

---

---

シンポジウム

---

---

『*Helicobacter pylori* 感染症』・その基礎と臨床

*Helicobacter pylori* Infection: Its Basic and Clinical Aspects

第 664 回新潟医学会

日 時 平成 22 年 12 月 11 日 (土) 午後 1 時から  
会 場 新潟大学医学部 有壬記念館

司 会 青柳 豊教授 (第三内科), 山本達男教授 (細菌学)  
演 者 太田美智男 (椋山女学園大学), 山本達男 (細菌学), 八木一芳 (新潟県立吉田病院)  
佐藤祐一 (第三内科)

1 突発性血小板減少性紫斑病と *H. pylori* 感染

太 田 美智男  
椋山女子学園大学

## 2 電子顕微鏡でみた *Helicobacter pylori* 感染症（蛋白漏出性胃症など）

山本 達男・高野 智洋・西山 晃史・Wei-Chun Hung・Ivan Reva

新潟大学大学院医歯学総合研究科 国際感染医学講座  
細菌学分野（細菌学教室）

### Electron Microscopic Study of *H. pylori* Infection (Particularly Protein - losing Gastropathy)

Tatsuo YAMAMOTO, Tomomi TAKANO, Akihito NISHIYAMA, Wei-Chun HUNG and Ivan REVA

Division of Bacteriology, Department of Infectious Disease Control and International Medicine,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

#### 要 旨

*Helicobacter pylori* は家族（親子）感染をコアとして、世界の人口の推定 50 % の胃粘膜に感染してきた。日本では母子感染と父子感染を認める。小児の場合、除菌後に親から再感染を受けることがある。*H. pylori* には強毒株 [例：*cagA* (EPIYA-ABD), *vacA* (s1/m1)] と弱毒株 [例：*cagA* 陰性, *vacA* (s2/m2) あるいは *cagA* (EPIYA-ABC), *vacA* (s2/m2)] が存在する。新潟を含む日本には前者が分布。本研究では、強毒株による家族内感染で小児が蛋白漏出性胃症を発症した事例を解析した。除菌治療で改善したことから、本症と *H. pylori* 感染との関連が強く示唆された。この症例では、小児だけに typeIV 分泌システム (*cagA*) が原因となって起こる特異な感染像（台座形成）が異常に多く見いだされた。また小児に OCRL1 遺伝子変異 [Arg318Cys (CGC → TGC)] を認めた。台座形成は、*H. pylori* 因子（候補：*cagA*）と宿主側要因（候補：OCRL1 変異）が決定づける病変であった。蛋白漏出性異常が、*H. pylori* による膜障害に関連する可能性がある。

キーワード：*Helicobacter pylori*, 病原型, 蛋白漏出性胃症, 小児, 電子顕微鏡解析

#### はじめに

*Helicobacter pylori* は胃という過酷な環境に定着、そこで生存するために 4 つの特徴をもつ。①強いウレアーゼ活性をもっていて、胃酸抵抗性を示す。②胃粘膜にくっつく強い粘着能力をもつ。③菌体がらせん形で、片方の菌端に 4～6 本の鞭毛をもち、回転しながら秒速 70 μm もの高速で運

動、胃の粘膜上を動き回る。さらに、④胃上皮細胞を傷害するタンパク質 (CagA) と毒素 (VacA) を産生する。

*H. pylori* の感染経路は経口で、家族（親子）感染をコアとする。感染は 2 歳までに成立すると言われ、小児期の感染の多くは生涯にわたる。この結果、世界の人口の推定 50 % が感染していると云った現実を作りあげてきた。しかし近年では、

Reprint requests to: Tatsuo YAMAMOTO  
Division of Bacteriology Department of Infectious  
Disease Control and International Medicine  
Niigata University Graduate School of Medical  
and Dental Sciences  
1-757 Asahimachi - dori Chuo - ku,  
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757  
新潟大学大学院医歯学総合研究科国際感染医学講座  
細菌学分野 山本 達男

感染状況は経済状態, 生活習慣, 年齢により異なる。一般に開発途上国では小児期から成人にわたって高率で, 先進国の場合には高齢者で高いこともあるが, 青年や小児では低率となった。

*H. pylori* 感染<sup>1)2)</sup> は胃炎, 消化性潰瘍 (胃潰瘍, 十二指腸潰瘍), 胃 MALT リンパ腫と強く関連する。胃癌の細菌性リスク因子でもある。また, 消化管以外の疾患として, 突発性血小板減少性紫斑病と小児の鉄欠乏性貧血との関連が指摘されている。*H. pylori* 感染症に対しては除菌治療を基本とする<sup>1)2)</sup>。一方で, 病原菌 *H. pylori* を除菌治療することで起こる病気 (逆流性食道炎) も注目されている。

### 電子顕微鏡の世界

胃粘膜の生検組織を得, 粘膜を被う粘液層を除いた後に電子顕微鏡で観察すると, 感染に関する知見 (感染像) が得られる (図1)。走査型電子顕微鏡 (SEM) では感染様式を表面からみる。多数の *H. pylori* の感染様式を一度にみることができるが, 内部の詳細は分かりづらい。透過型電子顕微鏡 (TEM) は, *H. pylori* による上皮細胞障害を

内部からより詳細に説明する像を与えるが, 多数の *H. pylori* を観察するには手間がかかる。本研究では SEM と TEM を駆使して, *H. pylori* 感染の謎にせまる。なお, 電子顕微鏡像は白黒である。

### 日本での親子感染

分離した *H. pylori* の DNA を調べることで (例えば ribotyping 法によって), 家族内感染を追跡することができる<sup>3)</sup> (図2)。一般に理解されているように母子感染が日本でも起きている。その上で, 父子感染を認めることがある。父子感染の場合には, “緊密な間柄” が注目される。父親の濃厚感染が原因となるのかもしれない。また患者が小児の場合には, 除菌後に家族内で再感染が発生することがある。

### 病原性因子とタイプIV分泌システム

病原性因子と関連遺伝構造で最もよく研究されてきたのが, そして病原型別として利用されてきたのがタイプIV分泌システム (T4SS) と関連した CagA タンパク質 (遺伝子 *cagA*), そして VacA

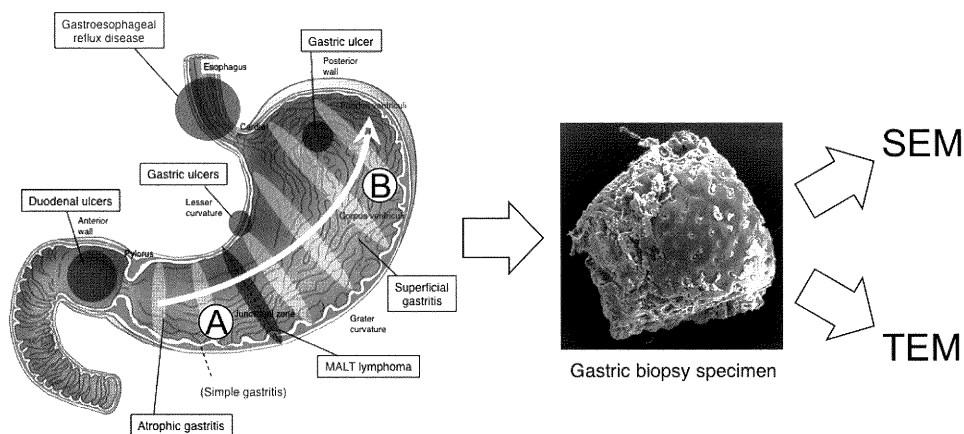


図1 *H. pylori* 感染の電子顕微鏡解析  
SEM, 走査型電子顕微鏡 (解析); TEM, 透過型電子顕微鏡 (解析)

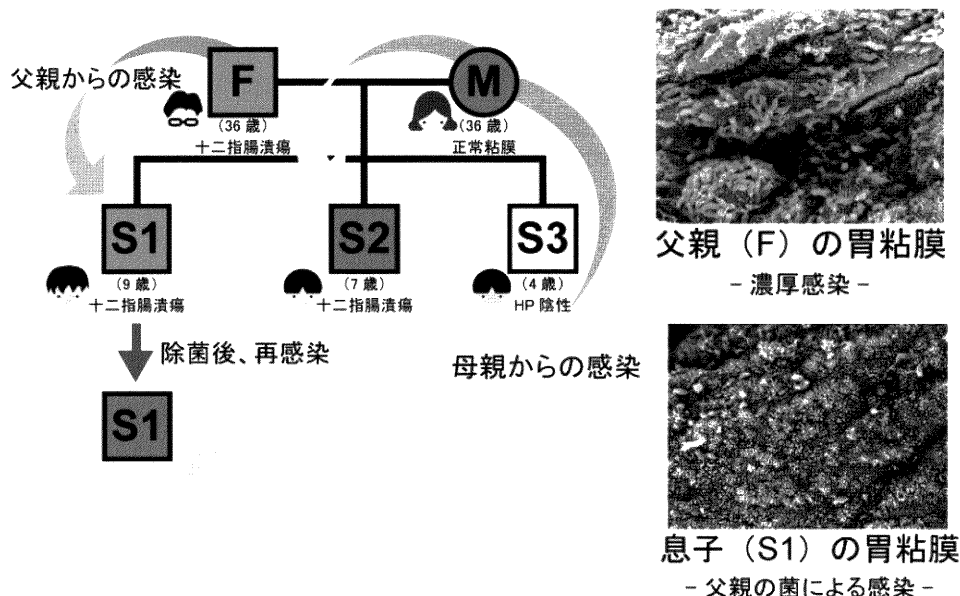


図2 *H. pylori* 家族内感染と小児感染  
文献3を改変

毒素（遺伝子 *vacA*）である。

T4SSはCagAを含む分泌タンパク質を胃上皮細胞内に注入する装置一式のことで、遺伝子領域は染色体上の挿入配列 *cagPAI* である<sup>4)</sup>。*cagPAI*は長さ40 kbで、両端を31 bpの反復配列で挟まれており、内部に*cagA*を含む32個の*cag*遺伝子群をもつ。

CagAは120 kDaの巨大タンパク質で、1989年頃に胃炎や消化性潰瘍への関連が証明された。上皮細胞内に注入されたCagAはシグナル伝達系を修飾、タイトジャンクションを破壊するとともに（図3A, B）、細胞増殖を異常に亢進する<sup>5)</sup>（図3A）。CagAのC末端よりあるEPIYAチロシンリン酸化モチーフの配列型と反復が、病原性（特に胃癌）との関連で、また地域特異性（分布）の指標として特に注目されている<sup>6)–8)</sup>。EPIYA-Cはヨーロッパ、米国、オーストラリアなどに分布するので、欧米型（Western CagA）と呼ばれ、EPIYA-Dは中国、韓国、日本を含む東アジアに分布するので、東アジア型（Eastern CagA）と呼

ばれる。後者は胃癌発症率の高い地域型である。なお、EPIYA-ABは地域に共通。ただし、極東ロシアにも胃癌が存在して注目されているが、CagAのEPIYAモチーフは欧米型（EPIYA-ABC）であった<sup>9)</sup>。日本（新潟など）に分布する*H. pylori*はほぼすべて*cagA*陽性で、EPIYA-ABD優性である<sup>9)</sup>。欧米や極東ロシアには*cagA*陰性株（弱毒株）も分布する。

VacAは、細胞内に多数の空胞を生じさせて（空胞化して）死滅させる毒素である。VacA活性と消化性潰瘍や胃癌との関連が指摘されている。*vacA*遺伝子産物は140 kDaの巨大な前駆体で、N末端側に内膜通過のためのシグナルペプチドをもち、C末端側には外膜通過のための分泌領域が存在する。成熟毒素として働くのは中央部分から作られるAとBの2つのサブユニットからなる巨大なオリゴマーである。*vacA*はほぼすべての*H. pylori*がもつ。ただし、シグナルペプチド領域にS1とS2型が、中央領域にはm1とm2型が存在し、s1/m1は高病原型、s2/m2は非活性型

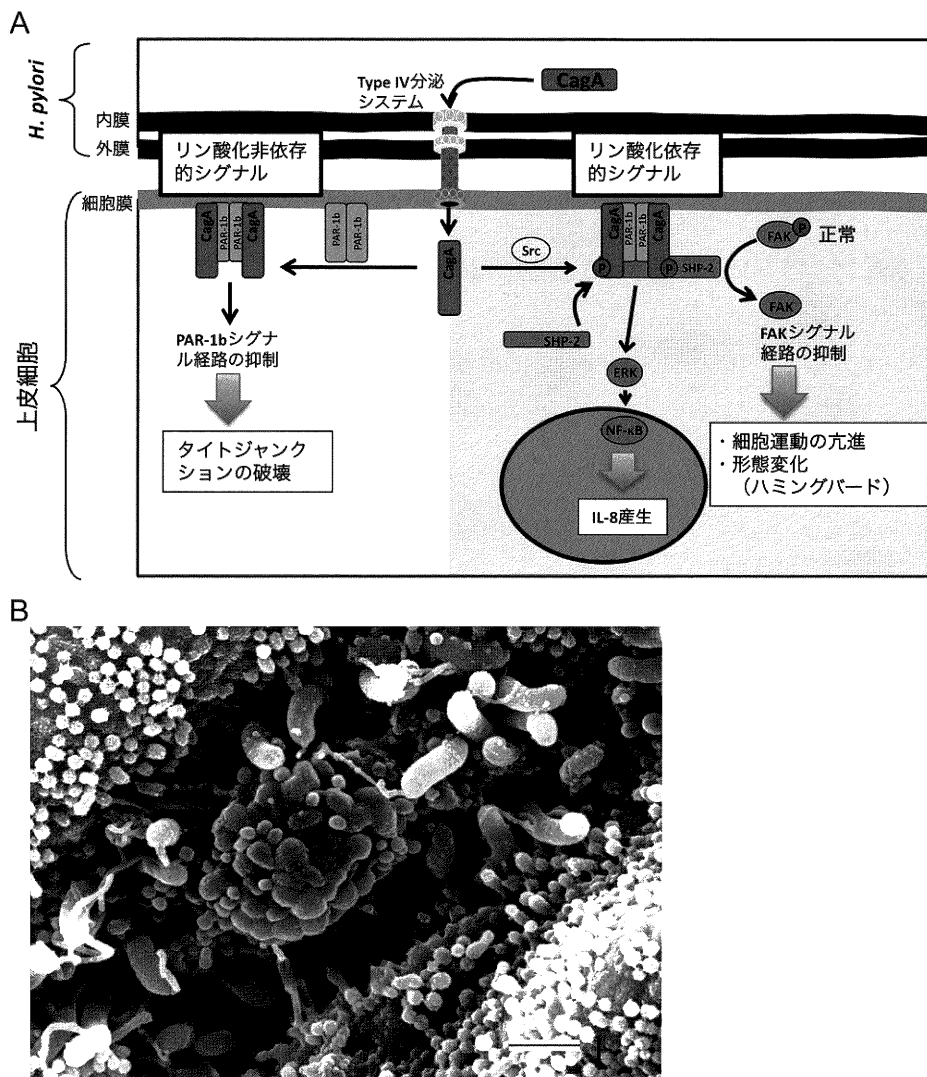


図3 タイプIV分泌システムによるCagA蛋白の上皮細胞内注入とCagAによるシグナル伝達系の修飾  
 (A) シグナル伝達系の修飾は文献5を改変。  
 (B) *H. pylori*によるタイトジャンクションの破壊を示すSEM像—この像は「出現した細胞間隙間に*H. pylori*が群がり、血漿由来成分(尿素など)を吸い取っている」とも解釈される。Bar, 1  $\mu$ m.

(VacA 非産生型)で, s1/m2は中間型(低活性型)と理解されている<sup>10)</sup>。なお, s領域とm領域の間にi領域(i1, i2型)を提案する報告がある。

#### 小児蛋白漏出性胃症での特異な感染像

5歳の男児(患者), 36歳の父親, 32歳の母親に, 同一*H. pylori*による家族内感染を認めた。父親と母親の内視鏡所見は慢性胃炎。*H. pylori*の遺伝型はcagA (EPIYA-ABD), vacA (s1/m1)。父

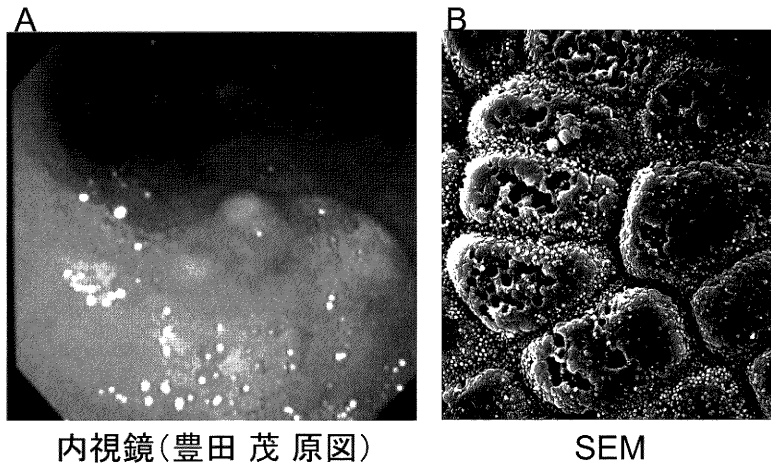


図4 小児蛋白漏出性胃症の内視鏡所見 (A) と走査型電子顕微鏡所見 (B)

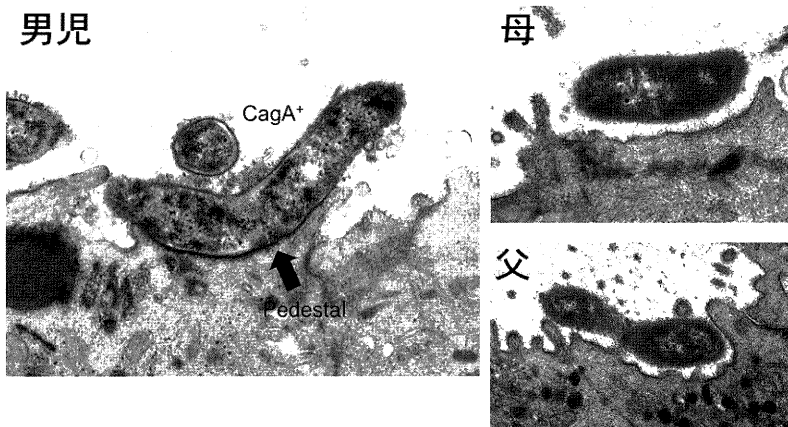


図5 小児蛋白漏出性胃症を患った小児と両親（慢性胃炎）から得た胃生検組織の走査型電子顕微鏡解析  
Pedestal, 台座. 台座は CagA によって形成され则认为られている. 小児と両親は同一  
*H. pylori* [*cagA* (EPIYA-ABD), *vacA* (s1/m1)] の感染を受けている.

方祖父は胃癌で死亡.

男児は3歳児検診で蛋白尿を指摘され, 突発性尿細管性蛋白尿症 (Dent 病) と診断された. 遺伝子診断では, Dent 病の主な責任遺伝子 (X 染色体, Xp11.22 領域の *CLCN5*) は正常で, 関連することがある *OCRL1* 遺伝子 (Lowe 症候群の責任遺伝子) に変異を認めた [Arg318Cys (CGC →

TGC)]. 母親の両遺伝子は正常.

男児は5歳時に, 全身性浮腫, 腹痛, 発熱で入院. 血液検査で低蛋白血症を, 内視鏡検査で胃体部に多数の蛋白栓を認めた (図4A). 診断は蛋白漏出性胃症. *H. pylori* は陽性. 除菌治療後, 11歳時の内視鏡検査で蛋白栓はほぼ消失, 血清総蛋白量も改善した.

5歳時の生検組織のSEMでは、分泌物に被われた異常な粘膜上皮が観察された(図4B)。*H. pylori*は分泌物に被われてしまったのか、極めてまれにしか観察されなかった。TEMでは、さらに異常な*H. pylori*感染像が観察された(図5)。感染*H. pylori*の殆ど(約85%)が台座形成(pedestal formation)陽性で、肥厚した細胞膜に粘着していた。両親の感染粘膜には台座形成像はまれで、男児のような典型的な像は解析した限り認めなかった。

蛋白漏出性胃症と*H. pylori*感染の関係はまだ確立されていないが、本症例は*H. pylori*起因説<sup>11)12)</sup>を支持する成績である。感染していた*H. pylori*は強毒型[*cagA* (EPIYA-ABD), *vacA* (s1/m1)]であった。台座形成は*H. pylori*のT4SS(CagA)が原因である。しかし本症例では、宿主側要因(候補: OCRL1 遺伝子変異)が台座形成を決定づけていた。この膜障害が蛋白漏出を惹起した可能性がある。発症メカニズムの解明にはさらに研究が必要である。本症例は豊田 茂病院長(神奈川県立汐見台病院)との共同研究である。

## 文 献

- 1) Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N and Kuipers EJ: Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. Gut. 56: 772-781, 2007.
- 2) Asaka M, Kato M, Takahashi S, Fukuda Y, Sugiyama T, Ota H, Uemura N, Murakami K, Satoh K and Sugano K: Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection in Japan: 2009 revised edition. Helicobacter. 15: 1-20, 2010.
- 3) Taneike I, Tamura Y, Shimizu T, Yamashiro Y and Yamamoto T: *Helicobacter pylori* intrafamilial infections: change in source of infection of a child from father to mother after eradication therapy. Clin Diagn Lab Immunol. 8: 731-739, 2001.
- 4) Fischer W: Assembly and molecular mode of action of the *Helicobacter pylori* Cag type IV secretion apparatus. FEBS J. 278: 1203-1212, 2011.
- 5) Hatakeyama M: *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. J Gastroenterol. 44: 239-248, 2009.
- 6) Backert S, Tegtmeyer N and Selbach M: The versatility of *Helicobacter pylori* CagA effector protein functions: The master key hypothesis. Helicobacter. 15: 163-176, 2010.
- 7) Hatakeyama M: Anthropological and clinical implications for the structural diversity of the *Helicobacter pylori* CagA oncoprotein. Cancer Sci. 102: 36-43, 2011.
- 8) Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K, Graham DY and Sepulveda AR: Variants of the 3' region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* isolates from patients with different *H. pylori*-associated diseases. J Clin Microbiol. 36: 2258-2263, 1998.
- 9) Reva I, Takano T, Higuchi W, Iwao Y, Taneike I, Nakagawa S, Ike M, Pererva O, Tarankov A, Agapov M, Rzhikov E, Singur O, Reva G, Potapov V and Yamamoto T: Virulence genotypes and drug resistance of *Helicobacter pylori* from Vladivostok, Russia: another feature in the Far East. Microbiol Immunol. 56: 198-202, 2012.
- 10) Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, Blaser MJ and Cover TL: Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. J Biol Chem. 270: 17771-17777, 1995.
- 11) Bayerdörffer E, Ritter MM, Hatz R, Brooks W and Stolte M: Ménétrier's disease and *Helicobacter pylori*. N Engl J Med. 329: 60, 1993.
- 12) Bayerdörffer E, Ritter MM, Hatz R, Brooks W, Ruckdeschel G and Stolte M: Healing of protein losing hypertrophic gastropathy by eradication of *Helicobacter pylori* — is *Helicobacter pylori* a pathogenic factor in Ménétrier's disease? Gut. 35: 701-704, 1994.