HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Helicobacter pyloriの病原因子CagAによるIL-1β産生機構に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	亀岡, 章一郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第12233号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61682
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shoichiro_Kameoka_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（理 学）　　氏 名　亀岡　章一郎

学 位 論 文 題 名

Helicobacter pylori の病原因子 CagA による IL-1β 産生機構に関する研究

Helicobacter pylori（ピロリ菌）感染は世界人口の約半数に感染するため、世界的に重要な健康問題として位置づけられている。ピロリ菌は胃酸を中和することで胃に定着し、その慢性感染によって胃癌をはじめとする様々な病態を引き起こすことが知られている。ピロリ菌の中でも病原因子 CagA 陽性株は重度の炎症や発癌性を示し、病原因子 CagA は胃癌発症を決定づける重要な細菌側の因子として注目されてきた。また、CagA 陽性株の感染患者では胃において IL-1β などの炎症性サイトカイン量が有意に増加する。ピロリ菌感染により増加した IL-1β は胃酸の分泌を強く抑制し、ピロリ菌の増殖促進に繋がることが報告されていることや、胃癌発症を促進することが疫学的および遺伝子改変マウスを用いて実験的に示されている。臨床的に、CagA 陽性株の感染患者では IL-1β が増加することから CagA が IL-1β 産生機構に関与している可能性が考えられるとともに、この CagA による IL-1β の産生機構はピロリ菌感染における炎症から発癌にむかうという病態の悪化に寄与することが考えられるが、その詳細な分子機構はこれまで不明であった。IL-1β 産生は proIL-1β の転写翻訳に加えて、NLRs や ALRs を受容体として、それらとともにアダプター ASC および procaspase-1 の複合体である inflammasome の活性化による proIL-1β の成熟化が必要となる。そこで本研究ではピロリ菌感染、CagA による IL-1β 産生機構を明らかにすることを目的とした。

第 1 章ではヒトマクロファージに、野生型ピロリ菌株、*cagA* 欠損株、そして CagA を分泌することが出来ない *cagE* 欠損株を用いた感染実験を行った結果、ヒトマクロファージでの IL-1β 産生は CagA に依存していることが示された。また IL-1β 産生に関わる *IL1B* の転写および caspase-1 の活性化の両経路に CagA が関与していることを示した。

第 2 章では CagA は NLRP3 inflammasome を活性化していることを明らかにした。ピロリ菌感染時の IL-1β 産生に寄与する NLR を調べるために、代表的な NLR である NLRP3 と NLRC4 をノックダウンし、感染実験を行った結果、NLRP3 の発現を低下させたときのみ、

IL-1β 産生量が有意に低下した。さらに野生型株と CagA 欠損株を用いた感染実験や CagA 過剰発現系により、CagA は NLRP3 と ASC の会合を増強すること、また NLRP3 の多量体化を促進すること、そして NLRP3 inflammasome を活性化することを明らかにした。

第 3 章ではピロリ菌感染時の IL-1β 産生には細胞外 ATP および細胞外への K^+の流出、加えて CagA による ROS や PLCγ1 を介した細胞内シグナルにより NLRP3 inflammasome を活性化していることを示した。

第 4 章では免疫沈降法により CagA が NLRP3 inflammasome 複合体と会合性を示すこと、CagA と NLRP3 は会合するが NLRC4 は会合しないことを示した。また共焦点レーザー顕微鏡を用いて、細胞内で CagA と NLRP3 が共局在することを示した。そして CagA が NLRP3 の LRR ドメインに会合することが、NLRP3 inflammasome を介する IL-1β 産生に重要であることを示唆する結果が得られた。

第 5 章では CagA は組み換えタンパク質を用いて、CagA と NLRP3 は直接的に結合し、NLRP3 の ATPase 活性を増強させることを示した。加えて、CagA の C 末端領域にある CM motifs が NLRP3 inflammasome の活性化に重要であることを示した。

以上、本研究は CagA は NLRP3 に直接的に認識されていることを見出した。そして CagA と結合した NLRP3 は多量体形成し、ASC と procaspase-1 を含む NLRP3 inflammasome 複合体形成が生じることで IL-1β が産生されることを示唆された。これらの結果は炎症と胃癌発症に関連する、ピロリ菌の CagA による宿主の細胞内シグナルの異常調節メカニズムを示すものである。これにより、ピロリ菌感染特異的な IL-1β 産生を抑制することで、胃癌発症の新たな予防法の開発につなげていきたい。