

## 兵庫県COEプログラム推進事業 研究結果概要

### 研究プロジェクトの概要

|             |  |
|-------------|--|
| 研究プロジェクト名   | <i>Helicobacter heilmannii</i> 感染症における新規包括的診断システムの開発 |
| 代表機関        | シスメックス株式会社   |
| 共同研究チーム構成機関 | 国立大学法人神戸大学、シスメックス株式会社、イーストマン株式会社                     |
| 研究分野        | 健康・医療分野  |

### 研究結果の概要

#### 【 研究プロジェクトの概要、特色】

*H. heilmannii* は、ヒト胃 MALT リンパ腫発症への関与が強く示唆されているにもかかわらず、これまでこの菌の培養法が確立されていないことから、臨床疫学的、および、検査・診断法等の開発にかかわる研究が立ち遅れている。そこで、本研究プロジェクトでは、*H. heilmannii* のゲノム DNA の解読をはじめとする基礎研究による、生物学的特性、疾患病態生理の把握を行い、得られた情報に基づいて PCR 法、免疫染色法、ELISA 法を包括した新規診断システムの開発を目指す。

#### 【 研究の成果】

本研究プロジェクトにおける平成 21 年度の研究成果であった *H. heilmannii* のゲノム情報に基づいて、平成 22 年度には、まず、*H. heilmannii* 特異的 PCR プライマーを作製した。続けて、この PCR プライマーを用いた PCR システムを構築し、食用ブタ胃サンプルを用いた実験、ならびに、*H. heilmannii* 感染マウスモデル実験により、この *H. heilmannii* 感染診断 PCR システムの有用性を明らかにした。さらに、ゲノム解析の結果を用いて、*H. heilmannii* 由来の His タグウレアーゼ組換えタンパク質を大腸菌にて発現させるシステムを確立した。この組換えタンパク質の抗原性をウエスタンブロッティング法により確認するとともに、組換えタンパク質を抗原として用いた ELISA システムを構築できた。この ELISA システムの有用性は、*H. heilmannii* 感染マウスの血清を用いることで明らかにした。また、大腸菌を用いて GST タグウレアーゼ組換えタンパク質も発現させ、その組換えタンパク質をカラム等により精製後、ラットに免疫することで *H. heilmannii* 菌特異的モノクローナル抗体の作製に成功した。

#### 【 本格的な研究への展開】

まず、マウスモデルにおける *H. heilmannii* 感染診断システム、すなわち、PCR 法、ELISA システム、免疫組織染色法といった複数の感染診断法を確立し、それぞれの有用性を、N 数を増やして確認する。具体的には、以下の 3 項目についてのシステムの確立を行う。

- (1) 胃粘膜組織を用いた *H. heilmannii* 菌特異的 PCR 検出システムの確立
- (2) 胃粘膜組織切片を用いた *H. heilmannii* 菌特異的免疫染色システムの確立
- (3) 血清を用いた *H. heilmannii* 菌特異的感染診断システムの確立

さらに、有用性が確認された感染診断法によって、ヒトや愛玩動物の血清や胃粘膜組織サンプルを用いての有用性を証明する。ヒトにおいては、全例、上部消化管内視鏡検査を通じて胃粘膜組織を採取する予定であり、胃 MALT リンパ腫を含む上部消化管疾患の有無、年齢、性別などの臨床的背景を加味することにより、疾患別、背景別の *H. heilmannii* 感染の実態を明らかにする予定である。

#### 【 今後の事業化に向けた展開】

- (1) 研究開発の最終的な目標：本申請プロジェクトが終了して *H. heilmannii* 感染診断法確立後、共同研究開発機関で臨床研究開発を行う予定である。
- (2) 事業化・製品化の目標：本プロジェクトが完了し、また数年間で臨床試験まで進めた後、数年間（出来れば 5 年以内）でヒト、愛玩動物の *H. heilmannii* 感染症の包括的診断キットの製品化を実施する。

#### 【 地域的波及効果】(技術基盤強化等の効果、地域社会・経済発展への寄与)

本申請により適切な検査法が開発され、また、同時に *H. heilmannii* とヒト悪性リンパ腫の因果関係が明らかになった場合は、*H. heilmannii* 感染の重要性が認識され、本邦のみならず世界規模の市場において本検査法が広く用いられることが推察される。本検査法の商品化は神戸市に本社を置き、検体検査領域のグローバルトップ 10 に入る唯一のアジア企業であるシスメックス株式会社が行うが、製造、ならびに、国内外への輸送を通して、地域への経済効果が十分に期待される。