

主 論 文

Enhanced Expression of CXCL13 in Human *Helicobacter pylori*-associated Gastritis

ヘリコバクター・ピロリ関連胃炎における CXCL13 の発現亢進  
中島 悠史郎、磯本 一、松島 加代子、吉田 亮、中山 敏幸、中山 真彰、  
久恒 順三、市川 辰樹、竹島 史直、林 徳眞吉、中尾 一彦、平山 壽哉、  
河野 茂

Digestive Diseases and Sciences 56 巻 10 号 2887-2894 2011 年

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻  
(主任指導教員：泉川 公一教授)

緒 言

*H. pylori* は多くのヒトに見られる感染症の一つで、胃粘膜上皮に感染し、粘膜層への好中球や単核球の浸潤により慢性胃炎を発症させる。また、特異的な抗体を産生し液性免疫、細胞免疫が生じても多くの場合には感染が終生持続し、その機序はまだ完全に解明されていない。

ケモカインはサイトカインの一種であり、特異的なレセプターとの結合を介して、種々の細胞を組織に誘導する特徴を有し、*H. pylori* 関連胃炎 (HAG) を含む様々な炎症免疫及び感染症の病態に重要な役割を果たしている。*H. pylori* の持続感染は異所性粘膜関連リンパ組織 (MALT) を形成せしめる。

CXCL13 は CXC サブタイプの一つであり、自身のレセプターである CXCR5 と結合することにより、主に B リンパ球或いは T リンパ球を濾胞領域に誘導する役割を果たしている。CXCL13 の異常発現は慢性炎症性疾患と関連し、本研究では、*H. pylori* 感染及び非感染胃粘膜において CXCL13 の発現を検討して HAG との関連性を調べた。

対象と方法

2006 年 6 月から 2009 年 12 月の期間中に内視鏡検査が施行された dyspepsia を呈する外来患者を対象とし、内視鏡下に胃前庭部より 5 か所の生検を行い、2 つは凍結切片として CXCL13 量の測定を、2 つは凍結切片として CXCL13 mRNA 定量を、1 つはパラフィン固定後、病理組織学的、免疫組織学的解析に供した。

組織学的検査として、固定した組織から 5  $\mu$ m の切片を作成し、HE 染色を行った。updated Sydney system により好中球及び単核球浸潤の程度、腺萎縮、腸上皮化生の程度を 0-3 の 4 段階で評価した。ギムザ染色により上皮への *H. pylori* 定着の程度を 0-3 の 4 段階で評価した。

組織内の CXCL13 蛋白質量の測定は ELISA 法により、CXCL13 RNA 量はリアルタイム RT-PCR (TaqMan プローブ法) により定量した ( $\beta$  actin を内在コントロールとした)。CXCL13、CXCR5、CD20、 $\alpha$  SMA 抗体を用いて免疫染色を行った。

*H. pylori* 感染の診断は迅速ウレアーゼ法とギムザ染色にて行い、除菌判定は尿素呼

気試験の陰性をもって判定した。

In vitro *H. pylori* の感染実験は、ヒト胃癌細胞株 AZ-521・MKN74・AGS を用いて *H. pylori* ATCC 49503 株を 100:1 で感染させ、RNA を抽出後、リアルタイム RT-PCR にて CXCL13 及び  $\beta$  アクチンの mRNA 定量を行った。

## 結 果

51 名(男性 31 名)中 29 名が *H. pylori* 感染者であった。胃粘膜内の CXCL13 量は、*H. pylori* 感染者において有意な上昇を認めた。粘膜内 CXCL13 量と単核球浸潤の程度、*H. pylori* の定着の程度との間に有意な相関を認めたが、好中球浸潤や腺萎縮、腸上皮化生とは相関を認めなかった。*H. pylori* 感染胃炎に伴うリンパ濾胞の有無と CXCL13 発現の程度に有意差は認めなかった。除菌治療が施行された 12 名のうち、11 名で除菌成功し、CXCL13 量は除菌後に低下した。

*H. pylori* 感染胃粘膜における CXCL13 mRNA の発現量は非感染者と比較して有意な上昇を認め、*H. pylori* の定着の程度と有意な相関を認めた。

免疫組織学的に、CXCL13 は *H. pylori* 感染者では粘膜固有層内に発現を認めたが、上皮内では検出されなかった。 $\alpha$  SMA 陽性細胞の分布局在と CXCL13 発現が一致しており、CXCR5 は CD20 陽性 B 細胞に発現していた。

In vitro *H. pylori* の感染実験で、CXCL13 mRNA は胃上皮由来細胞株では発現していなかった。

## 考 察

*H. pylori* 感染によりヒト胃粘膜内で CXCL13 の合成・分泌が増加していると考えられた。CXCL13 のリガンド CXCR5 がリンパ濾胞を中心に主に B 細胞に発現しており、CXCL13/CXCR5 を介した慢性炎症細胞浸潤が HAG の病態に関与していることが示唆された。

免疫組織学的には CXCL13 は胃上皮では産生されておらず、*H. pylori* 感染胃粘膜では、 $\alpha$  SMA 陽性間葉系細胞が CXCL13 産生源になっていると考えられた。