

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790364

研究課題名(和文) ヘリコバクターピロリ感染時の肥満細胞による
B細胞及び血小板制御機構の解明研究課題名(英文) Immune regulation of B cells and platelets by mast cells
on *Helicobacter pylori* infection

研究代表者

永井 重徳 (NAGAI SHIGENORI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：50348801

研究成果の概要：

ヘリコバクターピロリ(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)を、肥満細胞欠損マウスに感染させると、コントロール群に比べ抗体産生細胞である形質細胞が胃粘膜固有層に多く浸潤し、血清中に抗原特異的 Ig 産生が多く検出された。また、肥満細胞欠損により脾臓内巨核球の数が増加していることが確認された。すなわち *H. pylori* 感染時に、肥満細胞が全身性に免疫系を制御することが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	0	1,700,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：細胞、感染免疫

1. 研究開始当初の背景

肥満細胞は、寄生虫感染においてその排除に働く重要な細胞であるが、その一方でヒスタミンなどを放出するため、アレルギー反応を引き起こす原因ともなっている細胞である。近年、それ以外に一部のウイルスあるいは細菌感染に対する応答にも、重要な役割を果たしていることが明らかにされている。しかし、*H. pylori* の排除に関する報告は非常に少ない。また、我々は既に *H. pylori* 感染による胃炎が全身性免疫系により起こることを報告しており、肥満細胞が *H. pylori* 感染時にこの影響を受ける可能性が考えられ

たため、本研究を着想するに至った。

2. 研究の目的

H. pylori 感染において肥満細胞は感染によって、病態を悪化させるかあるいは改善させるかを *in vivo* で検討することにより、病態形成への寄与を調べる。また、*H. pylori* に対する抗体は病態形成には無関係であると考えられているものの、本当にそうであるかは明示されていない。そこで、抗体産生細胞である形質細胞の形成及び抗体価について、病態形成との関係について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

まず、C57BL/6 バックグラウンドで全身の肥満細胞を欠損する W^{sh}/W^{sh} マウスを絶食させ、ここにマウスの胃に定着する *H. pylori* SS1 株 $1\sim 2 \times 10^8$ cfu を経口投与して感染させ、感染 2 ヶ月後に解剖して胃の病理像及び定着菌数についてコントロールマウスと比較した。また、WBB6F1- W/W^v マウスや WBB6F1-SI/SI^d マウスといった、ジェネティックバックグラウンドが異なる肥満細胞欠損マウスにも同様に感染を行い、病態に違いがあるか否かを検討した。更に、感染による血清中 *H. pylori* の病原因子である CagA 分子) 特異的 IgG 及び IgA 産生を測定した。一方で、マウス骨髄細胞を stem cell factor (SCF) 及び IL-3 の共存下 5 週間培養して肥満細胞に分化させ、これを W^{sh}/W^{sh} マウスに移植して 4 週間待って定着させた。ここに先ほどと同様に *H. pylori* を感染させ、肥満細胞を移植しない場合との病理像を比較した。更に、この時の脾臓内巨核球の数を、脾臓組織の最大剖面病理標本にて無作為に 10 視野を選んで計測し、肥満細胞の有無における違いを検討した。また、血中の血小板の恒常性維持に重要なトロンボポイエチン(TPO)について、その血清中濃度を経時的に測定した。

4. 研究成果

コントロールマウスに比べ、 W^{sh}/W^{sh} マウスでは胃炎に伴う好中球浸潤は同程度であり定着菌数に大きな差がなかったことから、肥満細胞を欠損するからといって、菌体の排除能が著しく減少するという事はなかった。しかしながら、 W^{sh}/W^{sh} マウスの病理像の特徴として、筋層と漿膜の間にリンパ濾胞用組織形成、胃粘膜固有層へのリンパ球浸潤、特に細胞質の大きな形質細胞の著明な浸潤が観察された(図1)。

図 1-1. リンパ濾胞様組織

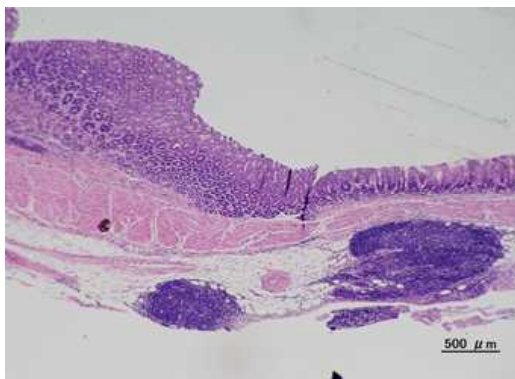
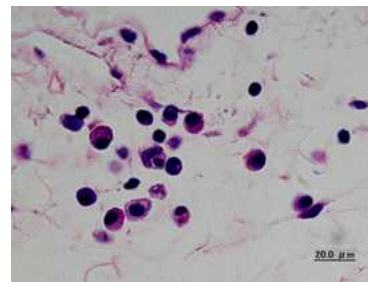


図 1-2. 粘膜筋板下に浸潤した形質細胞



血清中の抗 *H. pylori* IgG 及び IgA 産生は、コントロールマウスではほとんど検出されないが、 W^{sh}/W^{sh} マウスでは顕著に高い値を示し、これは他の肥満細胞欠損マウスでも同様の傾向が見られた。また、脾臓の切片を観察したところ、巨核球の数が増加していることを見出した(図2; 図2-2で多数見られる多核で大きな細胞が巨核球)。すなわち、*H. pylori* 感染により血小板数が減少し、これを補うために巨核球が増加すると考えられた。

図 2-1. 未感染 W^{sh}/W^{sh}

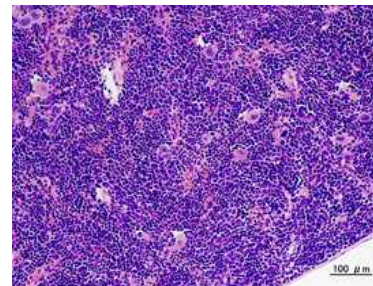
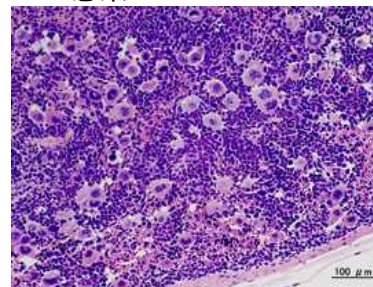
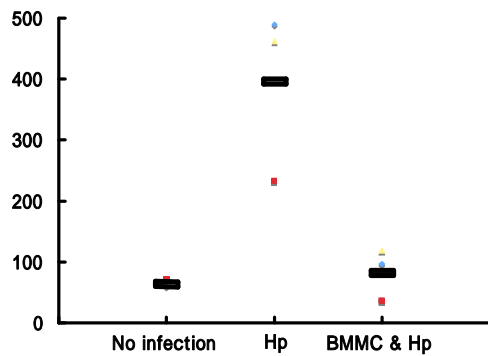


図 2-2. 感染 W^{sh}/W^{sh}



しかしながら、骨髄由来肥満細胞を移植したマウスにおいては、この巨核球数の増加が見られなかったことから、*H. pylori* 感染による巨核球数の増加は、肥満細胞によって抑制されている可能性が示された(図3)。ところが、これらのマウスの血清中の TPO は特に違いが無かったため、この巨核球の増加は TPO の減少によるものではないことが明らかになった。

図3. 感染 W^{sh}/W^{sh} マウス脾臓内 MK 数



以上の結果から、*H. pylori* 感染において胃局所において、直接菌体を排除するような自然免疫反応には貢献しないことが示された。また、肥満細胞欠損により *H. pylori* 特異的 Ig の産生増強が見られるものの、この Ig は菌体排除に大きな影響を与えないことから、B 細胞は *H. pylori* 感染に対する生体防御への寄与は小さいと考えられた。

一方で、肥満細胞欠損状態では *H. pylori* 感染により巨核球が増加することから、肥満細胞はむしろ全身性に作用を示すことが明らかになった。血小板の数を制御することから、例えば特発性血小板減少性紫斑病などの、*H. pylori* 感染による免疫疾患の発症に、肥満細胞が関与する可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

- 1: Matsui T, Nakata N, Nagai S, Nakatani A, Takahashi M, Momose T, Ohtomo K, Koyasu S. Inflammatory cytokines and hypoxia contribute to fluoro-2-deoxy glucose uptake by cells involved in pannus formation in rheumatoid arthritis. *J Nucl Med* 2009, in press. 査読有り
- 2: Hayashi T, Nagai S, Fujii H, Baba Y, Ikeda E, Kawase T, Koyasu S. Critical roles of NK and CD8⁺ T cells in CNS listeriosis. *J Immunol* 2009, in press. 査読有り
- 3: Suzuki M, Mimuro H, Kiga K, Fukumatsu M, Ishijima N, Morikawa H, Nagai S, Koyasu S, Gilman RH, Kersulyte D, Berg DE, Sasakawa C. *Helicobacter pylori* CagA Phosphorylation-Independent Function in Epithelial Proliferation and Inflammation. *Cell Host Microbe* 2009 Jan; 5(1):23-34. 査読有り

4: Sawatani Y, Miyamoto T, Nagai S, Maruya M, Imai J, Fujita N, Miyamoto K, Ninomiya K, Suzuki T, Iwasaki R, Toyama Y, Koyasu S, Suda T. The role of DC-STAMP in maintenance of immune tolerance through regulation of dendritic cell function. *Int. Immunol* 2008 Oct 20(10):1259-1268. 査読有り

5: Ohtani M, Nagai S, Kondo S, Mizuno S, Nakamura K, Tanabe M, Takeuchi T, Matsuda S, Koyasu S. mTOR and GSK3 pathways downstream of PI3-kinase differentially regulate LPS-induced IL-12 production in dendritic cells. *Blood* 2008 Aug 1; 112(3):635-643. 査読有り

6: Ito Y, Kamata-Sakurai M, Denda-Nagai K, Nagai S, Tsuiji M, Ishii-Schrade K, Okada K, Goto A, Fukayama M, Irimura T. Identification and expression of human epiglycanin/MUC21: a novel transmembrane mucin. *Glycobiology* 2008 Jan; 18(1):74-83. 査読有り

7: Mimuro H, Suzuki T, Nagai S, Rieder G, Suzuki M, Nagai T, Fujita Y, Nagamatsu K, Ishijima N, Koyasu S, Haas R, Sasakawa C. *Helicobacter pylori* dampens gut epithelial self-renewal by inhibiting apoptosis, a bacterial strategy to enhance colonization of the stomach. *Cell Host Microbe*. 2007 Oct; 2(4): 250-263. 査読有り

8: Nagai S, Mimuro H, Yamada T, Baba Y, Moro K, Nochi T, Kiyono H, Suzuki T, Sasakawa C, Koyasu S. Role of Peyer's patches in the induction of *Helicobacter pylori*-induced gastritis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007 May 22; 104(21):8971-8976. 査読有り

[学会発表](計 5 件)

- 1: 永井 重徳 “Immune regulation by Th17 cells of the induction of *Helicobacter pylori*-induced gastritis.” 第 82 回日本細菌学会総会 2009 年 3 月 13 日 名古屋国際会議場
- 2: 永井 重徳 “Role of IL-17A in the induction of *Helicobacter pylori*-induced gastritis” 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会 2008 年 12 月 1 日 京都国際会館
- 3: 永井 重徳 “Role of PI3K on the production of cytokines by plasmacytoid dendritic cells” The 10th International Symposium on Dendritic

Cells 2008年10月2日 神戸国際会議場

4: 永井 重徳 “Helicobacter pylori 感染による胃炎発症における Th17 細胞の役割”
第 6 回沖縄感染症フォーラム 2008 年 2 月 13 日 沖縄国民年金健康センター・サンセット美浜

5: 永井 重徳 “胃炎発症における球状ヘリコバクターピロリの重要性” 第 13 回日本ヘリコバクター学会 2007 年 6 月 22 日 琵琶湖ホテル

〔図書〕(計 1 件)

1: 免疫学イラストレイテッド 原書第 7 版
高津聖志、清野 宏、三宅健介 監訳
南江堂 2009 年 1 月発刊
担当ページ: 257-276 ページ

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)
なし

取得状況 (計 0 件)
なし

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永井 重徳 (NAGAI SHIGENORI)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号: 50348801

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし