

平成 30 年 6 月 9 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09699

研究課題名(和文) 粘膜免疫機構の発達と小児消化器疾患の病態に関する検討

研究課題名(英文) Investigation of mucosal immune system in relation to pediatric onset gastrointestinal diseases.

研究代表者

大塚 宜一 (Ohtsuka, Yoshikazu)

順天堂大学・医学部・客員准教授

研究者番号：90338335

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：H.pyloriに感染した小児と成人の胃粘膜に発現する免疫・癌関連分子を、microarrayなどを用いて網羅的に比較検討した。対象は各種消化器症状に対して消化管内視鏡検査を施行した患者とし、H.pylori感染小児群、非感染小児群、感染成人群、非感染成人群の各々6症例、合計24症例の胃粘膜(前庭部・胃体部)を検討した。その結果、成人感染群でより強い発現のもの(OLFM4)、成人・小児感染群で同等に発現するもの(PIM2, REG3A, LCN2, CXCL13)が確認された。発癌の機序として、H.pylori感染に伴う小児期からの癌関連分子の発現の亢進及び慢性炎症性変化の関与が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate gene expression in the H. pylori-infected gastric mucosa of children using microarray and other analyses. Gastric mucosal samples were obtained from antrum and corpus from 24 patients (12 adults and 12 children) who had undergone endoscopic evaluation of chronic abdominal complaints and were examined. Six adult and pediatric patients with and six without (total, 24) H. pylori infection were enrolled. The expression of inflammatory molecules was up-regulated in the H. pylori-infected gastric mucosa from both adults and children. The expression of OLFM4 was only up-regulated in adult patients, while that of PIM2, REG3A, LCN2 and CXCL 13 was equally up-regulated in the infected gastric mucosa of both. Because several carcinogenic molecules are up-regulated in H.pylori-infected gastric mucosa even in childhood, early eradication therapy from childhood may be beneficial to decrease the incidence of gastric cancer.

研究分野：小児消化器病学

キーワード：食物アレルギー 炎症性腸疾患 ピロリ菌感染胃炎 CXCL13 癌遺伝子

1. 研究開始当初の背景

消化管の粘膜免疫機構は、消化機能、粘膜上皮細胞(バリアー機能)、免疫機能が3本の柱となって営まれている。消化機能が未熟であれば抗原性のある蛋白質やペプチドをアミノ酸まで消化できず、免疫反応が誘導される。一方、十分消化されなかったペプチドは粘膜上皮細胞が有するバリアー機能により管腔内に排除される。それでも体内に侵入してしまったペプチドに対しては、免疫寛容が誘導され生体の恒常性を維持している。一方、遺伝的素因や腸内細菌叢がその営みを修飾し、より寛容を誘導しやすい環境を提供する場合もあれば、リンパ濾胞過形成、消化管アレルギー、新生児壊死性腸炎、炎症性腸疾患、*H.pylori* 感染性胃炎などの発症に關与している可能性も示唆される。特に、新生児や乳児は、消化機能およびバリアー機能が未熟であり、ウイルス性腸炎に罹患することも多い。その結果、十分に消化されていない抗原となりうるペプチドが、粘膜内へ侵入し、抗原提示の増強、免疫細胞の活性化などを介し寛容が破綻しアレルギーや炎症反応などの過剰な免疫応答が誘導されやすい状態であると考えられる。

我々の今日までの検討では、新生児期から小児期において消化管粘膜においてCXCL13の発現亢進を確認し、その病態への関与を示唆している。CXCL13は、B細胞を誘導するリンパ濾胞形成因子であり、特に食物に対するIgA産生や寛容の誘導に深く関わっている。その発現亢進は、新生児期から小児期にかけ欠かせない生理的な免疫応答であると考えられる一方、小児期の炎症性腸疾患においては、その炎症反応の増悪などに深く関わっていることが示唆される。

2. 研究の目的

新生児から乳児期および学童期に認められるリンパ濾胞過形成、新生児・乳児消化管アレルギー、食物過敏性腸症、潰瘍性大腸炎、クローン病、*H.pylori* 感染性胃炎などの小児消化器疾患および正常対照群を対象とし、各種シグナル分子の発現をMicroarray法、real-time RT-PCR法、免疫組織染色法などにて比較検討し、それぞれの疾患の病態を解明するとともに、小児消化器病の特性について検討した。

3. 研究の方法

今回は、前述の疾患の内、特に*H.pylori* 感染性胃炎および正常対照群を対象とし、

(1) 患児およびその両親に対しインフォームドコンセントを行い、研究への協力を要請する。

(2) 免疫・分子生物学的解析

消化管の粘膜検体を生検し、採取された消化管粘膜をRNAlater (Applied Biosystems) に入れ-30度で保存する。

組織標本からmRNAを抽出し、cDNAを

作成した後、Microarray法を用い、炎症性・抗炎症性シグナル分子の発現を多角的に捉える。

Real time RT-PCR法を用い、Microarray法により強く関与が示唆された分子の発現を定量的に確認する。

(3) 組織学的検討

組織標本はホルマリン固定後、HE染色を行い病理学的解析を行う。

一部はOCTコンパウンドに包埋後、凍結保存し免疫組織染色を行う。特に、Microarray法により強く関与が示唆された分子の発現を免疫組織染色法にて検証する。

4. 研究成果

(1) *H.pylori* 感染胃粘膜における免疫関連分子について(成人と小児での比較検討)

目的：*H.pylori* 感染が確認された小児群と成人群、感染のない小児群と成人群の胃粘膜を用意し、免疫関連分子の発現についてMicroarrayを用いて網羅的に比較検討することで小児期にみられる免疫反応の特殊性を評価する。

方法：全ての粘膜生検は、上腹部痛、嘔吐などの消化器症状に対して上部内視鏡検査を用いて精査する際に本人もしくは養親の同意を取得の上で施行した。また研究参加に関する許可は事前に病院倫理委員会より得た。

胃粘膜検体は胃前庭部および胃体部から採取した。また胃前庭部および胃体部から*H.pylori* 培養検査、組織学的検査を行うため、2検体ずつを生検した。

対象は腹痛、悪心、嘔吐などの消化器症状に対して、当院消化器内科・小児科で上部消化管内視鏡検査および胃粘膜組織生検を施行した患者24例である(表1)。

Group	Number of patients	Male / Female	Age ^a (year)
成人	12	8 / 4	Age range: 40-58 Mean age: 44.2 ± 5.1
<i>H. pylori</i> (+)	6	4 / 2	Age range: 37-58 Mean age: 44.5 ± 6.9
<i>H. pylori</i> (-)	6	4 / 2	Age range: 40-46 Mean age: 44.0 ± 2.5
小児	12	6 / 6	Age range: 4.9-15.6 Mean age: 12.1 ± 2.7
<i>H. pylori</i> (+)	6	2 / 4	Age range: 10.7-14.4 Mean age: 13.0 ± 1.5
<i>H. pylori</i> (-)	6	4 / 2	Age range: 4.9-15.6 Mean age: 10.6 ± 3.3

表1. 患者背景. 2009年3月から2013年10月までの期間に当院消化器内科および小児科で*H.pylori* 感染症の有無を調べた24例。

成人群では*H.pylori* 感染群6例、非感染群6例で、年齢はAge range: 40-58 (Mean age: 44.2 ± 5.1) 小児群では*H.pylori* 感染群6例、非感染群6例で、年齢はAge range: 4.9-15.6 (Mean age: 12.1 ± 2.7) であった。

Group	No.	年齢	性別	¹³ C-UBT	Hp培養	病理学的所見	内視鏡的検査所見
<i>H. pylori</i> (+)	1	58	Female	(+)	(+)	Severe chronic active gastritis	逆流性食道炎
	2	48	Male	(+)	(+)	Moderate chronic active gastritis	逆流性食道炎 慢性胃炎
	3	40	Male	(+)	(+)	Severe chronic active gastritis	逆流性食道炎 胃潰瘍癒後
	4	37	Male	(+)	(+)	Moderate chronic active gastritis	逆流性食道炎
	5	43	Male	(+)	(+)	Moderate chronic active gastritis	萎縮性胃炎 食道裂孔ヘルニア 萎縮性胃炎、胃酸過多 十二指腸潰瘍癒後
	6	41	Female	(+)	(+)	Moderate chronic active gastritis	十二指腸ポリープ
<i>H. pylori</i> (-)	1	46	Male	(-)	(-)	Mild chronic active gastritis	十二指腸ポリープ
	2	45	Male	(-)	(-)	No findings	逆流性食道炎 びらん性胃炎 食道裂孔ヘルニア
	3	41	Female	(-)	(-)	Mild chronic active gastritis	びらん性胃炎 萎縮性胃炎
	4	46	Female	(-)	(-)	No findings	胃酸過多 萎縮性胃炎
	5	46	Male	(-)	(-)	No findings	食道裂孔ヘルニア 胃酸過多 十二指腸潰瘍癒後
	6	40	Male	(-)	(-)	No findings	逆流性食道炎、 食道裂孔ヘルニア、萎縮性胃炎

表 2. 患者背景 (成人)

Group	No.	年齢	性別	血清抗 <i>H. pylori</i> 抗体	¹³ C-UBT	便中 <i>Hp</i> 抗原	Hp 培養	組織学的検査	病理学的所見	内視鏡的検査所見
<i>H. pylori</i> (+)	1	14y4m	Female	(+)	(+)	N.D.	(+)	(+)	Moderate chronic active gastritis	結節性胃炎
	2	14y2m	Female	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	Severe chronic active gastritis	結節性胃炎 十二指腸炎
	3	14y2m	Male	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	Moderate chronic active gastritis	結節性胃炎
	4	12y1m	Female	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	Mild chronic active gastritis	結節性胃炎
	5	14y4m	Female	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	Mild chronic active gastritis	結節性胃炎
<i>H. pylori</i> (-)	1	11y6m	Female	(-)	N.D.	N.D.	(-)	(-)	No findings	No lesion
	2	15y6m	Male	N.D.	N.D.	(-)	(-)	(-)	No findings	No lesion
	3	11y2m	Female	(-)	N.D.	N.D.	(-)	(-)	No findings	逆流性食道炎
	4	10y1m	Male	(-)	N.D.	N.D.	(-)	(-)	No findings	No lesion
	5	4y9m	Male	(-)	N.D.	(-)	(-)	(-)	No findings	No lesion
	6	12y1m	Male	(-)	N.D.	(-)	(-)	(-)	No findings	No lesion
	7	12y1m	Male	(-)	N.D.	(-)	(-)	(-)	No findings	No lesion

表 3. 患者背景 (小児)

H. pylori 感染群 (成人 6 例、小児 6 例)

血清抗 *H. pylori* 抗体価試験、¹³C-尿素呼吸試験 (UBT)、便中 *H. pylori* 抗原試験のうち 1 種類以上が陽性、かつ、*H. pylori* 培養が陽性。この条件を満たす場合に、*H. pylori* 感染群とした。

H. pylori 非感染群 (成人 6 例、小児 6 例)

成人：UBT および *H. pylori* 培養が陰性。
小児：血清抗 *H. pylori* 抗体価試験または便中 *H. pylori* 抗原試験が陰性かつ組織学的検査が陰性。この条件を満たす場合に、*H. pylori* 非感染群とした。

なお、過去に *H. pylori* 感染症の治療歴を有するもの、悪性疾患、炎症性腸疾患、重度の肝疾患、心疾患、腎疾患、血液疾患、全身性疾患を有するものは対象から除外した。また、組織学的に中等度以上の胃炎を呈する場合には非感染群の対象とはしなかった。胃炎の重症度は updated Sydney system を用いて判定し、score 2 を中等度以上とした。

これらの基準に従い、成人及び小児の *H. pylori* 感染群 6 名、健常群 6 名ずつに対して microarray を用いた解析を行った。microarray によって発現の増減に傾向が示された分子に関しては、その後各群で RT-PCR による解析を加えた。患者背景を表 2, 3 に示す。

結果：Microarray による解析

成人および小児の感染群と非感染群の胃前庭部および胃体部の遺伝子発現について microarray を用いて比較検討した。

成人において、同部位検体を感染の有無で比較し、fold change > 5、p 値 < 0.01 の条件下で増減が確認された遺伝子は表 4, 5 の通りとなった。

小児においては fold change > 3、p 値 < 0.01 の条件下で、遺伝子の発現を比較した結果は表 6, 7 の通りとなった。

また、まとめとして表 8 に両群の胃前庭部および胃体部の遺伝子発現を比較した。

感染の有無によって、成人の胃前庭部では 22 分子 (表 4) に、成人の胃体部では 11 分子 (表 5) に、発現の増減が認められた (fold change > 5、p 値 < 0.05)。小児の胃前庭部では 57 分子 (表 6) に、小児の胃体部では 59 分子 (表 7) に発現の増減が認められた (fold change > 3、p 値 < 0.01)。

Gene symbol	Gene description	Fold change
REG3A	Regenerating islet-derived 3 alpha	27.58782
OLFM4	Olfactomedin 4	26.76457
CD79A	CD79a molecule, immunoglobulin-associated alpha	12.74575
MS4A1	Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1	11.85287
LCN2	Lipocalin 2	9.193087
IgLTV7-46	Immunoglobulin lambda variable 7-46 (gene/pseudogene)	9.143877
LTF	Lactotransferrin	7.29566
SERPINA3	Serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antipeptinase, antitrypsin), member 3	7.24859
CXCL13	Chemokine (C-X-C motif) ligand 13	6.497946
C3	Complement component 3	6.427261
MMP12	Matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	6.143543
SLC6A14	Solute carrier family 6 (amino acid transporter), member 14	6.134971
SLAMF7	SLAM family member 7	5.452487
PIM2	Pim-2 oncogene	5.325736
CC120	Chemokine (C-C motif) ligand 20	5.291274
ADAMDEC1	ADAM-like, decysin 1	5.283501

表 4. Microarray (成人, 胃前庭部)

Fold change > 5.0, p < 0.05

Gene symbol	Gene description	Fold change
LCN2	Lipocalin 2	11.732614
REG3A	Regenerating islet-derived 3 alpha	10.050514
IgLTV7-46	Immunoglobulin lambda variable 7-46 (gene/pseudogene)	9.707812
C6orf58	Chromosome 6 open reading frame 58	8.991477
CD79A	CD79a molecule, immunoglobulin-associated alpha	8.138612
PIGR	Polymeric immunoglobulin receptor	6.0731664
KRT20	Keratin 20	5.749275
KYNU	Kynureninase (L-kynurenine hydrolase)	5.7143874
IgLTV6-57	Immunoglobulin lambda variable 6-57	5.463198

表 5. Microarray (成人, 胃体部)

Fold change > 5.0, p < 0.05

Gene symbol	Gene description	Fold change
MS4A1	Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1	16.164877
LCN2	Lipocalin 2	10.438714
SERPINA3	Serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antipeptinase, antitrypsin), member 3	9.15701
C3	Complement component 3	8.978772
CC118	Chemokine (C-C motif) ligand 18 (pulmonary and activation-regulated)	8.260766
CD79A	CD79a molecule, immunoglobulin-associated alpha	8.185633
MMP12	Matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	6.957664
LTF	Lactotransferrin	5.998344
CXCL13	Chemokine (C-X-C motif) ligand 13	5.6768055
MUC4	Mucin 4, cell surface associated	5.590358
SLC6A14	Solute carrier family 6 (amino acid transporter), member 14	5.4997983
CC120	Chemokine (C-C motif) ligand 20	5.33443
ADAMDEC1	ADAM-like, decysin 1	5.3015494
MMP7	Matrix metalloproteinase 7 (matrilysin, uterine)	4.5940804
PIM2	Pim-2 oncogene	4.1142826

表 6. Microarray (小児, 胃前庭部)

Fold change > 4.0, p < 0.05

Gene symbol	Genedescription	Fold change
LCN2	Lipocalin 2	11.276529
REG3A	Regenerating islet-derived 3 alpha	10.137276
C6orf58	Chromosome 6 open reading frame 58	6.8478856
PIGR	Polymeric immunoglobulin receptor	6.664708
DUOX2	Dual oxidase 2	6.419147
CD79A	CD79a molecule, immunoglobulin-associated alpha	5.8288584
IGLV7-46	Immunoglobulin lambda variable 7-46 (gene/pseudogene)	5.693495
KRT20	Keratin 20	5.618007
FCGBP	Fc fragment of IgG binding protein	4.914343
MS4A1	Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1	4.771285
GABRP	Gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, pi	4.1858683
HLA-DRB3	Major histocompatibility complex, class II, DR beta 3	4.16585

表 7. Microarray (小児, 胃体部)
Fold change > 4.0, p < 0.05

<成人 前庭部>		<成人 胃体部>		<小児 前庭部>		<小児 胃体部>	
Gene symbol	Fold change	Gene symbol	Fold change	Gene symbol	Fold change	Gene symbol	Fold change
REG3A	27.58782	LCN2	11.732614	MS4A1	16.16488	LCN2	11.27653
OLFM4	26.76457	REG3A	10.050514	LCN2	10.43871	REG3A	10.13728
LCN2	9.193067	IGLV7-46	9.707812	CCL18	8.26076	DUOX2	6.419147
IGKC	7.084065	C6orf58	8.991477	MMP12	6.95766	CD79A	5.8288584
CXCL13	6.497946	CD79A	8.138612	CXCL13	5.67680	IGLV7-46	5.693495
MMP11	6.143543	PIGR	6.0731664	MUC4	5.59035	KRT20	5.618007
IGLV6-57	5.87837	KRT20	5.749275	SLC6A14	5.49979	FCGBP	4.914343
PIM2	5.325736	KYNU	5.7143874	CCL20	5.33443	MS4A1	4.77128
CCL20	5.291274			ADAMDEC1	5.30154	GABRP	4.1858683
				PIM2	4.11428		

表 8. Microarray まとめ

Real-time PCR

Microarray で発現の強かった炎症や感染、癌、鉄吸収との関係が示唆されている olfactomedin 4 (OLFM4) lipocalin 2 (Lcn2), regenerating islet-derived 3 alpha (REG3A) Pim-2 oncogene (PIM2) C-X-C motif chemokine ligand (CXCL) 13 の 5 分子に関して RT-PCR 法を用いて定量的な解析を追加した。

RT-PCR の結果を図 1 に示す。

OLFM4 感染粘膜における OLFM4 の発現は、成人で有意に亢進していた (p < 0.05)

REG3A 感染粘膜における REG3A の発現は、成人と小児の前庭部で有意に亢進していた (p < 0.05)

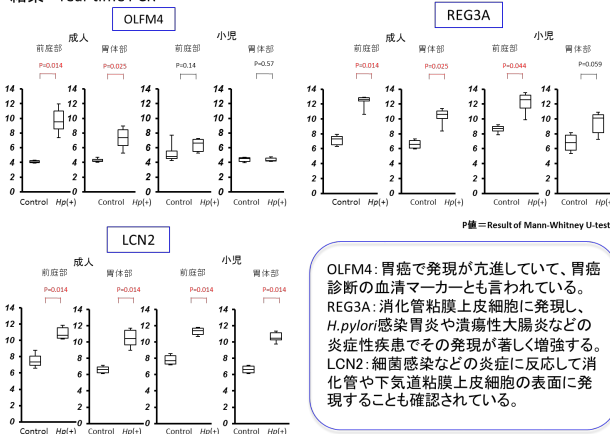
LCN2 感染粘膜における LCN2 の発現は成人と小児において同等に亢進していた (p < 0.05)

PIM2 感染粘膜における PIM2 の発現は成人と小児において同等に亢進していた (p < 0.05)

CXCL13 感染粘膜における CXCL13 の発現は、成人と小児の前庭部で有意に亢進していた (p < 0.05)

考察：小児の *H.pylori* 感染胃粘膜について様々な遺伝子発現を Microarray および real-time PCR を用いた検討は過去に報告されているが、本研究では成人と小児の *H.pylori* 感染胃粘膜で比較検討し、OLFM4、Lcn2、REG3A、PIM2、CXCL13 などの遺伝子に注目した。

結果 real-time PCR



OLFM4: 胃癌で発現が亢進している、胃癌診断の血清マーカーとも言われている。
REG3A: 消化管粘膜上皮細胞に発現し、*H.pylori* 感染胃炎や潰瘍性大腸炎などの炎症性疾患でその発現が著しく増強する。
LCN2: 細菌感染などの炎症に反応して消化管や下気道粘膜上皮細胞の表面に発現することも確認されている。

図 1. real-time PCR 結果
OLFM4、REG3A、LCN2

結果 real-time PCR

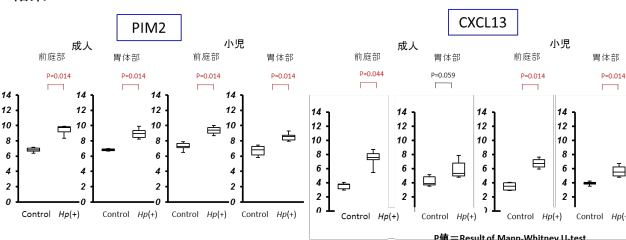


図 1. real-time PCR 結果
PIM2、CXCL13

OLFM4: OLFM4 は胃癌の他、大腸癌、肺癌、乳癌でも発現している遺伝子で、本邦の胃癌患者の約 56% にその発現が確認されている。一方、OLFM4 陽性の方が、陰性者よりも有意に予後が良好であり、予後良好因子であることが示唆されている。

本研究では、OLFM4 は成人感染群でより強く発現していたが、小児での感染群との比較では有意ではなかった。OLFM4 は *H.pylori* に対する自然免疫を抑制する働きも報告されており、小児期における OLFM4 の発現低下は *H.pylori* に対する、自然免疫を高めようとする生体反応である可能性も考えられた。

REG3A: REG 遺伝子はラットの再生腭ランゲルハンス島よりクローニングされ、type I から IV までの遺伝子ファミリーが同定されている。REG ファミリー蛋白は消化管粘膜上皮細胞に発現し、*H.pylori* 胃炎や潰瘍性大腸炎などの炎症性疾患で過剰に発現している。REG ファミリー蛋白は炎症・発癌の過程で増殖因子や抗アポトーシス因子として作用することが示唆される。REG 遺伝子は正常ヒト組織では、脾、胃、小腸、大腸、胆嚢、肝および腎に発現する一方、REG 蛋白は小腸のパネート細胞に発現することが報告されている。また、*H.pylori* 感染胃粘膜においては REG 遺伝子が IL-6 や IFN- γ などのサイトカイン刺激により STAT3 が活性化し、その発現が誘導される。今回の検討では *H.pylori* 感染胃粘膜において、REG 遺伝

子の発現亢進はみられず、REG3A 遺伝子の発現亢進がみられた。成人においても小児においても同等に REG3A の発現が亢進していたが、その抗腫瘍効果などが期待される。

PIM2 : PIM2 も REG 同様、炎症・発癌の過程で増殖因子や抗アポトーシス因子として作用することが示唆される。その発現亢進は大腸癌などでも認められている。今回の検討では、REG3A 同様、*H.pylori* 感染胃粘膜において、その発現亢進を認めており、癌発症に、何らかの形で関わっていることが示唆された。

Lcn2 : Lcn2 は、病原体の鉄吸収を抑制する分子であり、特にマラリア感染において宿主とマラリア原虫の鉄を保持して宿主側に加担し免疫反応を強化する蛋白である。また、細菌感染などの炎症に反応して消化管や下気道粘膜上皮細胞の表面に発現することも確認されている。*H.pylori* 感染性胃粘膜では normal ~ gastritis mucosa で Lcn2 の発現が増加し、腸上皮化生の部位では増加しないことが報告されている。小児においては、*H.pylori* 感染胃粘膜において Lcn2 の発現が亢進していることが確認されている。

今回の検討では、成人および小児において胃粘膜上に Lcn2 が発現していること、そして *H.pylori* 感染によってその発現が増加することが示された。Lcn2 発現亢進は *H.pylori* に特異的なものではなく、感染に伴う粘膜上の炎症を反映して生じるものと考えられるが、本検討における小児期の感染胃粘膜は組織学的に mild-severe chronic active gastritis (updated Sydney System) であり、全例において腸上皮化生は見られなかった。*H.pylori* 感染胃粘膜上で Lcn2 の発現が増加していることから、*H.pylori* の鉄吸収に対して抑制的に働き、感染防御に働いている可能性が示唆された一方、Lcn2 の発現亢進が発癌抑制につながっている可能背が示唆された。

CXCL13 : CXCL13 は、リンパ節や脾臓における濾胞樹状細胞や胚中心樹状細胞より産生される。B 細胞を誘引するほか、活性化 T 細胞 (Th2) も誘引する。成人の *H.pylori* 感染胃炎においては、CXCL13 の発現が亢進しているが、除菌により、その発現が有意に低下することが報告されている。特に小児の消化管粘膜では、管腔内の存在する抗原に対して IgA が産生されるためリンパ濾胞が過形成の状態にあり、結果、CXCL13 の発現は亢進している。CXCL13 の発現亢進は結節性胃炎を誘導しており、長期間の炎症誘導が癌化につながっている可能性も示唆される。

病理組織

小児の *H.pylori* 感染胃粘膜病理組織では、全例で軽度-高度の炎症細胞浸潤を認め、腸上皮化生は認めなかった。また、免疫染色を行ったところ OLFM4、Lcn2、REG3A、PIM2、CXCL13 などの分子の発現亢進を確認できた。

		成人		小児
OLFM4	癌抑制遺伝子	○	>	—
LCN2	発癌遺伝子	○	=	○
PIM2	発癌遺伝子	○	=	○
REG3A	炎症性分子	○	=	○
CXCL13	炎症性分子	○	<	○

表 9. まとめ

結語 : 今回我々は、成人期および小児期の *H.pylori* 感染に伴う胃粘膜上の免疫反応を比較検討するため、胃粘膜組織に発現する免疫・癌関連分子を microarray、real time PCR、免疫組織染色を用いて解析した。その結果、*H.pylori* 感染における発癌の機序として、癌関連分子 (OLFM4、Lcn2) の発現の亢進および慢性炎症性変化 (REG3A、PIM2、CXCL13) の関与が示唆された。いくつかの免疫・癌関連分子の発現は小児期から亢進しており、小児期における除菌療法の必要性が示唆された。最後に、成人期と小児期の胃粘膜組織を用いて行った比較検討は少なく、貴重な検討と考える。

(3) 総括

以前からの検討および本検討から、新生児期から小児期における NTEC、PFIP、UC、CD、*H.pylori* 感染性胃炎などの消化器疾患において、CXCL13 の発現亢進が、その病態に深く関与していることが確認された。CXCL13 は、B 細胞を誘導するリンパ濾胞形成因子であり、特に新生児期からの食物に対する IgA 産生や寛容の誘導に深く関わっている。その発現亢進は、新生児期から小児期にかけ欠かせない生理的な免疫応答であると考えられる。従って、外来抗原に対する IgA 産生のための反応が、小児期の消化器疾患の発生や病態形成、また、重症化に深く関わっていることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 11 件)(すべて査読有)

Ikuse T, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al. Host response genes associated with nodular gastritis in *H. pylori* infection. *Pediatr Int*. 2018 Feb 7. doi: 10.1111/ped.13527. [Epub ahead of print]

Honjo A, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al. Pharmacologic inhibition of Notch signaling suppresses food antigen-induced mucosal mast cell hyperplasia. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Mar;139(3):987-996.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2016.05.046.

Hosoi K, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al. Treatment with infliximab for pediatric Crohn's disease: Nationwide survey of Japan.

J Gastroenterol Hepatol. 2017
Jan;32(1):114-119. doi: 10.1111/jgh.13498.
Uchida K, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al.
Immunosuppressive medication is not
associated with surgical site infection after
surgery for intractable ulcerative colitis in
children. Intractable Rare Dis Res. 2017;
6:106-113. doi:10.5582/irdr.2017.01012
Yamazaki S, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al.
Eosinophilic gastroenteritis in a patient with
Bruton's tyrosine kinase deficiency. *Pediatr
Int.* 2016; 58:417-419.
doi:10.1111/ped.12823.
Fujii T, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al.
Assessment of the Family History of Patients
with Ulcerative Colitis at a Single Center in
Japan. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016
Nov;63(5):512-515.
Obayashi N, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al.
Comparison of Gene Expression Between
Pediatric and Adult Gastric Mucosa with
Helicobacter pylori Infection. *Helicobacter.*
2016;21:114-23. doi: 10.1111/hel.12245.
Ohtsuka Y. Food intolerance and mucosal
inflammation. *Pediatr Int.* 2015; 57:22-9.
2014 Dec 1. doi: 10.1111/ped.12546.
Obayashi N, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al.
Management of tacrolimus-associated food
allergy after liver transplantation. *Pediatr Int.*
2015;57:1205-7. doi: 10.1111/ped.12721.
Jimbo K, Fujii T, Kudo T, Ohtsuka Y,
Shimizu T, et al. Collagenous sprue in a
3-month-old infant. *Pediatr Int.*
2015;57:e18-22. doi: 10.1111/ped.12506.
Jimbo K, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al.
Isolated autoimmune enteropathy associated
with autoantibodies to a novel 28-kDa
duodenal antigen. *J Pediatr Gastroenterol
Nutr.* 2015;60:e17-9. doi:
10.1097/MPG.0b013e3182a936dc.

〔学会発表〕(計8件)

Ohtsuka Y. Microarray analysis of rectal
bleeding in infancy: Is it an allergic disease?
World Congress of Pediatric
Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition,
2016/10/8 Montreal, Canada
大塚宜一, 藤井徹, 工藤孝広, 清水俊明,
他. 新生児・乳児消化管アレルギー 小
児消化器病医とアレルギー病医の接点
第43回 日本小児栄養消化器肝臓学会.
2016.9.18 つくば国際会議場
大塚宜一. 消化管の発達からみた食物ア
レルギー. 第628回 日本小児科学会東京
都地方会講話会. 2016/6/11 東京、飯田橋
レインボービル
大塚宜一. 新生児から乳児期早期の血便
は消化管アレルギーか? 新生児乳児消化
管アレルギーを考える. 第6回 いわて小
児アレルギー疾患研究会. 2016/8/27 ホテ

ルメトロポリタン盛岡
大塚宜一. 小児の下痢・血便・腹痛 食物
アレルギーからIBDまで. 第112回 江戸
川区小児科医会学術講演会. 2015/3/18 東
京
大塚宜一. シンポジウム15 非IgE依存性
消化管アレルギー最新の知見. 新生児・
乳児消化管アレルギーの鑑別疾患. 第64
回日本アレルギー学会学術大会.
2015/5/28 東京、高輪プリンスホテル
大塚宜一. 消化と消化管アレルギー. 第
52回 台東区小児科医会. 2015/6/19 東京、
上野精養軒
大塚宜一. 好酸球性胃腸疾患と消化管ア
レルギーとの関係について. 第52回日本
小児アレルギー学会. シンポジウム.
2015/10/28 奈良

〔図書〕(計7件)

大塚宜一. これってアレルギー? 4. 下
痢・嘔吐・腹痛 チャイルドヘルス.
21;20-24,2018
大塚宜一. 子どもの消化管と食物アレル
ギー. 教育と医学. 764;175-183,2017
大塚宜一. 私の治療・消化管アレルギー.
アレルギーの臨床. 37;147-148,2017
大塚宜一. アレルギー・喘息と腸内細菌.
腸内細菌叢からみた臨床の最前線. 診断
と治療 104; 181-186, 2016
大塚宜一. 新生児・乳児消化管アレルギ
ーの鑑別疾患. 非IgE依存性消化管食物
アレルギー. 臨床免疫・アレルギー科. 65;
151-156, 2016
大塚宜一. 消化管アレルギーとは. 小児内
科. 48; 1248-1252, 2016
大塚宜一. アレルギーに関する画像とそ
の解説 食物アレルギーにみられる消化
器症状、画像診断、内視鏡・病理所見. ア
レルギー・免疫 19:498 (460-4), 2012

〔その他〕ホームページ

<http://www.juntendo.ac.jp/graduate/kenkyudb/search/researcher.php?MID=1777>

6. 研究組織

- (1)研究代表者
大塚 宜一 (OHTSUKA, Yoshikazu)
順天堂大学・医学部・客員准教授
研究者番号: 90338335
- (2)研究分担者
清水 俊明 (SHIMIZU, Toshiaki)
順天堂大学・医学部・教授
研究者番号: 30260889
工藤 孝公 (KUDO, Takahiro)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号: 90365601
藤井 徹 (Fujii, Tohru)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号: 30420855