

マイコプラズマのがん感染性因子としての重要性の解明

愛知県がんセンター研究所・感染腫瘍学部
研究員・疋田 智也

1. 背景・目的

がんの発生や悪性化には様々な遺伝・環境要因が関与しているが、その一因としてウイルスや細菌、寄生虫などの感染が挙げられる。このような感染を背景とする感染がんは、ヒト全癌死亡の約20%を占めると考えられている。感染性因子の除去により発がんプロセス進展阻止が可能ながんであるため、がん感染性因子の同定及び詳細な発がん・がん進展機構の解明は、がん治療や予防の観点から極めて重要である。実際、ヘリコバクター・ピロリ菌と胃がん、パピローマウイルスと子宮頸がんなどの関連性が証明され、抗生物質やワクチンなどによる感染因子の排除が広く臨床に応用されている。

我々はこれまでに、マイコプラズマ (*M. hyorhinis*: マイコプラズマ・ハイオリニス) 感染が増殖因子 HB-EGF の発現亢進を介してがん悪性化に関与すること、独自に作製したポリクローナル抗体を用いた組織染色でヒト卵巣がん及び胃がんが陽性例が確認されること、さらにマイコプラズマ感染領域において HB-EGF が高発現していることを見出している。しかしながら、組織染色解析に用いたマイコプラズマ抗体は高いバックグラウンドを示すことから、感染評価が困難であった。マイコプラズマのがん感染性因子としての重要性を証明するには、優れたマイコプラズマ抗体を用いた詳細かつ大規模な組織染色解析が必要であると考えられる。また、感染経路および感染動態を解明することも、がんとマイコプラズマを結びつけるエビデンスとして必要不可欠である。そこで本研究では、組織染色能に優れたマイコプラズマモノクローナル抗体の作製を行うとともに、マウスモデルによる感染動態を解明するため、発光マイコプラズマ株を樹立することを目的とした。

2. 方法

(1) マイコプラズマモノクローナル抗体の作製

以前、マイコプラズマの Mp37 組み換えタンパク質を抗原としたポリクローナル抗体を自作した。この抗体はマイコプラズマに対して高い特異性を示すが、バックグラウンドが出てしまうという欠点があった。そこで今回は、PPL0 培地で純培養したマイコプラズマをパ

ラホルムアルデヒドで固定したものを抗原とし、腸管リンパ節法によりマウスへ免疫を行った。ハイブリドーマを作製し、マイコプラズマ感染細胞を固定化したプレートおよび Mp37 組み換えタンパク質を固相化したプレートを用いて特異抗体のスクリーニングを行った。

(2) 発光マイコプラズマ株の樹立

ルシフェリンなどの基質の添加なく自家発光可能な luxABCDE オペロンをマイコプラズマゲノム上に挿入するため、pAUL-A Tn4001 luxABCDE ベクターをエレクトロポレーションによりトランスフェクションした。また、バクテリア膜上に存在する陰イオンリン脂質をラベル可能な近赤外蛍光試薬 XenoLight Bacterial Detection Probe 750 を用いて、マイコプラズマと共培養することにより標識を試みた。

3. 結果・考察

(1) マイコプラズマモノクローナル抗体の作製

マイコプラズマ菌体を免疫することにより、8クローンの特異的抗体産生細胞を取得することができた。これらの抗体は、マイコプラズマ感染細胞に高い反応性を示し、非感染細胞ではほとんど反応性を示さなかった。また興味深いことに、これらの抗体はいずれも Mp37 タンパク質に強い反応を示した。菌体を免疫原として作製した抗体がいずれも Mp37 タンパク質を認識することから、Mp37 は強い免疫原性を有していることが推察される。

(2) 発光マイコプラズマ株の樹立

pAUL-A Tn4001 luxABCDE ベクターを用いる方法では標識したマイコプラズマ菌体を得ることができなかったが、XenoLight Bacterial Detection Probe 750 を用いることでマイコプラズマの標識に成功した。

4. 展望

本研究により、S/N 比および特異性の高いマイコプラズマ抗体を得ることに成功した。現在、多数のヒト腫瘍組織を染色する準備をしているところであるが、今回得られた抗体により詳細な感染割合や、感染部位の特定を行うことができると期待している。また、現在標識したマイコプラズマ菌体を用いて、経口および経膈経路による感染動態の解析を行っている。解析ツールの準備が完了したため、これらを用いて腫瘍における感染の有無や感染部位の特定および感染動態の解明を行い、がんにおけるマイコプラズマ感染の関与について明らかとしていきたい。