

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18590705
 研究課題名（和文）ピロリ菌ウレアーゼによる B-1 細胞活性化と自己免疫疾患の誘発に関する研究
 研究課題名（英文）Induction of autoimmune diseases through activation of B-1 cells by *Helicobacter pylori* urease
 研究代表者
 高橋 秀実（TAKAHASHI HIDEMI）
 日本医科大学・大学院医学研究科・教授
 研究者番号：40221361

研究成果の概要：報告者らは、ピロリ菌より採取・精製した菌体制分ウレアーゼが、ヘルパーT 細胞の非存在下でマウス由来の B-1 細胞を選択的に活性化すること、そしてこうした B-1 細胞をピロリ菌ウレアーゼで刺激したところ、培養上清中に自己抗体としてのリウマチ因子（RF）や抗 DNA 抗体が放出されることを発見した。また、ピロリ菌の培養上清中には全く菌体由来ウレアーゼ蛋白は検出されないこと、ならびに菌体表面に多量のウレアーゼ蛋白が発現していることを確認した。そこで、ウレアーゼを欠損したピロリ菌を入手し、このウレアーゼ欠損株と非欠損株ピロリ菌をプレート上に固着させ、B-1 細胞を添加培養し、上清中のリウマチ因子や抗 DNA 抗体の放出量を測定したところ、ウレアーゼ非欠損株とともに培養した場合においてのみ、これらの自己抗体が検出された。こうした事実は、ピロリ菌表面の LPS などではなく、菌体表面に発現したウレアーゼが直接に B-1 細胞を刺激し、自己抗体の産生・放出を促したことを示している（論文投稿中）。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,300,000	0	1,300,000
2007 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	600,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：Helicobacter pylori, urease, B-1 細胞, 自己抗体, 自己免疫疾患, リウマチ因子

1. 研究開始当初の背景

ピロリ菌の除菌治療により慢性関節リウマチ、特発性血小板減少性紫斑病、シェーグレン症候群等、様々な自己抗体の関与する自己免疫疾患が改善することが報告されていた。

2. 研究の目的

ピロリ菌の何らかの成分が自己抗体の産生に関わるとすれば、その成分を明らかにすると共に、如何なる機序で如何なる細胞群が自

己抗体の産生に関わるかを明らかにし、新たな自己免疫疾患克服への道を模索すること。

3. 研究の方法

ピロリ菌由来の免疫活性化物質として、報告者が以前より解析を進めてきた、強い抗体誘発能を有する菌体成分ウレアーゼ蛋白質に着目し、精製ウレアーゼを用いて、ピロリ菌への感受性を有する BALB/c マウス由来の様々な細胞群を刺激し、自己抗体が誘発されるか否かを検討する。

4. 研究成果

ピロリ菌由来精製ウレアーゼを免疫した動物の免疫細胞を精製ウレアーゼ抗原で刺激した場合、ヘルパーT細胞の非存在下でB細胞が活性化することを見いだしたが、免疫回数増加によって活性化の程度は変わらなかった。次に、このB細胞は記憶を有さない自然免疫系に属するB-1細胞群であることを見いだすと共に、活性化に伴いリウマチ因子、や抗フォスファチジル抗体等の自己免疫関連抗体を産生することを確認した (Infect Immun 74:248-256, 2006)。そして、この活性化には、ピロリから放出された遊離ウレアーゼではなく、菌体表面に発現したウレアーゼ蛋白の関与することを見いだした(論文投稿中)。

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 30 件)

- ① Yamanishi, S., Iizumi, T., Watanabe, E., Shimizu, M., Kamiya, S., Nagata, K., Kumagai, Y., Fukunaga, Y., Takahashi, H. Implications for induction of autoimmunity via activation of B-1 cells by Helicobacter pylori urease. Infect. Immun. 74:248-256, 2006, 有
- ② Wakabayashi A., Utsuyama, M., Hosoda, T., Sato., Takahashi, H., Hirokawa, K. Induction of immunological tolerance by oral, but not intravenous and intraportal, administration of ovalbumin and the difference between young and old mice. J. Nutr. Health Aging, 10:183-191, 2006, 有
- ③ Watanabe Y, Watari E, Matsunaga I, Hiromatsu K, Dascher C D, Kawashima T, Norose Y, Simizu K, Takahashi H, Yano I, Sugita M. BCG vaccine elicits both T-cell mediated and humoral immune responses directed against mycobacterial lipid components. Vaccine, 24:5700-5707, 2006, 有
- ④ Wakabayashi, A., Kumagai, Y., Watari, E., Shimizu, M., Utsuyama, M., Hirokawa, K., Takahashi, H. Importance of gastrointestinal ingestion and macromolecular antigens in the vein for oral tolerance induction. Immunology, 119:167-177, 2007, 有
- ⑤ Nakagawa Y, Kikuchi H, Takahashi H. Molecular analysis of TCR and peptide/MHC interaction using P18-I10-derived peptides with a single D-amino acid substitution. 92:2570-2582, 2007, 有
- ⑥ Takahashi M, Watari E, Shinya E, Shimizu T, Takahashi H. Suppression of virus replication via down-modulation of mitochondrial short chain enoyl-CoA hydratase in human glioblastoma cells. Antiviral Res., 75:152-158, 2007, 有
- ⑦ Wakabayashi A., Nakagawa Y., Shimizu M., Moriya K., Nishiyama Y., Takahashi H. Suppression of Already Established Tumor Growing through Activated Mucosal CTLs Induced by Oral Administration of Tumor Antigen with Cholera Toxin. J. Immunol., 180:4000-4010, 2008, 有
- ⑧ Fukazawa, Y., Miyake, A., Ibuki, K., Inaba, K., Saito, N., Motohara, M., Horiuchi, R., Himeno, A., Matsuda, K., Matsuyama, M., Takahashi, H., Hayami, M., Igarashi, T., Miura, T. Small intestine CD4+ T cells are profoundly depleted during acute simian-human immunodeficiency virus infection, regardless of viral pathogenicity. J. Virol., 82:6039-6044, 2008, 有
- ⑨ Yamashita, T., Tamura, H., Satoh, C., Shinya, E., Takahashi, H., Chen, L., Kondo, A., Tsuji, T., Dan, K., Ogata, K. Functional B7.2 and B7-H2 molecules on myeloma cells are associated with a growth advantage. Clin. Cancer Res., 75:152-158, 2009, 有
- ⑩ Higuchi, T., Shimizu, M., Owaki, A., Takahashi, M., Shinya, E., Nishimura, T., Takahashi, H. A possible mechanism of intravesical BCG therapy for human bladder carcinoma: involvement of innate effector cells for the inhibition of tumor growth. Cancer Immunol. Immunother. Jan 13, online published, 2009, 有
- ⑪ 高橋秀実、癌の免疫療法：丸山ワクチンの作用機序に関する一考察、日本医科大学医会誌 2:1-2, 2006, 有
- ⑫ 高橋秀実、免疫システムの新たな実態：基本免疫と獲得免疫、日本感染症学会雑誌、80:463-468, 2006, 有
- ⑬ 新谷英滋、大脇敦子、高橋秀実、DsRed2を用いたエイズウイルスnef遺伝子産物と脂質抗原提示分子CD1a相互作用の解析、日本医科大学医会誌、2:134-135, 2006, 有
- ⑭ 高橋秀実、体表面に配置された自然免疫システムと体内を循環する獲得免疫システム、炎症と免疫、14:449-450, 2006.
- ⑮ 高橋秀実、粘膜組織におけるHIVの拡散と制御、炎症と免疫、14:479-485, 2006.
- ⑯ 飯泉匡、熊谷善博、高橋秀実、Helicobacter pylori由来ureaseの酵素活性

- を増強させる特異的抗体、臨床免疫・アレルギー科、46:205-207, 2006.
- ⑰ 新谷英滋、高橋秀実、ヒト免疫不全ウイルス Nefによる免疫抑制の機序、臨床免疫・アレルギー科、46:222-226, 2006.
- ⑱ 高橋秀実、HIVとnef、炎症と免疫、14:816-821, 2006.
- ⑲ 山西慎吾、神谷茂、高橋秀実、ピロリ菌ウレアーゼによるB-1細胞活性化作用と自己免疫疾患誘導の可能性、日本ヘリコバクター学会誌、8:222-26, 2007, 有
- ⑳ 高橋秀実、母乳を介したエイズウイルスの感染伝播、日本エイズ学会誌、9:11-16, 2007, 有
- ㉑ 高橋秀実、ワクチンによる特異的免疫機能の誘導：ヒトにおける抗原特異的免疫機構、治療学、41:1041-1045, 2007.
- ㉒ 高橋秀実、 $\gamma\delta$ T細胞とリウマチ様関節炎、リウマチ科、38:565-570, 2007.
- ㉓ 新谷英滋、高橋秀実、樹状細胞の機能とHIV-1 Nef、48:623-629, 2007.
- ㉔ 高橋めぐみ、高橋秀実、遊離抗原によるCD8+T細胞のアポトーシス誘導の可能性、臨床免疫・アレルギー科、49:223-238, 2008.
- ㉕ 高橋秀実、HIVに対する防御・細胞性免疫の役割、治療、42:72-76, 2008.
- ㉖ 若林あや子、高橋秀実、感染症と栄養・機能性食品、日本機能性食品学会誌、4:373-380, 2008, 有.
- ㉗ 高橋秀実、HIV感染伝播における母乳中細胞の役割、血液フロンティア、18:45-51, 2008.
- ㉘ 高橋秀実、HIV：ヒト免疫不全ウイルス感染と樹状細胞、実験医学、26:157-163, 2008.
- ㉙ 高橋秀実、BCGによる自然免疫の活性化、泌尿器外科、
- ㊀ 高橋秀実、アレルギー疾患における漢方薬の作用機序に対する一考察、日本小児科学会雑誌、2009（印刷中）、有

〔学会発表〕（計 81 件）

国際学会：6 回

国内特別講演：11 回

一般講演：64 回

〔図書〕（計 3 件）

- ① 高橋秀実、特異免疫およびその賦活法に関する基本原理、ブラック微生物学、丸善出版、2007.1.31 発刊
- ② 高橋秀実、書籍全体、リップンコット・イラストレイテッド免疫学、丸善出版、2009.1.31 発刊
- ③ 高橋秀実、細胞制免疫（CTL）の誘導と樹状細胞、臨床粘膜免疫学、2009（印刷中）

〔産業財産権〕

○取得状況（計 1 件）

ヒト免疫不全ウイルスを認識するキラーT細胞レセプター(US-Patent Number: 6511830, 2006.7.25日取得)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 秀実 (TAKAHASHI HIDE MI)

日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：40221361

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし