

- deciding treatment strategy. *Gastrointest Endosc.* 76:1073, 2012
20. Haneda M, Kato M, Ishigaki S, Suzuki M, Takahashi M, Nakagawa M, Ono S, Mori Y, Mabe K, Nakagawa S, Kudo T, Shimizu Y, Asaka M. Identification of a high risk gastric cancer group using serum pepsinogen after successful eradication of *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol.* 28:78-83, 2013
 21. Nakagawa K, Uehata Y, Natsuizaka M, Kohara T, Darmanin S, Asaka M, Takeda H, Kobayashi M. The nuclear protein Artemis promotes AMPK activation by stabilizing the LKB1-AMPK complex. *Biochem Biophys Res Commun.* 427:790-5, 2012
 22. Morita R, Hirohashi Y, Suzuki H, Takahashi A, Tamura Y, Kanaseki T, Asanuma H, Inoda S, Kondo T, Hashino S, Hasegawa T, Tokino T, Toyota M, Asaka M, Torigoe T, Sato N. DNA methyltransferase 1 is essential for initiation of the colon cancers. *Exp Mol Pathol.*;94:322-9, 2013
 23. Shimizu Y, Takahashi M, Yoshida T, Ono S, Mabe K, Kato M, Asaka M, Sakamoto N. Endoscopic resection (endoscopic mucosal resection/endoscopic submucosal dissection) for superficial esophageal squamous cell carcinoma: Current status of various techniques. *Dig. Endosc.*;25 Suppl 1:13-9,2013
 24. Eto K, Kawakami H, Kuwatani M, Kudo T, Abe Y, Kawahata S, Takasawa A, Fukuoka M, Matsuno Y, Asaka M, Sakamoto N. Human equilibrative nucleoside transporter 1 and Notch3 can predict gemcitabine effects in patients with unresectable pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2013
 25. Nakatsumi H, Komatsu Y, Yuki S, Sogabe S, Tateyama M, Muto S, Kudo M, Kato K, Miyagishima T, Uebayashi M, Meguro T, Oba K, Asaka M. Optimal Dose Period for Indisetrone Tablets for Preventing Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting with Modified FOLFOX6: A Randomized Pilot Study. *Chemotherapy.* 29;58:439-444, 2013
 26. Hata T, Kato M, Kudo T, Nishida M, Nishida U, Imai A, Yoshida T, Hirota J, Kamada G, Ono S, Nakagawa M, Nakagawa S, Shimizu Y, Takeda H, Asaka M. Comparison of gastric relaxation and sensory functions between functional dyspepsia and healthy subjects using novel drinking-ultrasonography test. *Digestion.* 87:34-39, 2013
 27. Murakami K, Furuta T, Ando T, Nakajima T, Inui Y, Oshima T, Tomita T, Mabe K, Sasaki M, Suganuma T, Nomura H, Satoh K, Hori S, Inoue S, Tomokane T, Kudo M, Inaba T, Take S, Ohkusa T, Yamamoto S, Mizuno S, Kamoshida T, Amagai K, Iwamoto J, Miwa J, Kodama M, Okimoto T, Kato M, Asaka M; For the Japan GAST Study Group.. Multi-center randomized controlled study to establish the standard third-line regimen for *Helicobacter pylori* eradication in Japan. *J Gastroenterol.* 2013 Jan 11.
 28. Asaka M. A new approach for elimination of gastric cancer deaths in Japan. *Int J Cancer.* 132:1272-6, 2013
 29. 浅香正博. わが国から胃がんを撲滅するための具体的戦略、日本医師会雑誌 140:2133-2137,2012
 30. 浅香正博. 巻頭言、肝炎・肝癌との比較で胃炎・胃癌対策を考える、*GI Forefront* 7:95,2012
 31. 浅香正博. がんの予防はどこまで可能なのか? 日本医事新報 4589:28-33,2012
 32. 浅香正博. 序文—適正な H. pylori 除菌療法の普及に向けて—日本ヘリコバクター学会認定医制度を知る、*Helicobacter Res* 16:197-198,2012
 33. 浅香正博. 我が国の胃癌診療の底力:胃癌撲滅へ向けた展望. *日本臨床* 70:1667-1672,2012
 34. 浅香正博. わが国から胃癌を撲滅するための新しい試み、巻頭言、*GI Forefront* 8:103,2012
 35. 浅香正博. 進化し続ける内科診療;世界が認めたブレイクスルー、消化性潰瘍、*medicina*, 50:58-63,2012
 36. 浅香正博. わが国から胃癌を撲滅するために何をなすべきか、名古屋内科医学会誌 141:16-27,2013
- 学会発表
1. Asaka M, "Strategy of extermination of

gastric cancer in Japan.” Meet the experts: Present status of gastric cancer prevention strategy and future direction. 2012.8, World Cancer Congress 2012, Montreal, Canada

2. Asaka M, Surveillance of patients at risk. Management of patients at high risk of gastric cancer. 15th International Workshop on Helicobacter and related bacteria in chronic digestive inflammation and gastric cancer. 2012.9. Ljubljana, Slovenia
3. 浅香正博. わが国からの胃がん撲滅を目指す戦略について、第 37 回札幌市医師会医学会特別講演、札幌、2012.1.
4. 浅香正博. 臨床試験はどこまで未来を予見しうるのか？ 我が国の内科領域のトランスレーショナルリサーチと EBM、シンポ. 第 109 回日本内科学会総会講演会、京都、2012.4.
5. 浅香正博. わが国からの胃癌を撲滅するための戦略、教育講演、第 83 回日本消化器内視鏡学会総会、東京、2012・5

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

小児の *Helicobacter pylori* 感染源の検索

研究分担者 神谷 茂 杏林大学医学部感染症学教室 教授

研究要旨

Helicobacter pylori は幼児期に感染し、家族内感染が主要な感染様式であると考えられている。小児期の *H. pylori* の家族内感染源を特定し、家族内感染の発生状況を明らかにすることを目的として、MLST (Multi Locus Sequence Typing) 解析を実施した。材料として、糞便中に含まれる *H. pylori* の DNA や胃粘膜から分離培養した菌株の DNA を用いて *atpA*, *efp*, *mutY*, *trpC*, *ureI*, *ppa*, *yphC* 遺伝子について allele 型を決定した。さらにそれらの組み合わせにより菌株の遺伝子型 (ST) を決定した。分離菌株を用いて MLST 解析を実施した家族では、母および子由来菌株の ST が一致し、父由来株が異なる ST を示した 1 家族があり、これは母子感染と考えられた。また、家族三人の分離株の ST が一致した例では、親子感染のほか夫婦間感染が示唆された。さらに、糞便サンプルを用いて MLST 解析を実施した 3 家族では、母子感染と父子感染が示唆された。父子感染が考えられた 1 家族では、別の日に採取した糞便サンプルからは母子感染が推定され、小児に 2 種類以上の *H. pylori* 菌株が混合感染している可能性が示唆された。

神谷 茂
杏林大学医学部感染症学教室 教授
研究協力者
大崎敬子
杏林大学医学部感染症学教室 准教授
米澤英雄
杏林大学医学部感染症学教室 助教
今野武津子
札幌厚生病院 小児科
奥田真珠美
兵庫医科大学 准教授
菊地正悟
愛知医科大学 教授
上田純子
愛知医科大学 助教

は主に小児期家族内感染であると考えられている。しかし、本菌の遺伝子タイプを家族間で比較する研究は数少ないため、感染源の特定や、感染ルートの解明はなされていない。近年 *H. pylori* において他の細菌と同様、遺伝子タイピングを行う方法として、MLST (Multi Locus Sequence Typing) が構築され、データベース

(<http://pubmlst.org/helicobacter/>) が使用できる環境にある。そこで、*H. pylori* の感染小児家族で、家族内に複数の感染者がいる例を対象として、感染状況を明らかにすることを目的として、糞便や分離菌株を材料として MLST を実施した。

A. 研究目的

本邦における *H. pylori* の感染ルート

B. 研究方法

分離菌株を用いた解析

対象と検体：札幌厚生病院にて外来受診された *H. pylori* 陽性の小児とその父母を対象とした。小児およびその家族は *H. pylori* 感染胃炎のほか、胃または十二指腸潰瘍、鉄欠乏性貧血が一部の患者に認められた。*H. pylori* の各菌株は、内視鏡検査施行による採取胃粘膜または胃液から分離培養され、使用時まで -80°C で保存された。

DNA 抽出：*H. pylori* の各菌株は 7% 馬血清添加 Brucella 寒天培地で 3 日培養後、回収し、Mag extractor Genomic DNA キット (TOYOBO 社) を用いて全 DNA の抽出を行った。

MLST 解析：表 1 に示すプライマーを用いて *atpA*, *efp*, *mutY*, *trpC*, *ureI*, *ppa*, *yphC* 遺伝子を PCR で増幅した。増幅された産物についてダイレクトシーケンスを実施して、遺伝子配列を決定した。得られた遺伝子配列は、MLST データベースに照合し、各遺伝子の allele 型と、4 遺伝子のタイプの組み合わせによる *H. pylori* の遺伝子タイプ (ST) を決定した。

糞便材料を用いた解析

対象と検体：兵庫県 S 市の 0-12 歳以下の小児、計 740 人とその家族を対象とした。糞便は回収後、 -30°C から -80°C で保存した。糞便 *H. pylori* 抗原テスト (テストメイトピロリ HpSA-W) (わかもと製薬) を実施した。HpSA-W 陽性の子供とその家族から、同一家族内に複数の *H. pylori* 陽性者がいて感染児の 2 回目の便検体が採取された合計 3 家族の糞便を MLST 解析の対象とした。

DNA 抽出：HpSA-W 陽性の糞便 200mg から

QIA Amp Stool kit (QUIAGEN) にビーズによる破砕法を組み合わせ、総 DNA を抽出し、100 μL TE (10 mmol/l Tris-HCl, 1 mmol/l EDTA buffer) に溶解した。

MLST 解析：1 μL の DNA サンプルを用いて real time PCR 法で *H. pylori* 16S rRNA 遺伝子が陽性であることを確認した。

MLST 法は、表 2 に示すプライマーを用いて、*efp*, *mutY*, *ppa*, *trpC* 遺伝子を nested PCR で増幅した。MLST データベースに照合し、菌株の ST を決定した。

(倫理面への配慮) 本研究は、杏林大学医学部倫理委員会にて、臨床疫学研究 (他施設共同研究) として承認 (H22-047-01) を受けて実施された。すべての検体は番号で管理し、個人情報と結びつくことのないよう管理した。

C. 研究結果

分離菌株を用いた MLST 解析

札幌厚生病院へ外来受診した小児とその父母、2 家族由来分離 *H. pylori* 菌株の MLST 解析の結果を表 3 に示した。家族 A では子供と母親の菌株の遺伝子のタイプが 7 遺伝子すべてで一致したため、母子感染が示唆された。家族 B では 3 家族員の分離菌株の 7 遺伝子すべてが一致しているため、親子感染の他、夫婦感染も示唆された。

糞便材料を用いた MLST 解析

兵庫県 S 市の保育園、幼稚園に通う子どもとその同胞 740 例のうち、糞便 *H. pylori* 抗原陽性となったのは 15 例 (2.0%) であった。15 例全例糞便から *H. pylori* 16S rRNA 遺伝子が検出された。

H. pylori 陽性の子供とその家族の糞便から全 DNA を抽出し、*efp*, *mutY*, *ppa*, *trpC*

遺伝子の nested-PCR 産物を得て、タイピングを行った。これら 4 遺伝子のタイプを表 4 に示した。atpA、ureI、yphC 遺伝子については PCR 産物を得ることができなかった。

さらに、各遺伝子のタイプを組み合わせることにより、糞便に含まれる *H. pylori* の遺伝子型の候補を決定した (表 5)。家族 A の感染児の分離菌株は父親由来の菌株と 4 遺伝子すべてが一致し、母親由来の菌株とは 2 遺伝子が一致した。父親母親由来の菌株が混合して児に感染している可能性が考えられた。更に、家族 C、D の感染児は 3 遺伝子が一致している母親由来の菌株に感染していることが推定された (表 4、5)。

D. 考察

MLST 解析は小児に感染した *H. pylori* の感染源である菌株を特定するのに有効な方法であることが示された。この方法は、*H. pylori* の MLST データベースを利用することにより各遺伝子において 2000 以上もの遺伝子多型を判別することができ、さらにその組み合わせにより菌株の遺伝子型を決定することが可能である。分離菌株を用いた解析では 7 遺伝子中 7 遺伝子が一致している分離菌株が検出され、精度の高い感染源の特定が可能であった。

さらに、糞便由来の *H. pylori* DNA から胃に感染している *H. pylori* の遺伝子タイプを決定し、家族間の比較により感染源の推定を行うことが可能であった。1 家族において、父と子の糞便中 *H. pylori* の 4 遺伝子が完全に一致していた。しかし、別の日に採取した糞便からは、母の

糞便由来 DNA とも 2 遺伝子一致する遺伝子型が認められ、由来の異なる菌株が混合して感染している可能性が示唆された。

また、同一家族の祖父 (家族 B、家族 C) 由来の菌は、子どもの *H. pylori* の遺伝子タイプと完全に不一致で、感染源ではないことが明らかとなった。したがって、これまでの報告同様、小児に対する *H. pylori* の感染は母親、父親由来の菌の家族感染が多く、祖父、祖母の感染は子どもの *H. pylori* 感染に影響しないことを示す結果となった。

一部に PCR 増幅産物が得られにくい糞便や、atpA、ureI、yphC 遺伝子については PCR 増幅産物の得にくい結果になったため、今後の改善が必要だと考えられた。さらに、それらの原因としては糞便の保存状態や個々の患者による糞便内の DNA 菌数の問題によるものと考えられた。すなわち、*H. pylori* は腸管内では嫌気環境下になることにより、球形化したり、死滅すると考えられていて、インタクトな DNA が減少することや、糞便内の他の細菌の DNA や PCR 反応の阻害物質により、増幅産物が得られないためと考えられた。

E. 結論

H. pylori 陽性の小児がいる家族から糞便や分離菌株を用いて、MLST 法にて遺伝子型を決定し、家族内感染の感染源を推定することができた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1 論文発表

1. Osaki T, Okuda M, Ueda J, Konno M, Yonezawa H, Hojo F, Yagyu K, Lin Y, Fukuda Y, Kikuchi S, Kamiya S. Multi locus sequence typing for the analysis of intra-familial transmission of *Helicobacter pylori* by using fecal specimens. *Journal Med Microbiol.* 62, 761-765. 2013
 2. Okuda M, Kamiya S, Booka M, Kikuchi S, Osaki T, Hiwatani T, Maekawa K, Fukuda Y: Diagnostic accuracy of urine-based kits for detection of *Helicobacter pylori* antibody in children. *Pediatrics Internal* 2013(in press)
 3. Osaki T, Matsuki T, Asahara T, Zaman C, Hanawa T, Yonezawa H, Kurata S, Woo T D.H, Nomoto K, Kamiya S. Comparative analysis of gastric bacterial microbiota in Mongolian gerbils after long-term infection with *Helicobacter pylori*. *Microbial Pathogenesis*, 53: 12-18. 2012.
 4. Yonezawa H, Osaki T, Hanawa T, Kurata S, Zaman C, Woo TD, Takahashi M, Matsubara S, Kawakami H, Ochiai K, Kamiya S. The destructive effects of butyrate on the cell envelope of *Helicobacter pylori*. *J Med Microbiol.* 61:582-589. 2012
 5. 大崎敬子、米澤英雄、花輪智子、蔵田訓、ザマンシンシア、神谷茂 *Helicobacter pylori* の環境中での生存条件についての検討、*無菌生物*, 42(2):66-68, 2012.
 6. Zaman Cynthia, 神谷茂: スナネズミ胃内細菌とヘリコバクター・ピロリとの微生物生態学に関する研究、*日本臨床微生物学雑誌* 14(1):69-70, 2012
- 2 学会発表
1. 米澤英雄、神谷茂、*Helicobacter pylori* のバイオフィルム形成とその制御に向けて、第86回日本細菌学会総会、平成25年3月18-20日、千葉
 2. 大崎敬子、北条史、米澤英雄、蔵田訓、花輪智子、Cynthia Zaman、神谷茂、Caco-2細胞生体膜モデルを用いた鉄通過能に対する*Helicobacter pylori*の影響、第86回日本細菌学会総会、平成25年3月18-20日、千葉
 3. 北条史、大崎敬子、米澤英雄、花輪智子、蔵田訓、山口博之、神谷茂、*H. pylori*の原生動物細胞内生存性についての検討、第86回日本細菌学会総会、平成25年3月18-20日、千葉
 4. Yonezawa H, Osaki T, Kamiya S: The effect of gastric bacterial microbiota in Mongolian gerbils on infection with *Helicobacter pylori*. 47th Annual Joint Panel Meeting on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections. United States-Japan Cooperative Medical Science Program, 12-14 December 2012, Chiba, Japan
 5. Kikuchi S, Okuda M, Osaki T, Yagyu K, Lin Y, Kamiya S. Prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection in Japanese children. the 4th World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (WCPGHAN 2012) November 14-18, 2012, Taipei.
 6. Okuda M, Kikuchi S, Ueda J, Osaki T, Yagyu K, Lin Y, Maekawa K, Yonezawa H, Kamiya S, Fukuda Y. Incidence of *Helicobacter pylori* infection in children during a one-year follow-up and the infection status in families in a rural area of Japan. European *Helicobacter Study Group XXVth International Workshop on Helicobacter and related bacteria in chronic digestive inflammation and gastric cancer.* September 13-15, 2012, Slovenia.
 7. Kamiya S: Biofilm formation and bacterial pathogenesis. Symposium 24: Healthcare-associated urinary tract infection. 13th Asia-Pacific Congress of Clinical Microbiology and Infection, 25-28, October 2012, China National Convention Center, Beijing, China
 8. 北条史、大崎敬子、米澤英雄、花輪智子、蔵田訓、山口博之、神谷茂 *Helicobacter pylori* の原生動物内における生存性の検討第95回日本細菌学会関東支部総会、平成24年10月10-12日、東京
 9. 大崎敬子、奥田真珠美、上田純子、米澤英雄、北条史、柳生聖子、林櫻松、福田能啓、菊地正悟、神谷茂 糞便材料を用いたMLST法による

- Helicobacter pylori*感染源の家族内検索、学術集会、平成24年6月29日－30日、岡山
10. 北条史、大崎敬子、米澤英雄、花輪智子、山口博之、神谷 茂、*Helicobacter pylori*の原生動物内における生存性の検討、第18回日本ヘリコバクター学会学術集会、平成24年6月29日－30日、岡山
 11. 奥田真珠美、菊地正悟、大崎敬子、上田純子、米澤英雄、林櫻松、柳生聖子、北条史、神谷 茂、福田能啓、小児の*H. pylori*感染状況と追跡調査－篠山スタディ第2報、第18回日本ヘリコバクター学会学術集会、平成24年6月29日－30日、岡山
 12. 米澤英雄、大崎敬子、花輪智子、Zaman Cynthia、神谷 茂 *Helicobacter pylori*のバイオフィルム形成とクラリスロマイシン抵抗性、第18回日本ヘリコバクター学会学術集会、平成24年6月29日－30日、岡山
 13. 神谷 茂、米澤英雄、大崎敬子：*Helicobacter pylori*の口腔内での生態に関する検討－細菌学的エコロジー解析－、私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「口腔感染を誘因とする難治性全身疾患発症機序の解明と疫学調査拠点形成」平成24年度第1回研究成果報告会、平成24年6月23日、日大歯学部、東京
 14. Kamiya S, Yonezawa H, Kurata S, Hanawa T, Hojo D, Tokunaga K, Takahashi S, Osaki T: Analysis of gastric microbiota of the patients with chronic gastritis with or without *Helicobacter pylori* infection. The 35th Annual Meeting of the Society for Microbial Ecology in Health and Diseases, 15-17, May, 2012 Valencia, Spain
 15. 大崎敬子、奥田真珠美、蔵田 訓、神谷 茂 *Helicobacter pylori*感染源の家族内検索のためのMLST法の応用第86回日本感染症学会総会、平成24年4月25－26日、長崎
 16. 神谷 茂：バイオフィルムと薬剤耐性、第60回日本化学療法学会学術集会教育講演、平成24年4月27日（長崎）

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. *H. pylori* 菌株の MLST 解析に用いたプライマー

Locus	name	
<i>trpC</i>	trpC-for8	GGCAATTTGGATGAGCGAGCTC
	trpC-rev6	AAGGCCCGCACACTTTATTTTC
<i>ppa</i>	ppa-for1	GAAGTGAGCCATGACGCTGA
	ppa-rev4	GGGTTAARATCGTTAAATTGTAG
<i>mutY</i>	mutY-for4	TTATGAAGTCTCTATATCAGCGAAGT
	mutY-rev4	TACCTAAACAATAAGGATTGAAAGG
<i>efp</i>	efp-for3	GGCAATTTGGATGAGCGAGCTC
	efp-rev3	CTTCACCTTTTCAAGATACTC
<i>atp</i>	atpA-for2	GGACTAGCGTTAAACGCACG
	atpA-rev2	CTTGAAACCGACAAGCCCAC
<i>yphC</i>	yphC-rev3	CATTYACCCTCCCAATGATGC
	yphC-for2	CACGCCTATTTTTTTGACTAAAAAC
<i>ureI</i>	ureI-for	AGGTTATTCGTAAGGTGCG
	ureI-rev2	GTTTAAATCCCTTAGATTGCC

表 2. 糞便検体の MLST 解析に用いたプライマー

Locus	PCR	Name	Primer*	Amplicon (bp)	Reference
<i>efp</i>	First	efp_for1	GGCAATTTGGATGAGCGAGCTC	558	MLST website
		efp_rev1	CTTCACCTTTTCAAGATACTC		MLST website
	Second	efp_for2	GGGCITGAAAATTGAATTGGGCGG	500	MLST website
		efp_rev2	GTATTGACTTTTAATGATCTCACCC		MLST website
<i>mutY</i>	First	mutY_for4	TTATGAAGTCTCTATATCAGCGAAGT	529	This study
		mutY_rev 4	TACCTAAACAATAAGGATTGAAAGG		This study
	Second	mutY_for 5	ATATCAGYGAAGTGATGAGC	516	This study
		mutY_rev 5	CCYAAACAATAAGGRTTKGAA		This study
<i>ppa</i>	First	ppa_for1-1	GAARTKAGCCATGACGCTRA	698	MLST website
		ppa_rev 4	GGGTTAARATCGTTAAATTGTAG		MLST website
	Second	ppa_for 1-2	AGCCATGACGCTRAKYCTTT	490	This study
		ppa_rev 1-2	CTCTTTGTTTTCAAACCCCTTG		This study
<i>trpC</i>	First	trpC_for8	AGCATCGCCCTCTAAAGGTT	618	This study
		trpC_rev 6	AAGCCCCGCACACTTATTTTC		This study
	Second	trpC_for 9	TCCGCCCTCYAAAGGTTTRAT	564	This study
		trpC_rev 9	TCAAATCCTTTTCTTECATYA		This study

*Y=C or T; K=G or T; R=A or G.

表 3. 家族の *H. pylori* 分離菌株を用いた MLST 解析

		<i>AtpA</i>	<i>efp</i>	<i>mutY</i>	<i>ppa</i>	<i>trpC</i>	<i>ureI</i>	<i>yphC</i>
Family	Father	1889	916	955	1380	13	2233	1937
A	Mother	1984	455	1220	1125	1536	970	960
	Child	1984	455	1220	1125	1536	970	960
Family	Father	1760	1799	457	936	457	970	457
B	Mother	1760	1799	457	936	457	970	457
	Child	1760	1799	457	936	457	970	457

表 4. 糞便材料から抽出した DNA による *H. pylori* の MLST 解析

Family	Family member*	Allele type for:			
		<i>efp</i>	<i>mutY</i>	<i>ppa</i>	<i>trpC</i>
A	Index child (1st)	1908†	703	1934	454
	Index child (2nd)	181	703	838	181
	Father	1908†	703	1934	454
	Mother	181	703	945	ND
	Sibling‡	---	---	---	---
B	Index child (1st)	1807	1540	502	1468
	Index child (2nd)	1807	1540	502	457
	Mother	1908	1540	502	1468
	Grandfather	1908	703	945	181
	Father‡	---	---	---	---
	Sibling‡	---	---	---	---
C	Index child (1st)	1908	2019	938	457
	Index child (2nd)	1908	703	1934	457
	Mother	1908	703	1934	1239
	Grandfather‡	---	---	---	---
	Father‡	---	---	---	---
	Sibling‡	---	---	---	---

ND, Not determined.

*1st and 2nd indicate the first and second samples taken, with an interval of 3 months between the first sample collection and the second.

†There were three differences from the 1908 allele sequence.

‡These family members were *H. pylori* negative.

表 5. 糞便材料から抽出した DNA による 3 家族 *H. pylori* の MLST 解析

Family	Member*	Candidates for MLST (STs)†	Family member with similar STs
A	Child (1st)	960/1660/2250/2265	Father
	Child (2nd)	181	Mother
	Father	960/1660/2250/2265	
	Mother	181/664/960/975/978/1143/1145/1262/1264/1403/1445/1733	
B	Child (1st)	489/1108/1346/1466/1565/1929/2145	Mother
	Child (2nd)	489/669/1108/1290/1466/1929/2145	Mother
	Mother	489/1108/1346/1466/1565/1929/2265	
	Grandfather	181/960/1228/2265	
C	Child (1st)	669/870/1290/2250/2265	Mother
	Child (2nd)	669/1290/2207/2265	Mother
	Mother	960/1809/2250/2265	
	Grandfather	402/2269	

*1st and 2nd indicate the first and second samples taken, with an interval of 3 months between the first sample collection and the second.

†STs that were the same in each family are indicated in bold.

厚生労働省研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

中学生における *Helicobacter pylori* 抗体保有率とペプシノゲンに関する研究

研究分担者 奥田真珠美 兵庫医科大学篠山医療センター小児科
兵庫医科大学地域総合医療学 准教授

研究要旨

平成 24 年 11 月から平成 25 年 1 月に中学 1～3 年生の 337 名から尿または血液の採取を行い抗 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 抗体と血清ペプシノゲン (PG) 測定を行った。抗体陽性率は 4.2%であり、平成 24 年に行った 0 歳から小学校 6 年生までの便中抗原陽性率 (1.8%) より高い結果であった。PG 測定は 206 名に行ない PG 法陽性は 17 名でこのうち抗体陽性は 2 名であった。1 名で上部消化管内視鏡検査を行い、結節性胃炎、萎縮性胃炎を認めた。小児では成人と比較して PG I が低く PG II が高いため PG I/II 比が低くなり PG 法が陽性となる。中学生に対する適用は今後さらに検討が必要である。

A. 研究目的

Helicobacter pylori (*H. pylori*)は多くが乳幼児期に感染が成立した後、持続感染し、慢性胃炎から萎縮性胃炎、胃癌へと進展する事が明らかになっている。*H. pylori* 除菌治療は胃癌の発生を抑制するが、胃炎の程度が進行し、萎縮性胃炎になると除菌治療をしても胃癌の発生が完全に抑制できないことが報告されている。したがって胃癌予防のためには感染後早期、萎縮性胃炎のない若年者での除菌が望ましいと考えられている。本研究では中学生における感染率 (抗体保有率) と萎縮性胃炎のマーカーであるペプシノゲン (PG) を用いて、胃癌予防のための最適の除菌時期を検討する事である。

B. 研究方法

平成 24 年 11 月から平成 25 年 1 月に、兵庫県篠山市の中学生を対象にピロリ菌

感染検査を行なった。対象は市役所を通じて市内の中学生 1225 名にピロリ菌検診への参加を予め依頼し、本人と保護者の同意が得られた中学生である。中学校を通じて保護者あてにアンケート用紙を配布し、“ピロリ菌検診”を希望するかどうか、希望する場合、(1)尿検査のみ (2)血液検査のみ (3)尿・血液両方のいずれかを選択する回答を得た。尿検体は学校検尿の残りで、血液は各中学校の近くにある市民ホールなどを採血場所として利用し採取した。尿検体ではウリネリザ H. ピロリ抗体 (ELISA 法、大塚製薬) を用いて尿中抗体を測定した。血液検体では血清抗体 (ELISA 法、E プレート‘栄研’H. ピロリ抗体 II (栄研)) と PG (CLEIA 法、ルミパルスプレスト ペプシノゲン I, II (富士レビオ)) を測定した。尿中抗体、血清抗体は添付文書に従って陽性、陰性を判定した。PG は成人で胃癌リスク検診として用いられている PG

法に準じて解析した。すなわち、PG I 70 ng/ml 以下かつ PG I/II 比が 3.0 以下を PG 法陽性とし、当てはまらないものを陰性とした。さらに、血清抗体を含めた「胃癌リスク検診」である ABCD (A: 抗体陰性, PG 法陰性 B: 抗体陽性, PG 法陰性 C: 抗体陽性, PG 法陽性 D: 抗体陰性, PG 法陽性) に分類した。

(倫理面への配慮)

本研究は、兵庫医科大学、愛知医科大学、杏林大学医学部の共同研究として実施しているため、各施設の倫理委員会の承認を得るとともに、篠山市役所、篠山市教育委員会とも相談しながら研究を実施した。

C. 研究結果

対象 1225 名のうち 337 名 (27.5% 男児 183 名) が研究に参加し、尿検査のみ 131 名、血液検査のみ 19 名、両方 187 名であった。学年別では中学 1 年生 109 名、2 年生 126 名、3 年生 102 名であった。

(1) 尿中抗体陽性率: 318 名を対象とし、陽性は 10 名 (陽性率 3.1%) であった。

(2) 血清抗体陽性率: 206 名を対象とし、陽性は 12 名 (陽性率 5.8%) であった。

(3) 尿および血清抗体の検討: 両方の検査を受けた 187 名のうち、両者陽性 8 名、尿中抗体のみ陽性 1 名、血清抗体のみ陽性 3 名、両者陰性 175 名で両者の一致率は 97.9% であった。

(4) 抗体陽性率: 尿中もしくは血中抗体のいずれかが陽性であるものを抗体陽性者として検討した。337 名中抗体陽性は 14 名 (陽性率 4.2%) で男子生徒 2.7% (5/183)、女子生徒 5.8% (9/154) と女子に多い結果であった。学年別では中学 1 年生 4.6%

(5/109)、2 年生 4.8% (6/126)、3 年生 2.9% (3/102) であった。

(5) ABCD 分類: 血液検査を行った 206 名について検討した (表 1)。

表 1. 対象中学生の ABCD 分類

	男子	女子	計	%
A (PG 陰性, 抗体陰性)	97	82	179	86.9
B (PG 陰性, 抗体陽性)	3	7	10	4.8
C (PG 陽性, 抗体陽性)	1	1	2	1.0
D (PG 陽性, 抗体陰性)	9	6	15	7.3
計	110	96	206	100

C 群 2 名のうち 13 歳男児の上部消化管内視鏡を行い、結節性胃炎、萎縮性胃炎 (木村—竹本分類 CII) を認めた。

D. 考察

我々は平成 22 年から篠山市に在住する小児の *H. pylori* 感染に関する研究を行っている。平成 23 年度では 0 歳から小学校 6 年生の小児について検討し、陽性率は 1.8% であった。今回、中学生における抗体保有率を検討し、陽性率は全体で 4.2% であり、小学生以下より高率であったが過去の報告より低い結果であった。

近年、PG 法は血清抗体とともに胃癌リスク検診に用いられている。本研究では中学生について検討を行ったが、PG 法陽性は 17 名でこのうち血清抗体陽性は 2 名であった。15 名は PG 法陽性、血清抗体陰性の D 群であった。D 群は成人では胃癌のリスクが最も高い群であるが、中学生にこの方法が適用できるかどうかは検討が必要である。我々の検討であるが正常の小児では PG I が低く PG II は成人並みになるため I/II 比が低く、PG 法陽性とな

る場合が少なくない事を見いだしている。中学生においても、PG Iの成熟が遅い場合はPG法が陽性になってしまう可能性があり、どの年齢から適用できるかの検討が必要である。C群の1名で内視鏡を行い、軽度の萎縮を認めた。胃癌予防のための除菌時期については慎重に検討していく必要があるが中学生は対象とすべきであることが示唆される。

E. 結論

中学1～3年生337名における抗*H. pylori*抗体陽性率は4.2%であった。PG法は206名のうち17名(8.2%)で陽性であり、このうち抗体陽性は2名であった。1名で上部消化管内視鏡検査を行い、結節性胃炎、萎縮性胃炎を認めた。小児では成人と比較してPG Iが低くPG IIが高いためPG I/II比が低くなりPG法が陽性となることを認めており、中学生に対するPG法の適用は今後さらに検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada K, Sugiyama T, Mihara H, Kajiura S, Saito S, Itaya Y, Yamawaki H, Ando T, Kudo T, Hosokawa A, Okuda M, Fukunaga K, Akada JK, Nakazawa T. Fragmented CagA Protein is Highly Immunoreactive in Japanese Patients. *Helicobacter*. 2012 Jun;17(3):187-92.
- 2) Okuda M, Yamamoto N, Fukuda N, Maekawa K, Kusaka T, Hashimoto M, Kotake

J, Koizuka H, Fukuda Y. Effect of ecabet sodium treatment on urea breath test and stool antigen tests in volunteers with *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2012 Apr;27 Suppl 3:100-2.

- 3) Osaki T, Okuda M, Ueda J, Konno M, Yonezawa H, Hojo F, Yagyu K, Lin Y, Fukuda Y, Kikuchi S, Kamiya S. Multi locus sequence typing for the analysis of intra-familial transmission of *Helicobacter pylori* by using fecal specimens. *Journal Med Microbiol*. 62, 761-765. 2013

- 4) Okuda M, Kamiya S, Booka M, Kikuchi S, Osaki T, Hiwatani T, Maekawa K, Fukuda Y. Diagnostic accuracy of urine-based kits for detection of *Helicobacter pylori* antibody in children. *Pediatr Int*. 2013 (In press)

- 5) 奥田真珠美, 坊岡美奈, 辻知見, 檜皮谷朋子, 前川講平, 菊地正悟, 福田能啓. 小児・若年者の*Helicobacter pylori*感染率と感染経路: 胃癌予防のために小児科医がすべきこと *Helicobacter Research* 2012 ; 16 : 288-293

- 6) 奥田真珠美, 坊岡美奈, 辻知見, 西岡隆文, 前川講平, 高木信明, 福田能啓. *Helicobacter pylori*感染症の診断と治療. 小児内科 2012; 44: 881-885

- 7) 奥田真珠美. ヘリコバクター・ピロリ. 日本小児感染症学会(編). 小児感染症マニユアル 2012, 180-188

2. 学会発表

- 1) Kikuchi S, Okuda M, Ueda J, Osaki T, Yagyu K, Lin Y, Kamiya S, Fukuda S. Prevention of gastric cancer obstructing *H. pylori* infection to children. The 9th

Korea-Japan Joint Symposium on Helicobacter Infection. June 30, 2012, Okayama

2) Okuda M, Kikuchi S, Ueda J, Osaki T, Yagyu K, Lin Y, Maekawa K, Yonezawa H, Kamiya S, Fukuda Y. Incidence of *Helicobacter pylori* infection in children during a one-year follow-up and the infection status in families in a rural area of Japan. European Helicobacter Study Group XXVth International Workshop on Helicobacter and related bacteria in chronic digestive inflammation and gastric cancer. Workshop. September 13-15, 2012, Ljubljana

3) Ueda J, Okuda M, Osaki T, Yagyu K, Lin Y, Maekawa K, Yonezawa H, Kamiya S, Fukuda Y, Kikuchi S. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children in Sasayama city. European Helicobacter Study Group XXVth International Workshop on Helicobacter and related bacteria in chronic digestive inflammation and gastric cancer. September 13-15, 2012, Ljubljana

4) Okuda M, Kikuchi S, Ueda J, Osaki T, Maekawa K, Kamiya S, Fukuda Y Intrafamilial transmission of *Helicobacter pylori* infection in a rural area of Japan. 4th World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (WCPGHAN 2012). November 14-18, 2012, Taipei

5) Kikuchi S, Okuda M, Ueda J, Osaki T, Yagyu K, Lin Y, Kamiya S. Prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection in Japanese children. 4th World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (WCPGHAN 2012). November 14-18, 2012, Taipei

6) 奥田真珠美, 菊地正悟, 福田能啓 小児・若年者の*Helicobacter pylori* 感染率と感染経路: 胃癌予防にむけて. 第98回日本消化器病学会総会 2012.4月 東京

7) 奥田真珠美, 菊地正悟, 大崎敬子, 上田純子, 米澤英雄, 林櫻松, 柳生聖子, 北条史, 神谷茂, 福田能啓. 小児の*H. pylori*感染状況と追跡調査—篠山スタディ第2報. 第18回日本ヘリコバクター学会学術集会 2012. 6月 岡山市

8) 菊地正悟, 奥田真珠美, 上田純子, 大崎敬子, 柳生聖子, 林櫻松, 神谷茂, 福田能啓. 小児への*H. pylori* 感染防止による胃がん予防. 第18回日本ヘリコバクター学会学術集会シンポジウム 2012. 6月 岡山市

9) 赤田純子, 奥田真珠美, 内田智久, 福田能啓, 中澤晶子, 中村和行. ピロリ菌感染小児血清中の抗ピロリ菌抗体群の解析. 第18回日本ヘリコバクター学会学術集会シンポジウム 2012. 6月 岡山市

9) 奥田真珠美, 菊地正悟, 福田能啓. 篠山市における小児の*Helicobacter pylori*感染率と感染経路の検討: 胃癌予防に向けた試み. 第44回日本小児感染症学会総会・学術集会 2012.11月 北九州市

10) 奥田真珠美, 一瀬雅夫, 菊地正悟, 佐竹真, 福田能啓. 小児・青年期における*H. pylori* 感染と血清ペプシノゲン値—除菌治療時期の特定に向けて. 第99回日本消化器病学会総会 2013.3月 鹿児島

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

胃粘膜 DNA メチル化レベルによる胃癌発生リスクの検討

研究分担者 一瀬 雅夫 和歌山県立以下大学第2内科 教授

研究要旨

H. pylori (HP)感染に伴う慢性炎症により胃発がんに関与する DNA メチル化異常が誘発される。本分担研究者らは血清ペプシノゲン (PG) および HP に対する血清抗体価により評価される胃炎の活動度を指標に個人の胃癌、特に未分化型胃がん発生リスク評価が可能となる事を長期観察研究の結果、報告した。本研究年度においては胃粘膜の DNA メチル化レベルと HP 関連胃炎の活動度との関連を検討した。対象は健常者 78 名である。DNA メチル化レベルは、6 つの遺伝子 (*FLNc*, *HAND1*, *THBD*, *p41ARC*, *HRALS*, *LOX*) プロモーター領域の CpG island (CGI) と 2 つの繰り返し領域 (*Alu*, *Sata α*) を real-time methylation-specific PCR 法と Bisulfite pyrosequencing 法でそれぞれ測定した。HP 関連胃炎の活動度は、血清 PGII 値と HP 抗体価により評価した。その結果、HP 関連胃炎の活動度に応じて、CGI のメチル化レベルは上昇、繰り返し領域のメチル化レベルは低下した。またこれらの血清マーカーを組み合わせることで DNA メチル化異常が高度な胃粘膜を同定できた。HP 関連胃炎の活動度と関連した DNA メチル化異常は未分化型胃がん発生の背景をなす一つの分子機構の可能性はある。今後、この集団を追跡し胃粘膜 DNA メチル化レベルと胃癌発生との関連を検討する予定である。

A. 研究目的

特定臓器において慢性炎症の存在はその発がんリスクである。さらに、慢性炎症の活動度も発がんリスクとなる。慢性炎症により誘発された genetic および epigenetic な変化の蓄積は発がんへの寄与が強く示唆されている。胃粘膜では、慢性炎症は *H. pylori* (HP) 感染により誘発され、胃癌リスクを高める。HP 関連胃炎の活動度は、血清 HP 抗体価や血清ペプシノゲン (PG) II 値により評価可能である。本分担研究者らは長期観察研究の結果を基に、血清 HP 抗体価や血清 PG II 高値となる個人は、胃発

がん、特に未分化型胃癌発生リスクが高いことを報告した (*Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 17: 838-45, 2008 & *Int J Cancer* 125: 2697-2703, 2009)。一方、癌で観察される epigenetic な変化の一つに DNA メチル化異常がある。DNA メチル化異常とは、CpG island (CGI) の高メチル化とゲノム全体の低メチル化で構成される。遺伝子プロモーター領域の CGI の高メチル化は遺伝子の発現抑制を通じて、繰り返し領域の低メチル化に起因するゲノム全体の低メチル化はゲノム不安定性を通じて、癌の進展や悪性度に関与する。このような特性

を背景にDNAメチル化異常は炎症関連発がんにも深く関与することが示されている。本分担研究者らは、HP関連胃炎胃粘膜において遺伝子プロモーター領域のCGIの高メチル化や繰り返し領域の低メチル化が高度に誘発されていることを報告した (*Clin Cancer Res* 12:989-95, 2006 & *Int J Cancer* 128:33-9, 2011)。本研究年度において、HP関連胃炎の活動度とDNAメチル化レベルの関連を明らかにする目的に、健常者を対象に、6つの遺伝子(*FLNc*, *HAND1*, *THBD*, *p41ARC*, *HRALS*, *LOX*)プロモーター領域のCGIと2つの繰り返し領域(*Alu*, *Sata*)のDNAメチル化レベルを測定し、血清HP抗体価や血清PG II値との関連を検討した。

B. 研究方法

胃癌健診目的に上部内視鏡検査を受けた78名(男性39名:女性39名)を対象に前庭部と胃体部の胃粘膜を採取しDNAを抽出した。メチル化レベルの測定方法は、CGIはreal-time methylation-specific PCR法、繰り返し領域はbisulfite pyrosequencing法である。対象者の血清PG値、HP抗体価を測定し、その結果に基づいてそれぞれ以下の3群に分けた。すなわち、HP感染陰性(HP抗体価 ≤ 50 U/mL)、HP陽性抗体低力価(HP抗体価 > 50 かつ ≤ 500 U/mL)、HP陽性抗体高力価(HP抗体価 > 500 U/mL)、II-0 (PG II ≤ 10 ng/mL)、II-10 (PG II > 10 かつ ≤ 30 ng/mL)、II-30 (PG II > 30 ng/mL)のそれぞれ3群である。なお胃癌の既往、胃の手術歴、HP除菌歴のある者やプロトンポンプ阻害薬、副腎皮質ステロイドなど消化管機能に影響する薬剤を内服中の患者は含まれない。

(倫理面への配慮)

血清や胃粘膜などの検体を、本研究のため収集、分析する場合には、本人もしくは代諾者の承諾を得た上で行っている。本研究の実施に当たっては和歌山県立医科大学の倫理委員会で承認を得た上で行っている。

C. 研究結果

対象者 78名の年齢は中央値 55歳(23-91歳)で男性39名、血清マーカーによる分類では、HP感染陰性37名、HP陽性抗体低力価28名、HP陽性抗体高力価13名であった。またII-0が27名、II-10が36名、II-30が15名であった。DNAメチル化レベルと血清HP抗体価の関連を検討した結果、CGIのメチル化レベルはHP抗体価の上昇に応じて段階的な上昇を認めた。繰り返し領域のメチル化レベルはHP抗体価の上昇に応じて段階的に低下した。

次にDNAメチル化レベルとPG II値の関連を検討した結果、抗体価の上昇に応じて段階的にCGIのメチル化レベルは上昇し、繰り返し領域のメチル化レベルは低下した。これら血清マーカーとDNAメチル化レベルの関連は、胃粘膜の採取部位に関わらず、メチル化レベル測定部位に関わらず同じ傾向が観察された。

最後にDNAメチル化状態と血清マーカーについて個人単位での関連を検討した。結果、血清マーカーとDNAメチル化異常はよく関連し、マーカーの組み合わせによりDNAメチル化異常が高度な個人を同定できた。

D. 考察

本分担研究者らは血清 PG および HP 抗体の二つの検査により得られる情報から、各個人の胃癌、特に未分化型胃癌発生リスクを想定することが可能であること、HP 感染胃粘膜では DNA メチル化異常が高度に誘発されていることを一連の研究によって報告してきたが、今回は、DNA メチル化レベルと血清マーカーにより評価される慢性胃炎の活動度に密接な関連があることを明らかにした。また2つの血清マーカーを組み合わせて DNA メチル化異常が高度な胃粘膜を同定できた。2つの血清マーカーは HP 感染に伴う炎症の別な側面を捉えていると示唆される。未分化型胃癌は、活動性胃炎から萎縮性胃炎への進展を経る分化型胃癌とは異なる発がん経路が想定されている。HP 関連胃炎の活動度の高さは未分化型胃癌の一つのリスクである。従って、慢性胃炎の活動度と関連した DNA メチル化異常は、未分化型胃発がんの一つの分子機構である可能性がある。また胃粘膜の DNA メチル化レベル測定は、胃癌特に未分化型胃癌発生リスクを予測するのに有用と考え、今後この集団を追跡し胃粘膜 DNA メチル化レベルと胃癌発生との関連を検討する予定である。

E. 結論

慢性胃炎の活動度と DNA メチル化異常は、非常によく関連していた。慢性胃炎の活動度と関連した DNA メチル化異常は、未分化型胃発がんの一つの分子機構である可能性がある。また胃粘膜の DNA メチル化レベル測定は、胃癌特に未分化が胃癌発生リスクを予測するのに

有用と考え、今後この集団を追跡し胃粘膜 DNA メチル化レベルと胃癌発生との関連を検討する予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Muraki Y, Enomoto S, Iguchi M, Fujishiro M, Yahagi N, Ichinose; M Management of bleeding and artificial gastric ulcers associated with endoscopic submucosal dissection. *World Journal of Gastro- intestinal Endoscopy* 4: 1-8, 2012
2. Moribata K, Kato J and Ichinose M; Microcoil slipping out of the gastric varices. *Clin Gastroenterol Hepatol* 10; e53, 2012.
3. Fukatsu K, Ueda K, Maeda H, Yamashita Y, Itonaga M, Mori Y, Moribata K, Shingaki N, Deguchi H, Enomoto S, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Tamai H, Kato J, Ichinose M. A case of chronic pancreatitis in which endoscopic ultrasonography was effective in the diagnosis of a pseudoaneurysm. *World J Gastrointest Endosc.* 4:335-8, 2012.
4. Shigematsu Y, Niwa T, Yamashita S, Taniguchi H, Kushima R, Katai H, Ito S, Tsukamoto T, Ichinose M, Ushijima T. Identification of a DNA methylation marker that detects the presence of lymph node metastases of gastric cancers. *Oncol Lett.* 40:268-274, 2012.
5. Niimi K, Fujishiro M, Goto O, Kodashima S, Minatsuki C, Hirayama I,

- Mochizuki S, Ono S, Yamamichi N, Kakushima N, Ichinose M, Koike K. Prospective single-arm trial of two-week rabeprazole treatment for ulcer healing after gastric endoscopic submucosal dissection. *Dig Endosc.* 24:110-6, 2012.
6. Yamamichi N, Oka M, Inada K, Konno-Shimizu M, Kageyama-Yahara N, Tamai H, Kato J, Fujishiro M, Kodashima S, Niimi K, Ono S, Tsutsumi Y, Ichinose M, Koike K. Rebamipide induces dendritic cell recruitment to N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)-exposed rat gastric mucosa based on IL-1 β upregulation. *Biochem Biophys Res Commun.* 424:124-9, 2012.
 7. Enomoto S, Watanabe M, Yoshida T, Mukoubayashi C, Moribata K, Muraki Y, Shingaki N, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Tamai H, Kato J, Fujishiro M, Oka M, Mohara O, Ichinose M. Relationship between vomiting reflex during esophagogastroduodenoscopy and dyspepsia symptoms. *Dig Endosc.* 24:325-30, 2012.
 8. Itonaga M, Ueda K, Ichinose M. Phlegmonous gastritis caused by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA). *Dig Endosc.* 24:488,2012.
 9. Muraki Y, Enomoto S, Iguchi M, Niwa T, Maekita T, Yoshida T, Moribata K, Shingaki N, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Tamai H, Kato J, Fujishiro M, Ichinose M; Diazepam during endoscopic submucosal dissection of gastric epithelial neoplasias. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy* 4; 80-86, 2012.
 10. Nanjo S, Asada K, Yamashita S, Nakajima T, Nakazawa K, Maekita T, Ichinose M, Sugiyama T, Ushijima T; Identification of gastric cancer risk markers informative among individuals with past *H. pylori* infection. *Gastric Cancer* 15;382-388, 2012.
 11. Kim JG, Takeshima H, Niwa T, Rehnberg E, Shigematsu Y, Yoda Y, Yamashita S, Kushima R, Maekita T, Ichinose M, Katai H, Park WS, Hong YS, Park CH, Ushijima T; Comprehensive DNA methylation and extensive mutation analyses reveal an association between the CpG island methylator phenotype and oncogenic mutations in gastric cancers. *Cancer Lett.* 2012 Nov 27. doi:pii: S0304-3835 (12) 00669-6. 10.1016/j.canlet.2012.11.022. [Epub ahead of print]
 12. Tamai H, Moribata K, Mori Y, Shingaki N, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Kato J, Ichinose M; Low-dose pegylated interferon-alpha-2a monotherapy in elderly and/or cirrhotic patients infected with hepatitis C virus genotype-2 or genotype-1 low level infection. *Hepatol Res.* 2012 Nov 20. doi: 10.1111/hepr.12024. [Epub ahead of print]
 13. Maekita T, Kato J, Nakatani Y, Enomoto S, Kayama T, Tsuji M, Nakaya T, Muraki Y, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Iguchi M, Tamai H, Ichinose M. Usefulness of a continuous suction mouthpiece during percutaneous endoscopic gastrostomy: A

- single-center, prospective, randomized study. *Dig Endosc.* 2012 Dec 26. doi: 10.1111/den.12017. [Epub ahead of print]
14. Moribata K, Tamai H, Shingaki N, Mori Y, Shiraki T, Enomoto S, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Ichinose M. Ultrasonogram of hepatocellular carcinoma is associated with outcome after radiofrequency ablation. *World J Hepatol.* 2012 Dec 27;4(12):374-81. doi: 10.4254/wjg.v4.i12.374.
 15. Tamai H, Moribata K, Mori Y, Shingaki N, Deguchi H, Ueda K, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Kato J, Ichinose M; Low-dose pegylated interferon-alpha-2a monotherapy in elderly and/or cirrhotic patients infected with hepatitis C virus genotype-2 or genotype-1 low level infection. *Hepatol Res.* 2012 Nov 20. doi: 10.1111/hepr.12024. [Epub ahead of print]
 16. Enomoto S, Watanabe M, Mukoubayashi C, Ohata H, Magari H, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Yanaoka K, Tamai H, Kato J, Oka M, Ichinose M; Gastric Cancer Risk Diagnosis and Prevention in Subjects with *Helicobacter pylori*-related Chronic Gastritis. In "Gastritis and Gastric Cancer" (P. Tonio, ed.), p.179-196, Intech Open Access Publisher. (2012)
- of mucosal inflammation involving the risk of diffuse-type gastric cancer, DDW2012. 2012 5, San Diego
2. 吉田岳市、井口幹崇、加藤順: 化生性胃炎における胃癌発生・発癌リスク、予防、分子機構: JDDW 2012.10 神戸

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

学会発表

1. Yoshida T, Kato J, Maekita T, Yamashita Y, Enomoto S, Ushijima T, Ichinose M : DNA methylation in gastric mucosae is associated with the severity

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
菊地正悟	第一章概論・疫学	浅香正博	新しい診断と治療のABC [6]消化性潰瘍 消化器1	最新医学社	東京	2012	26-31.
神谷茂	151章 <i>Helicobacter pylori</i> 感染症	日本語版監修、 福井次矢、 黒川 清	ハリソン内科学 第4版、Vol. 1	メディカル・サイエンス・インターナショナル	東京	2013	1097-1101
奥田真珠美	ヘリコバクター・ピロリ	日本小児感染症学会 (編)	小児感染症マニユアル	東京医学社	東京	2012	180-188
Enomoto S, Watanabe M, Mukoubayashi C, Ohata H, Magari H, Inoue I, Maekita T, Iguchi M, Yanaoka K, Tamai H, Kato J, Oka M, Ichinose M	Gastric Cancer Risk Diagnosis and Prevention in Subjects with <i>Helicobacter pylori</i> -related Chronic Gastritis.	P.Tonio, ed.	Gastritis and Gastric Cancer	Intech Open Access Publisher	NY	2012	179-196

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kato M, Asaka M	Recent Development of Gastric Cancer Prevention	Jpn J Clin Oncol	42	987-94	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kato M, Terao S, Adachi K, Nakajima S, Ando T, Yoshida N, Ueda N, Murakami K, Ohara S, Ito M, Uemura N, Shimbo T, Watanabe H, Kato T, Ida K.	Changes in Endoscopic Findings of Gastritis after Cure of <i>H. pylori</i> Infection: Multicenter Prospective Trial.	Dig Endosc:	25	264-273	2013
Saito N, Ooi HK, Konishi K, Shoji E, Kato M, Asaka M	Coccoid <i>Helicobacter pylori</i> Can Directly Adhere and Invade in Agminated Formation to Human Gastric Epithelial Cells.	Advances in Microbiology	2	112-116	2012
Ono S, Kato M, Suzuki M, Ishigaki S, Takahashi M, Haneda M, Mabe K, Shimizu Y.	Frequency of <i>Helicobacter pylori</i> - Negative Gastric Cancer and Gastric Mucosal Atrophy in a Japanese Endoscopic Submucosal Dissection Series including Histological, Endoscopic and Serological Atrophy.	Digestion.	86	59-65	2012
Haneda M, Kato M, Ishigaki S, Suzuki M, Takahashi M, Nakagawa M, Ono S, Mori Y, Mabe K, Kudo T, Nakagawa S, Shimizu Y, Asaka M.	Identification of a high risk gastric cancer group using serum pepsinogen after successful eradication of <i>Helicobacter pylori</i> .	J Gastroenterol Hepatol.	28	78-83	2013
Murakami K, Furuta T, Ando T, Nakajima T, Inui Y, Oshima T, Tomita T, Mabe K, Sasaki M, Suganuma T, Nomura H, Satoh K, Hori S, Inoue S, Tomokane T, Kudo M, Inaba T, Take S, Ohkusa T, Yamamoto S, Mizuno S, Kamoshida T, Amagai K, Iwamoto J, Miwa J, Kodama M, Okimoto T, Kato M, Asaka M	Multi-center randomized controlled study to establish the standard third-line regimen for <i>Helicobacter pylori</i> eradication in Japan.	J Gastroenterol.	Epub ahead of print		2013