

論文内容要旨

論文題目

Helicobacter pylori の菌体接着因子 Sialic acid-binding adhesin (SabA)
に関する遺伝子学的及び疫学的研究

責任講座： 公衆衛生学 講座

氏 名： 大谷勝実

【内容要旨】

【目的】 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染は慢性胃炎、消化性潰瘍及び胃癌等多様な消化器疾患に関与している。*H. pylori* の代表的な病原因子として CagA, VacA 等があるが、菌体の胃粘膜への定着因子も臨床的に重要である。最近、欧州で sialic acid-binding adhesin (シアル酸結合接着因子、SabA) が新たに同定され、慢性胃炎への関与が示唆されている。しかし、我が国の *H. pylori* 分離株の *sabA* 遺伝子の特性については明らかではない。本研究は、我々が分離した株における *sabA* 遺伝子の特徴及び *sabA* 遺伝子と疾病との関連を解明することを目的とした。

【方法】 2003～2005年に山形大学医学部附属病院で内視鏡検査を受けた患者から分離した *H. pylori* 29株の *sabA* 遺伝子の全塩基配列を分析し、遺伝子の構造解析、核酸・アミノ酸の相同性比較及び分子系統樹解析を行った。これらの結果に基づき、*sabA* 遺伝子を検出するための PCR プライマーを設計し、*cagA*・*babA2*・*sabA* 遺伝子を同時に検出するための multiplex PCR 法を開発した。また、この方法を用い、我々が分離した 180 株について 3 種の遺伝子の陽性率を検討した。

【結果】 *H. pylori* 29 株の *sabA* 遺伝子の塩基数は 2,218～2,260bp で、GC%は平均 38.9%であった。全株の遺伝子には start codon 下流に CT 繰り返しが存在した。9 株では一つの open reading frame (ORF) が確認されたが、11 株では CT 繰り返しなどのため ORF の翻訳が out-frame の状態にあった。また、核酸の点変異、欠失、挿入なども観察され、9 株には stop codon が存在した。各株間の塩基配列の相同性は、我々が分離した株間で 88.6%～96.0%であったが、欧米株との相同性は我々が分離した株間より低い傾向にあった。分子系統樹により本邦分離株は欧米株とは明らかに異なるグループを示した。multiplex PCR 法の検出感度は *babA2*、*cagA*、*sabA* に対しそれぞれ $10^3/\mu\text{l}$ 、 $10^1/\mu\text{l}$ 、 $10^2/\mu\text{l}$ であったが、single PCR の結果との一致性を検討したところ *cagA* ($\kappa=0.85$)、*babA2* ($\kappa=0.72$)、*sabA* ($\kappa=0.87$) であった。我々が分離した *H. pylori* 180 株における陽性率は *babA2* 93.9%、*cagA* 97.8%、*sabA* 95.0%であった。

【結論】 1) 我々が分離した *H. pylori* 株の *sabA* 遺伝子には多様性が認められた。欧米株との比較で分離株は異なるグループであることが示された。2) *babA2*、*cagA* 及び *sabA* 遺伝子を同時に検出する簡便で確実な multiplex PCR を開発した。3) 我々が分離した株は由来する疾病にかかわらず *babA2*、*cagA* 及び *sabA* 遺伝子保有率が高かった。

平成 18 年 1 月 16 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：大谷 勝美

論文題目：*Helicobacter pylori*の菌体接着因子Sialic acid-binding adhesion (SabA)に関する遺伝子学的及び疫学的研究

審査委員：主審査委員 清水 博 印

副審査委員 貞弘 光章 印

副審査委員 倉智 博久 印

審査終了日：平成 18 年 1 月 13 日

【 論文審査結果要旨 】

Helicobacter pylori(以下 *H.pylori* と略)は、慢性胃炎、消化性潰瘍及び胃がん等の消化器疾患に関与すること、その病原因子は CagA 及び VagA 等であることが明らかにされている。また、最近では菌体の胃粘膜への定着因子である SabA と慢性胃炎との関連が示唆されている。しかし、我が国における *sabA* 遺伝子の特徴及び疾病との関係については明らかにされていない。

そこで本研究は、①本研究者が分離した *sabA* 遺伝子の特徴を明らかにすること、②*sabA* 遺伝子を含めた複数の遺伝子を鋭敏かつ効率的に検出する方法を開発すること及び③分離した *H.pylori* 株の遺伝子保有状況と疾病の関連を明らかにすることを目的として、山形大学医学部附属病院に来院した *H.pylori* 陽性の消化器疾患患者 180 人を対象に、遺伝子学的及び疫学的研究を行ったものである。

その結果、①本研究者が分離した *H.pylori* の *sabA* 遺伝子は、9 株に ORF(open reading frame)、11 株に out-flame 及び 9 株に stop codon が見られるなど多様性があり、欧米で分離された株とは異なる変異を認めた。②従来の方法に比べ、より鋭敏な *sabA* 遺伝子の PCR 検出法並びに *babA2*、*cagA* 及び *sabA* 遺伝子を同時に検出する multiplex PCR 法を開発した。③胃炎、消化性潰瘍及び胃がんについては、疾病にかかわらず *babA2*、*cagA* 及び *sabA* 遺伝子の陽性率は高いことなどを明らかにした。

以上の研究成果から、本審査委員会では、本研究者が博士(医学)を受けるに値すると判断した。