

氏 名（本籍）	野 <sup>の</sup> 口 <sup>ぐち</sup> 哲 <sup>てつ</sup> 也 <sup>や</sup>
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 第 3116 号
学位授与年月日	平成 10 年 9 月 9 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当
最終学歴	平成 2 年 3 月 10 日 岩手医科大学医学部医学科卒業

学位論文題目	胃粘膜上皮の再生過程における細胞動態に関する 研究（長期アンモニア投与ラット酢酸潰瘍を用いた検討）
--------	--

（主 査）

論文審査委員	教授 豊 田 隆 謙	教授 名 倉 宏
	教授 松 野 正 紀	

# 論文内容要旨

## 背景

胃粘膜の恒常性維持や再生過程において細胞増殖とアポトーシスのバランスは重要な意義を持ち、そのバランスの破綻は種々の病態形成に多大な影響を与えている。

近年、消化性潰瘍をはじめとする種々の病態に *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) が深く関与しており、特に本菌が産生するアンモニアは、胃粘膜傷害や胃潰瘍治癒に影響を与える因子として重要視されている。

## 目的

本研究では、ラット胃粘膜における細胞動態と胃潰瘍治癒過程におけるアンモニアの影響について、細胞増殖とアポトーシスのバランスという観点からアンモニア投与モデルを作成し検討した。

## 研究方法

細胞増殖は Bromodeoxyuridine (BrdU) の免疫組織化学、アポトーシスは TdT mediated dUTP-Biotin nick end labeling (TUNEL 法) にて病理組織学的に検討し、更に、これらの二重染色法を用いて両者の関係を検討した。ラット胃粘膜における細胞動態については、ラット健常胃粘膜と 0.1% アンモニア水を 1, 3, 7 週間自由飲水させたラット胃粘膜標本を比較検討した。さらに、胃潰瘍治癒過程に対するアンモニアの影響については、0.1% アンモニア投与および非投与ラット酢酸潰瘍モデルを作成し、潰瘍作成後 1, 3, 7 週間 0.1% アンモニア投与した群と非投与群とで BrdU と TUNEL の Labeling index (LI) をそれぞれ比較検討した。

## 研究結果

ラット健常胃粘膜では、TUNEL 陽性細胞は胃粘膜管腔側端に多数認められ、BrdU 取り込み細胞は腺頸部に認められた。健常部胃粘膜における BrdU-LI と TUNEL-LI はほぼ同程度の値となっていた。健常部胃粘膜では、細胞増殖と細胞死のバランスがうまく調節されたものとなっており、粘膜の恒常性が維持されていると考えられた。一方、アンモニア投与により、胃粘膜における BrdU-LI と TUNEL-LI はともに健常胃粘膜に比べて有意に高値となっていた。アンモニアにより傷害された細胞がアポトーシスによって排除され、これに反応して細胞増殖が亢進してくるものと考えられた。

次に、胃潰瘍治癒過程における細胞動態を BrdU と TUNEL の二重染色法により検討した。酢酸潰瘍作成後 1 週間目は活動期の像を呈し、潰瘍辺縁部に BrdU 取り込み細胞の著しい増加を認められたが、TUNEL 陽性細胞はほとんど認められなかった。潰瘍作成後 2 週間目は潰瘍辺縁に幼弱な再生上皮が出現する治癒期の像を呈し、この領域で BrdU 取り込み細胞が多数認められた。一方、TUNEL 陽性細胞は潰瘍辺縁からやや離れた領域で腺管再生などがみられる分化成熟傾向を示し再生上皮部分の管腔側端に多数認められた。潰瘍作成後 4 週間目では、潰瘍底の大部分が再生上皮で覆われ、BrdU 取り込み細胞は減少傾向にあるもののまだ健常部に比べて多数認められ、TUNEL-LI 陽性細胞も再生腺管の管腔側端に多数認められた。8 週間目になると、BrdU 取り込み細胞と TUNEL 陽性細胞は健常粘膜と同程度になっていた。胃潰瘍治癒過程における BrdU-LI と TUNEL-LI を比較検討すると、BrdU-LI は潰瘍急性期でピークに達し、治癒傾向が進むにつれて減少していったが、TUNEL-LI は急性期では低値だが、治癒期になると増加し、癒痕期になると減少して健常粘膜と同程度になった。胃潰瘍の治癒過程では、細胞増殖亢進による上皮欠損の補充と再生上皮の分化成熟過程で不要となる幼弱な細胞の排除がバランスよく調節されているものと考えられた。

胃潰瘍治癒過程におけるアンモニアの影響に関して、潰瘍係数ではアンモニア投与群では非投与群に比べて、2 週間目、4 週間目で潰瘍係数が有意に高い値を示しており、アンモニアにより潰瘍治癒は遅延した。BrdU-LI と TUNEL-LI を比較検討すると、アンモニア投与群と非投与群との間で、潰瘍治癒の経過における BrdU-LI の推移に差異は認めなかったのに対して、アンモニア投与群では非投与群に比べて TUNEL-LI が有意に増加していた。胃潰瘍治癒過程において、アンモニアは再生上皮の細胞増殖には影響しないが、アンモニアにより傷害を受けて脱落する再生上皮が増加することが、胃潰瘍治癒の遅延を引き起こす原因と考えられた。

以上により、胃粘膜の恒常性の維持や胃潰瘍治癒過程の細胞動態には、細胞増殖とアポトーシスのバランスがとれていることが重要であり、アンモニアは胃粘膜の細胞動態や胃潰瘍治癒過程の細胞動態に影響を与える重大な要因のひとつであると考えられた。

## 審査結果の要旨

本研究は、消化性潰瘍の成因や治癒遅延の病態に *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) の関与が明らかとなってきたなかで、本菌が産生するアンモニアに着目し、胃粘膜傷害や胃潰瘍治癒に影響を与える因子としての重要性を明らかにすることを目的としたものである。とくに、本研究では、細胞増殖とアポトーシスのバランスという観点から、胃粘膜における細胞動態と胃潰瘍修復過程におけるアンモニアの影響について、アンモニア投与ラットモデルも作成し検討を行った。アンモニアが胃潰瘍治癒過程に如何なる影響を与えるかについて、胃潰瘍再生上皮の細胞増殖と細胞死のバランスの観点から検討したという報告はこれまでに全く行われていない。したがって、本研究の着眼点は独創的であり、本研究の成果は臨床的に問題となっている *H. pylori* 感染の胃粘膜障害機序を実験的に証明した点で重要な意義を有している。

本研究で用いられたアンモニア投与ラット酢酸潰瘍モデルは、モデル動物の個体数や観察期間も十分であり、コントロールを正しくおいた実験系である。アンモニア投与群として 0.1% アンモニアを自由飲水させているが、これは慢性動物実験に使用する濃度として文献的にも適切である。

本研究は、胃潰瘍再生上皮における細胞動態を検討するため、組織学的な検討が中心となっている。BrdU の免疫組織化学と TUNEL 法、さらに、両者の二重染色を行い同一組織切片上で細胞増殖とアポトーシスを検討している。この二重染色法はこれまで報告例が無く、実験方法としても新しい手技の開発に成功している。

研究結果としては、健常胃粘膜と潰瘍再生上皮に対する BrdU と TUNEL の Labeling index (LI) をそれぞれ比較検討している。アンモニア投与による胃潰瘍治癒過程への影響について、潰瘍計数の比較からアンモニア投与群で胃潰瘍の治癒遅延が起こることを明らかにし、BrdU-LI はアンモニア投与群と非投与群とで差異は認めなかったのに対して、TUNEL-LI はアンモニア投与群で非投与群に比して有意に増加していることを明らかにした。これらの結果より、胃潰瘍治癒過程において、アンモニアは再生上皮の細胞増殖には影響しないが、アンモニアにより傷害を受けて脱落する再生上皮が増加することが、胃潰瘍治癒の遅延を引き起こす原因であると結論付けている。

結果より導かれる結論は胃粘膜の恒常性の維持や胃潰瘍治癒過程の細胞動態には細胞増殖とアポトーシスのバランスがとれていることが重要である。*H. pylori* が産生するアンモニアによる細胞動態のバランスの破綻が胃粘膜傷害や胃潰瘍治癒遅延に影響を与える重大な要因のひとつであることが考察されている。以上より本研究は博士論文に値する研究である。