Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2026-11-24

# ヘリコバクター・ハイルマニ感染症検査法の確立

津田, 政広

(Citation)
神戸大学医学部神緑会学術誌, 26:65-67

(Issue Date)
2010-08

(Resource Type)
departmental bulletin paper

(Version)
Version of Record

(JaLCDOI)
https://doi.org/10.24546/81006757

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/81006757

KOBE UNIVERSITY

助成研究報告

# ヘリコバクター・ハイルマニ感染症検査法の確立

兵庫県立がんセンター消化器科
津　田　政　広（平成３年卒）

## Ⅰ．はじめに

ヒトに感染する*Helicobacter*属細菌としては*Helicobacter pylori*（*H. pylori*）がよく知られており，世界人口の半分が感染しているといわれている．*H. pylori*は胃内に感染すると容易には排除されず慢性感染となり，胃炎，消化性潰瘍，胃癌，胃MALT型リンパ腫を発症させる．*Helicobacter heilmannii*（*H. heilmannii*）は1987年にヒト胃粘膜から発見された*Helicobacter*属の菌種であり，長さ4-10μm，らせん状，波長が約１μmで3-８回のねじれを持つ運動性の細菌で，最大14本の単極，または双極の鞭毛を持つグラム陰性桿菌である．イヌ，ネコ，ブタなどのペットや家畜における感染が広く確認されており，人獣共通感染症としてヒトにも感染することが報告されている[1,2]．

*H. heilmannii*は，ヒトに感染すると，*H. pylori*感染と同様に慢性胃炎[3,4]，胃潰瘍[5]，胃癌を引き起こすことが報告されている．また胃MALTリンパ腫患者からも検出され，胃MALT型リンパ腫の発症率は*H. pylori*感染者に比較し*H. heilmannii*感染者では２倍以上高いことが報告されている[6]．さらに近年，カニクイザルから分離された*H. heilmannii*をマウスに６ヶ月間持続感染させることにより胃MALTリンパ腫を誘導できるマウスモデルも開発された[7]．以上から，*H. heilmannii*は胃MALTリンパ腫の新たな原因菌として注目されている．

*H. heilmannii*はヒト慢性胃炎患者の0.2-６％から検出されると報告されている[8,9]．しかしながら，本菌の特異的な診断方法は確立されておらず，これまでの報告では組織切片中の大型のらせん状形態を示す細菌の存在をもとに感染診断が行われている．*H. pylori*の感染診断は尿素呼気試験やウレアーゼテストなどの非特異的診断法と，胃粘膜の培養，血中および尿中抗体，便中抗原といった特異的診断法で行われているが，*H. heilmannii*は難培養性であり，モノクローナル抗体も作成されておらず，尿素呼気試験も陰性になるため，組織学的検査法では偽陰性となる症例が混在していたことが推測される．感染率や疾患との疫学的関連の調査には特異的診断法が必要であることか，本研究では，*H. heilmannii*感染症検査法を確立することを目的とした．

## Ⅱ．調査方法又は研究計画

### １）*H. heilmannii*感染マウスを用いた，ELISA，免疫染色，PCRによる感染診断

現在までに*H. heilmannii*をマウス胃内で保有・経代している．具体的には，感染マウスの胃組織から得られたホモジネート液を，他のマウスに投与することで感染を経代させている．この胃組織から抽出したDNAには*H. heilmannii*由来のDNAが含まれているため，16s rRNAのPCRを行うことで感染診断が可能である．*H. heilmannii*の遺伝子配列はほとんど明らかになっておらず，病原性遺伝子としてウレアーゼ遺伝子の*Urease*（*Ure*）*A*，*UreB*の部分配列が解明されているのみである．そこで，既知の遺伝子配列を参考に*H. heilmannii*特異的プライマーを作成し，感染診断が可能であるかどうかを検討する．実際には，胃生検組織からDNAを抽出し，*H. heilmannii*の16s rRNAならびにウレアーゼ遺伝子のPCRを行って*H. heilmannii*由来のDNAの有無を判定する．さらに，この既知の遺伝子配列から組み換えウレアーゼ蛋白を作成し，これを用いてELISAを行うことで血清抗*H. heilmannii*抗体を測定する．*H. heilmannii*に対するモノクローナル抗体を作成し，これを用いて胃生検組織の免疫染色を行い，組織中の*H. heilmannii*を同定する．PCRの結果をpositive controlとして，上記の診断方法が*H. heilmannii*特異的であり，*H. pylori*感染症において陰性となることを確認する．

### 2）ヒト *H. heilmannii* 感染者検体を用いた ELISA，免疫染色，PCR による感染診断

申請者が所属している病院において，上部内視鏡検査を受けた患者の中で同意を得られた患者において，採血，胃粘膜生検を行い，ELISA，免疫組織染色，PCR を用いて感染診断を行う．

## Ⅲ．結果と考察

①ウレアーゼに対する PCR 法の確立
②組み換えウレアーゼ蛋白の作成

①現在までに，*H. heilmannii* の遺伝子として，16SrRNA 遺伝子配列が11種類，また，ウレアーゼ A ならびにウレアーゼ B 遺伝子の部分配列が明らかにされている[10]．保持する *H. heilmannii* からこれらの遺伝子領域を解読し，既知のものとそれぞれに比較解析を行ったところ，16SrRNA 領域は約98-99％以上，ウレアーゼ A,B 遺伝子も98％以上のアミノ酸配列の一致を確認した．そこで，これらの遺伝子の保存された領域を利用して，*H. heilmannii* 特異的 PCR プライマーを作成している．これまでに，これらのプライマーでは，*H. pylori* を始め他の細菌由来の DNA では増幅されず，*H. heilmannii* 特異的であることを確認している．
②ウレアーゼは，*H. pylori* の病原性遺伝子の一つで，強い抗原性があること，*H. pylori* 感染患者においても，ウレアーゼに対する抗体価の上昇が認められることが報告されている．そこで，*H. heilmannii* のウレアーゼ遺伝子をクローニングして組換えタンパクの作成を行っている．現在，GST 結合タンパクとして，大腸菌を用いた組み換えタンパク発現体を作成，イソプロピル -β- チオガラクトピラノシドの刺激による組換えタンパク質の誘導を確認しており，精製を行っている．

## Ⅳ．まとめ

今後の検討として，ウレアーゼ蛋白を用いた ELISA による血清抗 *H. heilmannii* 測定法の確立ならびに，ウレアーゼ蛋白に対するモノクローナル抗体の作成を試みる予定である．

*H. pylori* 感染症は胃組織からの培養のほか，尿素呼気試験，血清，および便中抗 *H. pylori* 抗体測定など比較的非侵襲的な検査方法でも診断が可能である．そのため正確な疫学的調査が可能であり，*H. pylori* 感染症と慢性胃炎，胃十二指腸潰瘍，胃癌，胃 MALT リンパ腫との関連が明らかになり，さらに *H. pylori* を除菌すると胃十二指腸潰瘍の再発を予防できること，胃 MALT リンパ腫を寛解導入できることなども明らかになっている．それに比べて *H. heilmannii* 感染症診断はおもに組織診断で行われており，その診断法の感度，特異度は明らかではない．本研究において *H. heilmannii* 感染症の特異的診断法が確立されれば，正確な *H. heilmannii* 感染率を調査することで *H. heilmannii* 感染と各種消化器疾患との疫学的関連を検討することができ，さらには疾患の病因を解明し，その治療にもつながることが期待される．

## 文　献


1）Svec A, Kordas P, Pavlis Z,et al (2000): High prevalence of Helicobacter heilmannii-associated gastritis in a small, predominantly rural area: further evidence in support of a zoonosis? Scand J Gastroenterol 35: 925-928.
2）Van den Bulck K, Decostere A, Baele M, et al. (2005): Identification of non-Helicobacter pylori spiral organisms in gastric samples from humans, dogs, and cats. J Clin Microbiol 43: 2256-2260.
3）Heilmann KL, Borchard F. (1991): Gastritis due to spiral shaped bacteria other than Helicobacter pylori: clinical, histological, and ultrastructural findings. Gut 32: 137-140.
4）Ierardi E, Monno RA, Gentile A, et al. (2001): Helicobacter heilmannii gastritis: a histological and immunohistochemical trait. J Clin Pathol 54:774-777.
5）De Bock M, Van den Bulck K, Hellemans A, et al. (2007) :Peptic ulcer disease associated with Helicobacter felis in a dog owner. Eur J Gastroenterol Hepatol 19:79-82.
6）Morgner A, Lehn N, Andersen LP, et al (2000): Helicobacter heilmannii-associated primary gastric low-grade MALT lymphoma: complete remission after curing the infection. Gastroenterology 118:821-828
7）Nakamura M, Murayama M, Serizawa H, et al. (2007): Candidatus Helicobacter heilmannii from a cynomolgus monkey induces gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas in C57BL/6 mice. Infect Immun 75:1214-1222.
8）Yoko O, Kenji M, Eiko H, et al. (2005):

Helicobacter heilmannii infection: Clinical, endoscopic and histopathological features in Japanese patients. Pathol Int 48: 398-404.

9）Yali Z, Yamada N, Wen M, et al. (1998): Gastrospirillum hominis and Helicobacter pylori infection in Thai individuals: Comparison of histopathological changes of gastric mucosa. Pathol Int 48:507-511.

10）Jani L. O'Rourke, Jay V. Solnick, Brett A. Neilan, et al. (2004): Description of 'Candidatus Helicobacter heilmannii' based on DNA sequence analysis of 16S rRNA and urease genes. IJSEM 54:2203-2211.