

審査の結果の要旨

氏名 蛭川 沙也加

本論文は嫌気培養によるピロリ菌の形態変化に着目した研究について述べられている。本論文は2章からなり、第1章ではピロリ菌の形態ごとの基本的性質、第2章では嫌気培養ピロリ菌の予防ワクチン効果とそのメカニズムについて述べられている。

ピロリ菌は微好気条件下ではらせん状の形態 (Helical form) を示す。それ以外の環境下では球状の形態 (Coccioid form) を示し、通常の *in vitro* でのピロリ菌培養方法では増殖できないが、生きている VBNC (Viable but non-culturable) 状態であると報告されている。今回新たに Fragmented form と名付けた形態を発見した。そこで第1章では、Coccioid form と Fragmented form 誘導の条件検討を行い、各形態の基本的性質を述べている。

ATCC43504 株を微好気条件下で培養したのちに嫌気条件下で培養し、経時的に菌液中に含まれる各形態の菌体数をカウントした結果、菌液中に含まれる Coccioid form の割合は嫌気培養3日目にピークを示した。Fragmented form は嫌気培養3日目に出現し、培養を進めるにつれその割合は上昇した。

次に微好気培養後の菌液を Helical form 画分、嫌気培養3日目の菌液を Coccioid form 画分、嫌気培養7日目の菌液を Fragmented form 画分として基本的性質を調べた。その結果、Coccioid form 画分及び Fragmented form 画分ではウレアーゼ活性と主要な病原タンパク質の発現は見られたものの、菌体運動能と胃上皮細胞株 AGS に対する IV 型分泌装置分泌活性は見られなかった。各形態画分の菌液を血液寒天培地に塗抹し微好気条件下で培養を行ったところ、Coccioid form 及び Fragmented form 画分は Helical form 画分と比較して有意に低い Colony forming unit (CFU) を示した。Coccioid form 画分には Helical form が 25%ほど含まれる一方で Fragmented form 画分中には Helical form がほぼ含まれないにも関わらず、Coccioid form 画分と比較して Fragmented form 画分の CFU は高い傾向にあった。さらに、Fragmented form 画分を微好気条件下で培養し、生じたコロニーに含まれる菌体の形態を観察したところ、Helical form を呈していた。

以上の結果から、嫌気培養により形態変化したピロリ菌は、酸性条件である胃内で生き残るためのウレアーゼ活性を持ち、胃内と同様の微好気条件下で Helical form に戻りコロニー形成するという、糞口感染を成立させる上で重要な性質を保持していることが明らかとなった。

マウスを用いた先行研究から、ピロリ菌の胃粘膜定着による胃炎の発症には、嫌気条件である小腸内でらせん状から球状に形態変化したピロリ菌が小腸パイエル板に取り込まれ、ピロリ菌特異的 CD4 陽性 T 細胞が誘導されることが重要であることが報告されている。この報告から、予め嫌気条件下で形態を変化させたピロリ菌を経口投与し、ピロ

リ菌特異的 CD4 陽性 T 細胞を誘導することで、ピロリ菌感染に対する予防効果が得られる可能性を提案した。そこで第 2 章では、ヒトに類似したピロリ菌感染モデルであるスナネズミを用いて、嫌気培養ピロリ菌の予防ワクチンとしての有用性の検討について述べている。その結果、パラホルムアルデヒド固定した嫌気培養ピロリ菌をアジュバントであるコレラトキシンと投与することで、ピロリ菌の胃粘膜感染を予防することが示唆された。一方で、PFA 固定した微好気培養ピロリ菌をコレラトキシンと投与してもピロリ菌の胃粘膜感染予防効果は見られなかった。

微好気培養ピロリ菌と嫌気培養ピロリ菌での予防ワクチン効果の相違の原因を明らかにするために、まず小腸パイエル板への透過効率に着目した検討を述べている。スナネズミ感染モデルにおいては、微好気培養ピロリ菌と嫌気培養ピロリ菌のパイエル板への透過効率はほぼ同程度であった。次に、樹状細胞による貪食効率を検討した結果、嫌気培養ピロリ菌は微好気培養ピロリ菌よりも効率よく樹状細胞に貪食されることが明らかとなった。

以上の結果から、固定化嫌気培養ピロリ菌はピロリ菌胃粘膜感染予防効果を有しており、その感染予防効果を発揮する上で、樹状細胞に効率よく貪食されることが重要であることが示唆された。

以上、本論文はピロリ菌の感染機構の解明とピロリ菌胃粘膜感染予防ワクチンの確立に大きく貢献するものであるため、博士（医科学）の学位授与に値すると認める。

以上 1,983 字