

学位論文内容の要旨

| 論文提出者氏名 | 論文審査担当者 |
|--|---|
| 岩倉 研二 | 主査 教授 勝 健 一 主査 教授 佐野 浩 一 副査 教授 花房 俊 昭 副査 教授 谷川 允 彦 副査 教授 芝山 雄 老 |
| 主論文題名 Unique enhancement of multinuclear giant cell formation in AGS cell line infected with <i>Helicobacter pylori</i> (<i>Helicobacter pylori</i> が AGS 細胞におこす新たな細胞変性効果) | |
| 学位論文内容の要旨 | |
| <p>(目的)</p> <p><i>Helicobacter pylori</i> (<i>H. pylori</i>) は感染胃粘膜疾患の原因菌のひとつである。また、近年胃癌の原因のひとつであるとも考えられている。本菌の病原因子による胃粘膜細胞障害のメカニズムを解明するために、培養細胞に本菌を接種し、その細胞変性を明らかにする方法がある。<i>H. pylori</i> の病原因子 CagA が胃粘膜上皮細胞である AGS 細胞に hummingbird cell (HBC) を形成することや、VacA が培養細胞に空胞化を来たすことはすでに知られている。本菌には CagA や VacA 以外にも複数の病原因子があり、それらによる形態変化が存在する可能性がある。他の病原因子による新たな形態変化を見出すことができれば同菌による胃粘膜細胞障害のメカニズム解明の一助になる。そこで本研究では、<i>H. pylori</i> が AGS 細胞におこす HBC 以外の形態変化を見つけ出し、その関連因子を明らかにすることを目的とした。</p> <p>(方法)</p> <p>被験菌として <i>H. pylori</i> ATCC43504 株 (wild-type) および臨床分離株 20 株を用いた。酸性 (pH5) および中性 (pH7) 処理した被験菌を各々 AGS 細胞に接種し、経時的に細胞をギムザ染色して観察した。CagA 産生量の測定は自家製 Enzyme immunoassay (EIA) 法にて行った。<i>H. pylori</i> LPS (lipopolysaccharide) は、hot phenol-water 法にて抽出し、Limulus 反応を利用した endotoxin test kit を用いて定量した。</p> <p>(結果)</p> <p><i>H. pylori</i> を AGS 細胞に接種後、HBC の細胞数増加に加え、multinuclear giant cell (MNGC) の数が増加しており、未接種の AGS 細胞と比較して、その増加は統計学的に有意であった。異なる接触時間や接種菌数における HBC と MNGC の出現率の間には統計学的に強い相関がみられ、MNGC の出現には HBC と同様に CagA が関与している可能性が示唆された。そこで、MNGC の出現率の増加現象において、CagA による HBC 誘発時に認められる priming acceleration を伴うか否かを明らかにするため、酸性および中性で処理した <i>H. pylori</i> を AGS 細胞に接種した。その結果、MNGC の形成には priming acceleration は認められず、CagA が MNGC の形成に関与している可能性は低いことが明らかと</p> | |

なった。更に、CagA 産生量の異なる臨床株を用いて、MNGC と HBC の形成率を比較し、CagA 産生量の多少にかかわらず、MNGC の出現率には有意な変化がないため、CagA は MNGC の形成に関与しないことが明らかとなった。MNGC の出現率を増加させる因子を明らかにするため、熱処理および非処理の *H. pylori* をそれぞれ AGS 細胞に接種して比較したところ、MNGC の出現率には有意差がみられなかった。更に、熱処理した *H. pylori* の破砕上清が MNGC の出現率を増加させることから、この因子は水溶性・耐熱因子であることが明らかになった。そこで、*H. pylori* の病原因子の中で水溶性・耐熱因子である LPS がこの現象に関与していると推測し、LPS を抽出し AGS 細胞に接種した。接種した LPS 量及び LPS 接種後の時間と MNGC の出現率との間には濃度依存性と時間依存性がみられ、MNGC を増加させる因子は *H. pylori* LPS であることを示唆する結果を得た。

(考察)

申請者は、*H. pylori* CagA が細胞変性効果 (HBC) を起こす AGS 細胞において、新たな細胞変性効果 (MNGC) を発見し、この現象は *H. pylori* CagA によるものではなく *H. pylori* LPS によって起こることを示した。この MNGC は *H. pylori* 非感染 AGS 細胞にも少量存在したことから、*H. pylori* 感染した他の細胞系では MNGC 形成が認められなかったことから、MNGC の形成には *H. pylori* LPS だけではなく、AGS 細胞側にも MNGC を形成する因子が存在すると考えた。*H. pylori* LPS は胃粘膜調節機能を障害し、炎症性サイトカイン等の様々な因子を産生・放出させることにより胃粘膜の炎症を引き起こすことが知られており、また、アポトーシスの誘導、endothelin-1 の増加などにより発癌にも関与すると推測されている。今回の研究で申請者は *H. pylori* LPS による MNGC の増加の機序までは解明できなかったものの、*H. pylori* LPS が MNGC を増加させることを明らかにし、*H. pylori* LPS による細胞変性効果が胃粘膜細胞傷害のメカニズムを解明する手法のひとつになるものとした。

審査結果の要旨および担当者

| | | | |
|---|-------|--|-------|
| 報告番号 | 乙 第 号 | 氏 名 | 岩倉 研二 |
| 論文審査担当者 | | 主 査 教授 勝 健 一 主 査 教授 佐 野 浩 一 副 査 教授 花 房 俊 昭 副 査 教授 谷 川 允 彦 副 査 教授 芝 山 雄 老 | |
| 主論文題名 Unique enhancement of multinuclear giant cell formation in AGS cell line infected with <i>Helicobacter pylori</i> (<i>Helicobacter pylori</i> が AGS 細胞におこす新たな細胞変性効果) | | | |
| 論文審査結果の要旨 | | | |
| <p><i>Helicobacter pylori</i> (<i>H. pylori</i>) による胃粘膜細胞障害のメカニズムを明らかにする方法として、すでに <i>H. pylori</i> の病原因子である CagA が胃粘膜上皮細胞である AGS 細胞に hummingbird cell (HBC) を形成することや、VacA が培養細胞に空胞化を来すことを利用し研究が行われている。申請者は、新たな細胞変性の発見とその関連因子の同定を目的とし、<i>H. pylori</i> を接種した AGS 細胞における HBC 以外の細胞変性を見出し、HBC との相違を priming acceleration の有無や CagA 産生量との相関について検討し、新たな細胞変性の増強因子を決定した。</p> <p>すなわち、<i>H. pylori</i> 接種によって AGS 細胞に multinuclear giant cell (MNGC) が増加することを明らかにした。CagA が HBC を誘発する際に観察される priming acceleration が MNGC の形成にはみられず、また、CagA 産生量の低い臨床菌株でも MNGC の出現率が増加することから CagA が MNGC の形成に関与しないことを明らかにした。更に申請者は、MNGC の増加因子が <i>H. pylori</i> の水溶性・耐熱因子であることを明らかにし、またこの因子が LPS (lipopolysaccharide) であると推測した。<i>H. pylori</i> より抽出精製した LPS を AGS 細胞に接種し、MNGC の出現率が濃度依存性と時間依存性であることを示し、MNGC 増加因子は <i>H. pylori</i> LPS であると考えた。</p> <p>現在、<i>H. pylori</i> 感染が消化性潰瘍、胃炎、MALTリンパ腫、胃癌等の発病因子とされているが、その機序については未だ解明されていない点が多く、<i>H. pylori</i> LPS による慢性的な障害が一因である可能性も示唆されている。本研究において、申請者によって見いだされた <i>H. pylori</i> LPS による MNGC の増加効果は、未解決の部分が多い <i>H. pylori</i> LPS による胃粘膜細胞障害のメカニズムの解明に新たな方法を提供するもので、同菌の発病機序の解析に貢献するところが大きいものと考えられる。</p> <p>以上により、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Bulletin of the Osaka Medical College 53(1): 1-9, 2007</p> | | | |