含まれる様々な物質・細菌の刺激により胃粘膜バリア傷害が増悪することで、それら異物の侵入を許し、炎症が慢性的に持続するため、ピロリ菌が排除された後も胃癌発癌が惹起される可能性を調べています。

近年の研究技術の発展で、消化管内に生息する様々な細菌の種類が分かってくるおり、除菌療法後に胃内細菌叢が大きく変化することが報告されております。しかし、これらの胃内細菌叢が胃癌の発癌過程にどのように関与しているかは分かっておりません。これまで、東北大学病院・消化器内科では、除菌療法後の胃内に増加する（嚥下された）口腔内細菌成分ペプチドグリカンと歯周病菌リポ多糖が胃粘膜バリア傷害を惹起することを研究しており、歯周病菌リポ多糖は粘膜バリア傷害作用が強いことがわかりました。今回、これまでの研究でえたペプチドグリカンによる胃粘膜バリア傷害と歯周病菌リポ多糖による胃粘膜バリア傷害とを比較検討し、歯周病菌リポ多糖による粘膜バリア傷害を介した炎症性胃発癌メカニズムをあきらかにしたいと考えております。

ピロリ菌除菌療法後の胃発癌機序における歯周病菌の関与が明らかになれば、ピロリ菌総除菌時代の現在でも、歯周病菌の多寡による胃発癌リスク分類につながり、効率よく胃がん患者さんを発見するような検診システムを確立したり、口腔衛生による胃がん予防策を確立したりすることにつながると考えます。

4. 研究方法

以前の研究では、「除菌後胃癌」患者の背景胃粘膜（非腫瘍性粘膜）からの内視鏡的生検検体を採取し、以下のデータ・検体は保管されている。

- ① 新鮮標本は、ミニチャンバー装置によって生検検体組織における電気抵抗値・フルオレセインの粘膜透過率を測定、微細な組織傷害を評価したものが記録・保管されている。除菌後胃粘膜からの胃液に相当する歯周病菌リポ多糖（低用量(10ng/ml)・高用量(10 μ g/ml)）単独刺激または無刺激（緩衝液）・ペプチドグリカン 10 μ g/ml 単独刺激を 180 分間添加し、基底側には常に中性緩衝液で充填した条件で、各試験試薬での粘膜バリア傷害が測定・保存されている。そして、これら 4 群の比較検討をする。なお、試薬による刺激濃度はいずれも生理的レベルであり、ミニチャンバーによるモニタリングで得られた電気抵抗値変化・透過性変化は、病理組織学的異常が明らかになる前の極初期段階の粘膜傷害を検出するのに有効とされている。
- ② ホルマリン保存標本は、病理学的検討（胃粘膜萎縮・腸上皮化生・炎症細胞浸潤の程度を判定量的に検討する（updated Sydney scoring system））・

免疫組織学的検討で粘膜バリア傷害に關与するタンパクの発現を検討する

- ③ 凍結検体は、粘膜バリア傷害に關与する遺伝子（細胞間隙調整因子・E-cadherin・アポトーシス・酸化ストレス・microRNA など）の発現を qPCR で検討する

【主要評価項目】：除菌胃癌背景粘膜組織における歯周病菌リポ多糖（低用量(10ng/ml)・高用量(10μg/ml)）単独刺激またはペプチドグリカン10μg/ml単独刺激・緩衝液刺激による胃粘膜バリア傷害（粘膜電気抵抗値・フルオレセイン透過率）の違い

【副次的評価項目】：

- 1) 除菌胃癌背景粘膜組織における歯周病菌リポ多糖（低用量(10ng/ml)・高用量(10μg/ml)）単独刺激またはペプチドグリカン10μg/ml単独刺激・緩衝液刺激による胃粘膜組織中の細胞間隙調整因子/ E-cadherin 発現の違い
- 2) 除菌胃癌背景粘膜組織における歯周病菌リポ多糖（低用量(10ng/ml)・高用量(10μg/ml)）単独刺激またはペプチドグリカン10μg/ml単独刺激・緩衝液刺激による胃粘膜組織中酸化ストレス・アポトーシス関連遺伝子発現誘導の違い
- 3) 除菌胃癌背景粘膜組織における歯周病菌リポ多糖（低用量(10ng/ml)・高用量(10μg/ml)）単独刺激またはペプチドグリカン10μg/ml単独刺激・緩衝液刺激による胃粘膜組織中TLR2/ TLR4/ ニトロタイロシン/誘導型一酸化窒素合成酵素などタンパク発現の違い
- 4) 除菌胃癌背景粘膜組織における歯周病菌リポ多糖（低用量(10ng/ml)・高用量(10μg/ml)）単独刺激またはペプチドグリカン10μg/ml単独刺激・緩衝液刺激による胃粘膜組織中microRNA (hsa-let-7a-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-miR-1260, hsa-miR-148a-3p, hsa-miR-197-3p)発現の違い

5. 研究に用いる試料・情報の種類

情報：病歴、治療歴、カルテ番号、内視鏡データ、病理データ、ミニチャンバーデータ（粘膜電気抵抗値・フルオレセイン透過性）等

試料：生検検体（ホルマリン固定・凍結）

研究機関の研究責任者は、個人情報利用にあたり安全管理対策を講じ情報流出リスクを最小化する。

東北大学における個人情報管理者

- ・氏名：齋藤 真弘
- ・所属部局・所属分野： メガバンク機構（消化器内科） 医員
- ・国家資格：医師

管理方法：

以下の4点を行う。

- ・物理的安全管理（データ管理 PC は消化器内視鏡センター内のロッカーにて鍵をかけて保管、記録媒体の持ち出し禁止等、盗難等・漏えい等の防止、個人データの削除及び機器、電子媒体等の廃棄）
- ・技術的安全管理（データ管理 PC へのアクセス制御、外部からの不正アクセス等の防止に対して不正ソフトウェア対策）
- ・組織的安全管理（個人情報取扱の制限と権限を齋藤 真弘先生に限定する）
- ・人的安全管理（定期的に教育を受ける）

財源：本研究は、科学研究費補助金（研究代表者：宇野 要、研究課題名「ピロリ菌除菌後の炎症性発癌過程における口腔内雑菌による胃粘膜バリア傷害機序の解明」）を使用し、通常診療の範囲内にて実施する。

6. 外部への試料・情報の提供

該当なし

7. 研究組織

本学単独研究

8. お問い合わせ先

本研究に関するご質問等がありましたら下記の連絡先までお問い合わせ下さい。ご希望があれば、他の研究対象者の個人情報及び知的財産の保護に支障がない範囲内で、研究計画書及び関連資料を閲覧することが出来ますのでお申出下さい。

また、試料・情報が当該研究に用いられることについて患者さんもしくは患者さんの代理人の方にご了承いただけない場合には研究対象としないので、下記の連絡先までお申出ください。その場合でも患者さんに不利益が生じることはありません。

照会先および研究への利用を拒否する場合の連絡先：

東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学講座

氏名、職名 宇野 要（院内講師）

連絡先 宮城県仙台市青葉区星陵町 1-1

022-717-7171

研究責任者：東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学講座

氏名、職名 宇野 要（院内講師）

連絡先 022-717-7171

◆個人情報の利用目的の通知に関する問い合わせ先

保有個人情報の利用目的の通知に関するお問い合わせ先：「8. お問い合わせ先」

※注意事項

以下に該当する場合にはお応えできないことがあります。

<人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 第6章第16の1(3)>

- ①利用目的を容易に知り得る状態に置くこと又は請求者に対して通知することにより、研究対象者等又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがある場合
- ②利用目的を容易に知り得る状態に置くこと又は請求者に対して通知することにより、当該研究機関の権利又は正当な利益を害するおそれがある場合

◆個人情報の開示等に関する手続

本学が保有する個人情報のうち、本人の情報について、開示、訂正及び利用停止を請求することができます。

保有個人情報とは、本学の役員又は職員が職務上作成し、又は取得した個人情報です。

- 1) 診療情報に関する保有個人情報については、東北大学病院事務部医事課が相談窓口となります。詳しくは、下記ホームページ「配布物 患者さまの個人情報に関するお知らせ」をご覧ください。（※手数料が必要です。）

【東北大学病院個人情報保護方針】

<http://www.hosp.tohoku.ac.jp/privacy.html>

- 2) 1)以外の保有する個人情報については、所定の請求用紙に必要事項を記入し情報公開室受付窓口に提出するか又は郵送願います。詳しくは請求手続きのホームページをご覧ください。（※手数料が必要です。）

【東北大学情報公開室】

<http://www.bureau.tohoku.ac.jp/kokai/disclosure/index.html>

※注意事項

以下に該当する場合には全部若しくは一部についてお応えできないことがあります。

<人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 第6章第16の2(1)>

- ①研究対象者等又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがある場合
- ②研究機関の研究業務の適正な実施に著しい支障を及ぼすおそれがある場合
- ③法令に違反することとなる場合