

Title	Expression of cyclooxygenase-2 and nitrotyrosine in human gastric mucosa before and after <i>Helicobacter pylori</i> eradication
Author(s)	木村, 新
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43704">https://hdl.handle.net/11094/43704</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	木村新 <sup>あらた</sup>
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16807 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Expression of cyclooxygenase-2 and nitrotyrosine in human gastric mucosa before and after <i>Helicobacter pylori</i> eradication (ヘリコバクター・ピロリ除菌療法が、ヒト胃粘膜におけるシクロオキシゲナーゼ2とニトロタイロシンの発現に与える影響についての検討)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二  (副査) 教授 門田 守人 教授 祖父江憲治

## 論文内容の要旨

## 【目的】

誘導型シクロオキシゲナーゼ (COX-2) と一酸化窒素 (NO) は胃の病態生理に密接に関わっており COX-2阻害薬または NO 合成阻害薬は実験的に潰瘍治癒を遷延させる。しかし潰瘍治癒に与える各種因子の関与には *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染を含め不明な点が多い。そこで COX-2ならびに nitrotyrosine (NO アダクト: NT) の局在を免疫組織化学的に検討し、除菌療法がヒト胃粘膜の COX-2と NT の発現様式に与える影響を検討した。さらに胃潰瘍治癒に寄与する新たな因子としてエンドセリン (ET-1) の役割についても検討した。

## 【方法ならびに成績1】

胃潰瘍患者の潰瘍辺縁ならびに背景粘膜における COX-2、NT の局在を免疫組織化学により検討した。さらに8例 (男性5例、女性3例、平均年齢51歳) の除菌成功例を対象に、除菌療法施行前後に内視鏡下にて採取した前庭部胃粘膜に対し COX-2と NT に対する免疫染色を行い、上皮全体に占める陽性細胞の割合を検討した。

その結果、COX-2と NT は胃粘膜上皮およびその他の間質細胞に広範に発現したが、潰瘍辺縁の上皮細胞では COX-2と NT の発現は *H. pylori* 非感染胃では減弱していた。従って *H. pylori* 感染が胃粘膜上皮の COX-2と NT の発現に影響していることが示唆されたが、*H. pylori* 陰性胃粘膜においては潰瘍治癒に与える両者の影響は減弱すると考えられた。*H. pylori* 除菌成功者を対象にした検討では COX-2/NT 陽性上皮細胞数の割合は除菌後有意に減少した (52% vs 15%,  $p < 0.001$ ; 57% vs 36%,  $p < 0.01$ )。

## 【方法ならびに成績2】

BALB/c マウスに酢酸潰瘍を作成した。無作為に中和抗体投与群と control 群の2群に分け、潰瘍治癒開始日 (day0) より、中和抗体投与群 (n=40) には ET-1中和抗体 (0.5  $\mu$ l/g body weight) を、control 群 (n=40) には同濃度の正常血清を連日腹腔内投与した。day0、3、6、9に屠殺、胃粘膜を摘出した。潰瘍径の測定と共にマッソン・トリクローム染色と筋線維芽細胞のマーカーである  $\alpha$ -smooth muscle actin に対する免疫染色を行い、潰瘍底の線純化面積と筋線維芽細胞の面積を画像解析にて定量化した。また ET-1の発現と、その作用部位の検討のために ET-1受容体に対する免疫染色を行った。さらにマウス胃粘膜より筋線維芽細胞を分離培養し、ET-1が与える影響を細胞

増殖の面から検討した。

その結果、中和抗体投与群では control 群に比して潰瘍径が有意に大きく潰瘍治癒が遅延した (4.9 vs 3.0mm,  $p < 0.01$ , on day3; 3.0 vs 0.8mm,  $p < 0.0001$ , on day6; 0.4 vs 0.1mm,  $p < 0.01$ , on day9)。また潰瘍底の線維化面積は、中和抗体投与群では control 群に比して有意に小さく ( $3.32 \pm 0.08$  vs  $1.29 \pm 0.07 \text{mm}^2$ ,  $p < 0.001$ , on day6;  $0.64 \pm 0.02$  vs  $0.53 \pm 0.02 \text{mm}^2$ ,  $p < 0.001$ , on day9)、筋線維芽細胞の面積も同様に有意に低値であった ( $2.53 \pm 0.17$  vs  $1.02 \pm 0.12 \text{mm}^2$ ,  $p < 0.001$ , on day6;  $0.55 \pm 0.02$  vs  $0.33 \pm 0.09 \text{mm}^2$ ,  $p < 0.001$ , on day9)。ET-1の発現は血管内皮細胞以外に胃粘膜上皮細胞にも認められ、後者の発現は胃潰瘍辺線粘膜でより強く認められた。血管平滑筋細胞には ETA/B 受容体とも発現していたが、筋線維芽細胞では ETA 受容体のみ発現を認めた。この結果はマウス胃筋線維芽細胞においても同様であった。WST-1 assay による筋線維芽細胞の増殖能を検討した結果、ET-1( $10^{-7} \text{M}$ )により有意な増殖を認め ( $170.8 \pm 2.0\%$  of the control cells,  $p < 0.05$ )、またその増殖は ETA 受容体拮抗剤である BQ123により濃度依存性に抑制された。

【総括】胃潰瘍治癒には COX-2や NO ばかりでなく、ET-1も重要な因子であることが示唆され、その作用は主に筋線維芽細胞上の ETA 受容体を介した作用であることが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

これまで解明されていなかった、シクロオキシゲナーゼ 2 とニトロタイロシン、エンドセリン-1 のヒト胃粘膜における局在を明らかにするとともに、上皮における前 2 者の発現が、ヘリコバクターピロリ感染により影響されることを除菌療法施行例で示し、また、エンドセリン-1 が潰瘍治癒に促進的な作用を果たすことを動物実験と細胞実験で証明することで、胃炎や胃潰瘍における病態生理の解明に寄与した。よって、学位の授与に値するものと考えられる。