



学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ①・論	第 号	氏 名	井上 邦光
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	山岡吉生	
	副査氏名	杉上和成	印
	副査氏名	守山正胤	
論文題目 Evaluation of a New Tumor Necrosis Factor- α -Inducing Membrane Protein of <i>Helicobacter pylori</i> as a Prophylactic Vaccine Antigen (ヘリコバクター・ピロリの新規膜蛋白である TNF- α 誘導蛋白の予防的ワクチン抗原としての評価)			
論文掲載雑誌 Helicobacter			
<p><i>Helicobacter pylori</i> 感染は、消化性潰瘍や胃癌の原因と考えられており、除菌治療が有用なことは明らかである。さらに、以前より、予防的ワクチンの開発も精力的に行われているが、今だ確立したものは存在していない。今回、井上らは、2005 年に共同著者である菅沼らによって報告された <i>H. pylori</i> の Tip-α が予防的ワクチンとして用いることができないかを検討した。Tip-α は、<i>H. pylori</i> の外膜および分泌蛋白として胃の上皮細胞に働き、TNF-α を誘導する蛋白であり、分子量 19kDa の 2 量体を形成している。In vitro の実験では、胃粘膜細胞において NF-κB を活性化させ、TNF-α を誘導することがわかっている。一方、アミノ酸末端のシステイン残基を欠損させた単量体の del-Tip-α は、TNF-α の誘導能を持たない。</p> <p>動物には、C57BL/6 マウスに <i>H. pylori</i> シドニー株 (SS1) を感染させるモデルを用いた。ワクチン抗原としてリコンビナントの rTip-α および del-Tip-α を用い、Adjuvant として CpG-ODN を用いた。マウスは 5 群にわけ、Group 1: 1 コントロール、Group 2: 感染コントロール群、Group 3: CpG 免疫群、Group 4: Tip-α + CpG 免疫群、Group 5: del-Tip-α + CpG 免疫群とした。免疫は 1 週間ごとに 4 回行い、最終免疫から 1 週間後に Group 2-5 に <i>H. pylori</i> を感染させた。感染 8 週後にマウスを Sacrifice して、胃粘膜の定着菌量を測定した。胃炎の程度は 7 段階評価し、胃粘膜中のサイトカインを Real-time PCR にて測定、血清中の Tip-α 特異的 IgG, IgA 抗体の測定も行った。</p> <p>Tip-α 免疫、del-Tip-α 免疫群で Tip-α 特異的抗体の有意な上昇を認め、胃粘膜定着菌量は Tip-α 免疫、del-Tip-α 免疫群で、感染コントロール群に比べ、有意な低下を認めた。胃炎の程度は、del-Tip-α 免疫群で感染コントロール群に比べ有意に強く、サイトカイン量は、IL-10 の発現量が、del-Tip-α 免疫群で感染コントロール群に比べ有意に高かった。</p> <p>今までのワクチンに関する報告では、胃粘膜でのサイトカインの上昇を伴った免疫後胃炎が菌の生着や排除にかかわっているとされており、今回も同様な現象が認められた。Tip-α 免疫および del-Tip-α 免疫群を予防的ワクチンとして用いることは、<i>H. pylori</i> 感染に対して有効であった。</p> <p>今回用いられた Tip-α 免疫は、予防的ワクチンとしてその有用性が期待され、将来性もあると考えられた。完全に菌を排除することはできず、今後のさらなる研究は必要であるが、今回の研究には様々な応用性もあると考える。以上より、審査員の合議により、本論文は学位 (博士) に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 井上 邦光

論 文 題 目

Evaluation of a New Tumor Necrosis Factor- α -Inducing Membrane Protein of *Helicobacter pylori*
as a Prophylactic Vaccine Antigen

(ヘリコバクター・ピロリの新規膜蛋白である TNF- α 誘導蛋白の予防的ワクチン抗原としての評価)

要 旨

「背景」

2005年菅沼らによって *H. pylori* の外膜および分泌蛋白として胃の上皮細胞に働き TNF- α を誘導する物質があることが新規に報告され、TNF- α inducing protein Tip α と名づけられた。Tip α は分子量 19kDa で、二量体を形成しており、*in vitro* の実験で胃粘膜細胞において NF- κ B を活性化させ TNF- α を誘導している。一方アミノ末端のシステイン残基を欠失させた単量体の del-Tip α は TNF- α の誘導能を持たない。Tip α は胃炎、さらに発癌のプロモーターとして作用していると推察されているが、*in vivo* においてどのような作用を持っているか不明な点が多い。今回われわれは *H. pylori* 感染に対して Tip α がワクチン抗原として感染予防効果を有するかについて検討し、その際作動する免疫応答について解析を行った。

「方法」

動物には C57BL/6 マウスに *H. pylori* シドニー株 (SS1) を感染させるモデルマウスを用いた。ワクチン抗原としてリコンビナントの rTip α (20 μ g) および rdel-Tip α (20 μ g) を用いた。免疫はすべて経鼻で行い、アジュバントとして CpG-ODN を用いた。マウスを 5 群に分け、Group1 : コントロール群、Group2 : 感染コントロール群、Group3 : CpG 免疫群、Group4 : Tip α + CpG 免疫群、Group5 : del-Tip α + CpG 免疫群とした。免疫は一週間おきに 4 回行い、最終免疫から一週間後に Group2-5 に *H. pylori* (5x10⁷ CFU) を感染させた。感染 8 週後にマウスを犠死させ、胃粘膜を分離し、胃粘膜の定着菌量を測定した。また胃炎の程度を Updated Sydney System に基づいて 7 段階評価し、胃粘膜中のサイトカイン (IL-10, TNF- α , IFN- γ) を Real time PCR にて測定を行った。血清中の Tip α 特異的 IgG, IgA 抗体の測定を行った。

「結果」

Tip α 免疫および del-Tip α 免疫群で Tip α 特異的抗体の有意な上昇を認めた。胃粘膜の定着菌量は Tip α 免疫群で 4.29x10⁶ CFU/g および del-Tip α 免疫群で 2.5x10⁶ CFU/g であり、感染コントロール群 5.7x10⁶ CFU/g と比較して有意な低下を認めた (p<0.005)。胃炎の程度は del-Tip α 免疫群が感染コントロール群と比較して有意に炎症が強く (p<0.05)、胃粘膜中のサイトカインに関しては del-Tip α 免疫群で IFN- γ と IL-10 の産生が感染コントロール群に比して有意に上昇を認めた (p<0.05)。

「考察」

これまでの *H. pylori* 感染に対するワクチンに関する報告では、胃粘膜でのサイトカインの上昇を伴った免疫後胃炎が菌の生着や排除にかかわっているとされている。今回の検討でも Tip α および del-Tip α の免疫によって、胃粘膜に炎症性サイトカインが誘導され、胃炎が惹起されたことが菌の減少に関与していると考えられた。

「結論」

Tip α および del-Tip α を予防的にワクチンとして用いることは、*H. pylori* 感染に対して有効であった。今回のワクチン投与による *H. pylori* の感染予防効果は主として Th1-dominant な免疫応答と密接に関連していた。