



Title	除菌療法中のヘリコバクター・ピロリ過敏症における細胞外小胞を介した抗原提示の役割に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	伊東, 孝政
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13375号
Issue Date	2018-12-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/72397">http://hdl.handle.net/2115/72397</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2431
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Takamasa_Ito_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

(様式 9)

## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 伊東 孝政

### 学位論文題名

除菌療法中のヘリコバクター・ピロリ過敏症における細胞外小胞を介した抗原提示の役割に関する研究 (Potential role of extracellular vesicle-mediated antigen presentation in *Helicobacter pylori* hypersensitivity during eradication therapy)

#### 【背景と目的】

*Helicobacter pylori* (HP) は主に人の胃に生息するグラム陰性のらせん桿菌である。HP は胃潰瘍、胃がんといった胃のみならず特発性血小板減少性紫斑病、鉄欠乏性貧血、急性冠症候群といった胃以外の臓器病変に関与していることが知られている。胃以外の臓器病変をきたす発症機序も不明な点が多い。本邦において 2000 年より胃十二指腸潰瘍における HP 感染症が除菌対象疾患となり、現在では HP 感染胃炎患者に対しても除菌治療の適応となっている。

近年除菌療法の保険適応の拡大とともに皮疹の出現を認めることが報告されてきている。一般的には除菌に使用した薬剤による薬疹が考えられており除菌に使用した薬剤の使用が禁止になることが多い。しかしながら、これらの症例においてパッチテスト、薬剤リンパ球幼若試験、内服誘発試験といった検査を施行するも原因薬剤を同定できなかった症例も報告されている。これまでの報告では検査陰性例の皮疹の場合、薬疹は否定的であり、薬剤内服終了後に皮疹が出現している臨床経過からも別の機序の存在が推察されているが詳細は解明されていない。

本研究では HP 除菌療法後に皮疹を認める症例において、薬剤ではなく HP が関与する病態の存在解明を目指すものである。

#### 【材料と方法】

1. HP 除菌療法後に皮疹を認め繰り返し施行した DLST 陰性患者から単離した Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) に HP を添加し培養上清中はサイトカインを測定し、次に同様の手法で反応させた PBMC を用いて、LTT (lymphocyte stimulation test)、ELISpot (IFN- $\gamma$ )、フローサイトメトリーを施行した。
2. HP 除菌療法後に皮疹を認め繰り返し施行した DLST が陰性であった患者の皮疹出現時に採取した血清から回収したエクソソームを用いてプロテオーム解析を施行した。
3. HP 除菌療法後に皮疹を認め繰り返し施行した DLST が陰性であった患者 PBMC から単離した単球を樹状細胞に分化させた。分化させた樹状細胞に HP を添加し、培養上清中からエクソソームを回収し走査電子顕微鏡、フローサイトメトリーを施行した。回収したエクソソームを用いてプ

ロテオーム解析を施行した。

4.

HP 除菌療法後に皮疹を認め繰り返し施行した DLST が陰性であった患者の血清から超遠心法にて回収したエクソソームを患者 PBMC に添加し、フローサイトメトリーを用いて解析した。

#### 【結果】

HP 除菌療法後に皮疹を認めた患者から単離した PBMC に HP を加えた培養上清中のサイトカインを測定したところ、コントロール群と比較して IL-2、IL-4、IL-6、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  が有意に上昇していた。次に同様の手法で反応させた PBMC を用いて LTT と ELISpot (IFN- $\gamma$ ) を施行したところ 1 例においてそれぞれ陽性と濃度依存性にスポット数の増加を得た。また、フローサイトメトリーにて CD154 陽性 CD4 陽性 T 細胞の数を検討した。HP 除菌療法後に皮疹を認めた患者 PBMC に HP を添加した場合、11 例中 6 例で薬剤を添加した場合に比較して増加している症例を認めた。

HP 除菌療法後に皮疹を認め繰り返し施行した DLST が陰性であった患者の皮疹出現時に採取した血清から回収したエクソソームを用いてプロテオーム解析したところ、4 例中 4 例において HP 特異的なペプチドを同定した。

HP 除菌療法後に皮疹を認め繰り返し施行した DLST が陰性であった患者 PBMC から分化させた樹状細胞に HP を添加し、培養上清中からエクソソーム を回収した。走査電子顕微鏡、フローサイトメトリー (CD9、CD81、HLA-DR、HLA-ABC) にて存在を確認した後、プロテオーム解析を施行したところエクソソーム 内に HP 特異的なペプチドを同定した。

HP 除菌療法後に皮疹を認め DLST が陰性であった患者 PBMC に上記の HP ペプチド含有エクソソームを添加したところ、5 例中 2 例においてコントロールに比較して CD154 陽性 CD4 陽性 T 細胞の増加を認めた。

#### 【考察】

本研究において、HP 除菌療法後に皮疹を認め DLST が陰性である症例の一部では、除菌療法に用いられる薬剤による薬疹ではなく、HP に対する抗原特異的な反応によって生じている症例が含まれていることが示唆された。複数の抗原特異的な反応を評価する実験系を用いたところ、HP 除菌療法後に皮疹を認め DLST が陰性である症例 PBMC に HP を添加した際に抗原特異的な反応を示すことがわかった。興味深いことに HP 除菌療法後に皮疹を認め DLST が陰性であった症例の血清エクソソーム中において HP ペプチドを同定した。近年、HP 感染胃癌患者血清エクソソームにおいて HP ペプチドが同定されており、HP 保菌者における胃以外の臓器障害を引き起こす機序に関与している可能性が示唆されているが詳細な検討は明らかになっていない。本研究において、先述した回収されたエクソソームを用いて少数ながら HP 抗原特異的な反応を引き起こすことを示した。これらの結果は、細菌によるアレルギーを同定することで従来薬疹とされ使用が避けられていた薬剤の使用できる可能性をもたらす臨床的に有用性が高いと考える。

#### 【結論】

HP 除菌療法後に皮疹を認めた患者において、HP 成分を含んだエクソソーム を介した抗原特異的な反応が生じている可能性を示した。本研究で用いた HP 感受性を同定する免疫学的手法は抗生物質過敏症と区別するための有用な手法となりうる。