

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Neutralizing antibodies for *Helicobacter pylori* urease inhibit bacterial colonization in the murine stomach *in vivo*

ピロリ菌ウレアーゼに対する中和抗体によるマウス胃へのピロリ菌感染予防

日本医科大学大学院医学研究科 小児・思春期医学分野
大学院生 竹下 輝

Biomedical Research, volume 40, number 2, 2019 掲載予定

ピロリ菌は胃粘膜に持続感染し、慢性胃炎や胃がんの原因となるばかりでなく、特発性血小板減少性紫斑病や関節リウマチなどの自己免疫疾患との関連も指摘されている。ピロリ菌感染者ではピロリ菌に対する抗体は産生されるが、持続感染を抑制する効果はない。一方、ピロリ菌菌体毒素であるウレアーゼは胃液中の尿素を分解してアンモニアを産生することで胃酸を中和し、持続感染を成立させる必須の蛋白である。すでに申請者らのグループはこのウレアーゼの活性中心に相当する 19 アミノ酸からなるペプチド UB-33 を同定し、抗 UB-33 抗体がウレアーゼ活性の中和抗体であることを報告している。そこで本研究の目的は、UB-33 ペプチドでマウスを免疫することにより、ピロリ菌の胃粘膜への生着、持続感染を抑制する可能性を検討することである。

6 週齢の雌性 BALB/c マウスに、UB-33 ペプチド、精製ピロリ菌ウレアーゼ、あるいは PBS を完全フロイントアジュバントと共に腹腔内接種し、さらに 2 週後に不完全フロイントアジュバントと共にブーストした。初回投与から 4 週後に UB-33 あるいはウレアーゼに対する抗体産生を確認し、その後 48 時間ごとにピロリ菌 (SS-1 株) を 3 回胃内投与した。4 週後に胃内ピロリ菌数、血液および胃液内の抗体活性を比較した。また、ピロリ菌ウレアーゼに対する免疫応答は TLR-2 を介して惹起されることから、同様の実験を TLR-2 欠損マウスに対しても行なっている。研究の結果、UB-33 免疫群ではウレアーゼ中和活性を有する UB-33 特異的 IgG 抗体が産生されており、胃液内からも検出された。ウレアーゼ免疫群でもウレアーゼに対する IgG 抗体が産生されていたが、中和活性はなかった。どちらの群でも IgA 抗体は産生されていなかった。ピロリ菌菌体数は UB-33 免疫群で有意に抑制されていたが、ウレアーゼ免疫群では限定的であった。これらの現象は TLR-2 欠損マウスでは観察されなかった。

これまでピロリ菌に対するワクチン開発への研究は多数報告されているが、ウレアーゼ活性中心を標的とした研究はこの報告が初である。ピロリ菌感染者がピロリ菌抗体を産生

しながらも持続感染が成立している事実からもわかるように、ワクチンの開発は容易ではないと言える。しかし、今回得られた知見は、ウレアーゼの活性中心に対する免疫で持続感染を抑制できる可能性を初めて明らかにしたもので、今後のピロリ菌に対する予防ワクチンの開発に道を開くものであると言える。

第二次審査における議論として、1) IgA クラスの抗体が誘導されない理由について、2) ワクチン開発の今後の方向性について、3) 統計・検定法の選択について、4) ワクチンばかりでなく抗体療法としての可能性について、5) 胃液内の IgG 抗体の持続性について、などの質疑がなされ、いずれも適切な回答が得られた。

以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。