

氏名 伊藤 俊之
 学位(専攻分野) 博士 (医学)
 学位記番号 医博第2250号
 学位授与の日付 平成12年3月23日
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
 研究科・専攻 医学研究科内科系専攻
 学位論文題目 The vast majority of gastric T cells are polarized to produce T helper 1 type cytokines upon antigenic stimulation despite the absence of *Helicobacter pylori* infection.
 (多くの胃粘膜浸潤 T 細胞は *Helicobacter pylori* 感染の有無に関わらず T ヘルパー 1 型のサイトカインプロファイルを有する)

論文調査委員 (主査) 教授 湊 長博 教授 桂 義元 教授 千葉 勉

論文内容の要旨

Helicobacter pylori (以下 *H. pylori*) 陽性胃粘膜には好中球や濾胞形成を伴うリンパ球などからなる著明な炎症細胞浸潤がみられ、宿主の活発な免疫応答にもかかわらず感染は持続し、種々の上部消化管疾患の発症に関与することが知られている。しかし、*H. pylori* 関連疾患の病態を理解するにはまず下部消化管での知見に比して未だ不明な点が多い胃粘膜免疫応答機構の解明が不可欠である。

そこで、胃粘膜浸潤炎症細胞の細胞構成および抗原特異的免疫応答において中心的役割を果たす胃粘膜浸潤 T 細胞のサイトカイン産生について、*H. pylori* 感染の有無、*H. pylori* 除菌前後で比較、検討を行った。

年齢、性別に差を認めない *H. pylori* 陽性者 58 例、陰性者 15 例の計 73 症例の上部消化管内視鏡施行時に、幽門洞大弯から生検で胃粘膜組織を採取し、酵素処理にて胃粘膜浸潤細胞を分散した。まず、得られた細胞中の CD 3 (T 細胞)、CD 13 (好中球 / 単球)、CD 38 (形質細胞) 陽性細胞の構成をフローサイトメトリーを用いて検討した。結果、胃粘膜浸潤細胞の総数は *H. pylori* 陽性者では陰性者に比べ約 2 倍であり、なかでも T 細胞が最も多く存在した。

次に、胃粘膜浸潤 T 細胞のサイトカイン産生能を検討する目的で、LCD 32 (FcγR-II) と CD 80 を共発現させた二重発現株 (LCD 32/CD 80) を作成し、胃粘膜浸潤細胞と放射線照射した LCD 32/CD 80 を精製 CD 3 抗体存在下に共培養した。この共培養は抗原レセプターからの刺激に加え副刺激を T 細胞に与えることが可能であるため、T 細胞を anergy に至らしめることなく *in vivo* に近い環境で T 細胞を特異的に刺激することが可能な系である。経時的に採取した培養上清中の IFN-γ、IL-4 を ELISA で、IL-2 を CTLL-2 による bioassay にて測定した結果、*H. pylori* 陽性者の胃粘膜浸潤 T 細胞は陰性者に比してより大量の IFN-γ を産生した。IL-4 と IL-2 については、陽性者は培養初期に IL-4 産生が多かったものの IL-2 では差がなかった。また、*H. pylori* の除菌によって胃粘膜浸潤 T 細胞の IFN-γ 産生量は減少した。これらは、胃粘膜浸潤 T 細胞は高度の IFN-γ 産生能を有しており、それは *H. pylori* 感染によりさらに増強されることを示している。

今度は、個々の胃粘膜浸潤 T 細胞のプロフィールを検討する目的で、その CD 4 陽性細胞 (ヘルパー T 細胞) の細胞内 IFN-γ、IL 4 をフローサイトメトリーを用いて解析した。結果、その 70% 以上が IFN-γ 産生細胞で、IL-4 産生細胞に比して多数存在し、その構成比率は *H. pylori* 感染による影響を受けなかった。また、IFN-γ、IL-4 を共に産生する細胞はほとんど存在しなかった。これは、胃粘膜浸潤 T 細胞は *H. pylori* 感染の有無に関わらず、多くは既に T ヘルパー 1 型に分化していることを示している。

H. pylori 特異的血清抗体価を *H. pylori* 超音波破砕物を抗原とした ELISA で、測定した結果、いずれの subclass においても陽性者で高値で、なかでも IgG 2 において最も大きな差がみられた。これは、感染局所で B 細胞が IFN-γ の影響を強く

受けていることを示唆する。

以上、*H. pylori* 感染の有無に関わらず、ヒト胃粘膜浸潤炎症細胞の中では T 細胞が最も多数を占め、その多くは既に T ヘルパー 1 型に分化しており、高度の IFN- γ 産生能を有していた。さらに、*H. pylori* 感染によって胃粘膜浸潤 T 細胞は胃粘膜局所でより大量の IFN- γ を産生しうることが判明した。このことから、*H. pylori* 感染胃粘膜で産生された IFN- γ によって単球や組織球、NK 細胞などが一層活性化され、炎症が増悪、遷延化し、さらには上皮障害をも引き起こす役割を担っているものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

Helicobacter pylori (以下 *H. pylori*) 感染に対する宿主の免疫応答が種々の上部消化管疾患の発症と深い関わりを持つことが注目されているが、胃粘膜免疫応答機構とその胃粘膜障害機構については未だ不明な点が多い。

そこで本研究では、内視鏡的に採取した胃前庭部の生検組織から胃粘膜浸潤炎症細胞を単離し、その細胞構成と胃粘膜浸潤 T 細胞のサイトカイン産生について *H. pylori* 感染の有無、*H. pylori* 除菌前後で比較、検討を行った。胃粘膜浸潤細胞数は *H. pylori* 陽性者では陰性者に比べ約 2 倍で、両者とも T 細胞が最も多く存在した。胃粘膜浸潤 T 細胞は、抗 CD 3 抗体と CD 80 分子を用いた T 細胞特異的な刺激により大量の IFN- γ を産生したが、それは *H. pylori* 陰性者に比して陽性者で顕著であった。IL-4 や IL-2 の産生はいずれも *H. pylori* 陽性者、陰性者ともに少量であった。また、*H. pylori* の除菌により胃粘膜浸潤 T 細胞の IFN- γ 産生量は減少した。胃粘膜浸潤 CD 4 陽性 T 細胞 (ヘルパー T 細胞) は *H. pylori* 感染に関係なくその 70% 以上が IFN- γ 産生細胞で、IL-4 産生細胞に比して多数存在した。

以上より、*H. pylori* 感染の有無に関わらずヒト胃粘膜浸潤炎症細胞は T 細胞が最も多数を占め、既に T ヘルパー 1 型に分化した胃粘膜浸潤 T 細胞は高度の IFN- γ 産生能を有しており、*H. pylori* 感染によってさらに大量の IFN- γ を胃粘膜局所で産生しうることが示された。*H. pylori* 感染胃粘膜で産生された IFN- γ は上皮を直接的に障害するのみならず、単球や組織球、NK 細胞などをさらに活性化し炎症を増悪、遷延化させる役割をも担っているものと考えられた。

以上の研究は、*H. pylori* 感染症に対する新たな免疫学的治療法の開発に貢献し、消化器病学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 12 年 2 月 21 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。