

課程博士論文の内容の要旨

DE 9702 氏名 和田真太郎

論文題名 Helicobacter pylori 感染症の

分子生物学的解析に関する研究

主査 松田基夫教授

副査 福山正文教授

本田政幸教授

伊藤武客員教授

Helicobacter pylori は、胃炎や胃潰瘍などの各種胃疾患の原因菌であり、胃ガンとの関係も示唆され、注目されている新興感染症の病原体である。

しかし、感染経路、病気を惹起する機序、および菌の生態や感染実態など不明な点が多く残されている。そこで各種胃疾患の患者を対象に *H. pylori* の検出を行い、本菌の検出状況、本感染症の検査室診断法の検討、薬剤感受性試験法の検討、そして分離菌株の薬剤感受性試験を行った。また、分子疫学を目的とした遺伝子解析を行い、*H. pylori* 感染症の感染実態について検討した。

各種胃疾患の患者について、胃の生検材料から *H. pylori* の検出を試みた結果、1993年から1998年の6年間に患者556人中427人(76.8%)から *H. pylori* が検出された。次に、*H. pylori* 感染症の簡易、迅速診断法であるウレア呼気試験および迅速ウレアーゼ試験を行い、培養による *H. pylori* 検出法と比較検討した。その結果、ウレア呼気試験と培養法では93.4%、迅速ウレアーゼ試験と培養法では86.2%の相関が得られ、これら簡易、迅速診断法が有用であることが明らかとなった。しかし、これら簡易、迅速診断方法にはそれぞれ長所・短所が存在し、あらゆる面で優れた方法は現在のところ未

だ存在しない。そのため可能な限り複数の方法を併用することが適切かつ迅速な診断および治療に必要であると結論された。

各種胃疾患の治療法の一つとして、*H. pylori* に感染している事が確認された場合には、本菌の除菌が試みられている。その場合プロトンポンプ阻害剤と 2 種類の抗生物質、主にアモキシシリンおよびクラリスロマイシンを用いる三剤併用療法が最も多く使われている。しかし、最近クラリスロマイシン耐性株の出現が多く報告されてきており、この耐性株の出現が除菌の不成功の原因の一つと推定される。そこで各種胃疾患の患者より分離された *H. pylori* を対象に各常用抗生物質に対する耐性株の出現状況について検討した。

最初に、薬剤感受性試験法について寒天平板希釈法、E-test、および微量液体希釈法の比較を行った結果、微量液体希釈法であるドライプレートが最も適した方法であることが明らかとなった。また、分離株 393 株を対象に耐性株の出現状況について検討した結果、クラリスロマイシン耐性株が 22.0% およびメトロニダゾール耐性株が 21.7% 認められた。また、耐性株が増加傾向にある事が示唆された。

ヒト胃内に感染・定着後の *H. pylori* の感染実態を解明するために AP-PCR 法により分離株を DNA レベルで検討した。同一患者由来株、長期感染者由来株、および再発患者由来株について検討した結果、同一患者由来株、および長期感染者由来株では大部分の事例において、薬剤に対する感受性に関わらず、同一患者では同一の AP-PCR パターンを示したことから、これら患者は単一クローン由来の *H. pylori* に感染していることが示唆された。しかし、再発患者由来株の検討では、初発と再発からの *H. pylori* 分離株が異なる AP-PCR パターンを示したことから、新たに *H. pylori* に感染したと考えられる事例、あるいは初発時に複数の *H. pylori* 菌株に感染しており、そのうちのクラリスロマイシン耐性株のみが再発時に検出された事例が認められた。すなわち、*H. pylori* は一度胃内に感染・定着すると長期間感染を続け、抗生物質による除菌治療を行っても同一菌株が残存する可能性がある事が明らかとなった。この様に *H. pylori* の感染実態は複雑であり、さらに詳細な検討が必要であると示唆された。

各種胃疾患の患者から分離された *H. pylori* の常用抗生物質に対する耐性株の出現、特にクラリスロマイシンに対する耐性株が、本菌感染症の治療法である除菌の不成功に大きく関係していることが明らかとなった。そこで本菌のクラリスロマイシン耐性機構である 23S rRNA の点突然変異について、PCR-RFLP 法を用いて解析を行った。治療の前後でクラリスロマイシン感受性株と耐性株が検出された患者 13 名由来の 26 株（感受性株 13 株および耐性株 13 株）について検討した結果、感受性 13 株では点突

然変異は検出されなかったが、耐性 13 株中 12 株で異なる 2 種類の点突然変異が検出され、1 株は検出されなかった。さらに、AP-PCR 法による解析結果から、除菌治療によって同一クローン由来株が点突然変異を起こすことが確認された。

以上、本研究で *H. pylori* の感染状況、耐性株の出現状況、DNA レベルでの感染実態、そして耐性獲得の様式を明らかにした。しかし、*H. pylori* の感染経路については未だ不明のままである。また、抗生物質を用いた除菌治療に伴う耐性株の増加、そして除菌不成功の原因の一つである耐性株の問題などが残されている。これら残された問題に対する今後の研究の必要性が強く示唆された。