



Title	Molecular mechanisms of Wischnewski spot development on gastric mucosa in fatal hypothermia: an experimental study in rats
Author(s)	楊, 志斌
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76416
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	楊 志斌 (Yang, Chihpin)
論文題名 Title	Molecular mechanisms of Wischnewski spot development on gastric mucosa in fatal hypothermia: an experimental study in rats (凍死における胃粘膜でのWischnewski斑形成の分子機序：ラットを用いた実験的検討)
論文内容の要旨 〔目 的〕 Wischnewski斑は凍死に認める胃粘膜の所見の一つで、その形成機序は未だ不明である。我々は低体温状態が胃粘膜上の胃酸分泌や胃タンパク分解酵素分泌因子に影響を及ぼし、この現象を引き起こしたと仮説を立てた。そこで、我々は器官型胃スライス培養法(organotypic slice culture)を用いて胃粘膜におけるWischnewski斑形成の分子的機序を検討した。 〔方法ならびに成績〕 絶食させた8週齢雄性Wistarラットから胃を摘出し、1-2 mmにスライスした。その後、スライス37℃（コントロール群）または32℃（低温群）にて3-6時間培養した。培養6時間後、培養液中のpHをLAQUAtwin pHメーターを用いて測定した。その結果、低温群では培養液中のpHレベルが明らかに減少していた。さらに、培養液中の胃酸分泌を促進するガストリンとヒスタミンの量をELISA法を用いて測定した結果、両者とも低温群で有意に増加していた。ガストリンやヒスタミンは神経内分泌細胞であるG細胞やECL細胞から分泌され、壁細胞に作用し、胃酸の分泌を促す。静止状態にある壁細胞ではプロトンポンプであるH⁺, K⁺-ATPase α-subunit(HKα)とβ-subunit(HKβ)を内包した管状小胞(tubulovesicle; TV)が細胞質内部に散在している。ガストリンやヒスタミンの刺激を受けるとHKαやHKβの発現量が増加し、それと同時に、TVのアピカル膜への融合が促進され、酸が胃腔に放出される。そのため、我々はHKα及びHKβの発現変化に及ぼす低温環境の影響をreal time qRT-PCR法とwestern blotting法を用いて検討した。その結果、低温群において明らかにHKα及びHKβ mRNAとタンパク質発現量の増加が認められた。次に、TVのアピカル膜への融合を低温環境が促進するのかを検討した。低温環境で培養後、細胞質と細胞膜を分離し、western blotting法を用いてHKα及びHKβタンパク質の発現量を解析した結果、低温群で、細胞膜におけるHKαタンパク質の発現量が有意に増加していた。同様に、蛍光免疫染色においても、壁細胞の細胞形態が低温群で胃酸分泌時に認められる活性化型に変化している像が観察された。以上の結果から、低温環境がHKαとHKβの発現を上昇させること、更にTVのアピカル膜への融合を促進させることが明らかになった。次に、タンパク分解酵素であるpepsin Cの発現量に及ぼす低温環境の影響を検討した。pepsin Cは酸性化で主細胞から分泌されるpepsinogen Cから変換される。低温群ではこのpepsinogen C mRNA発現量の増加、及びその最終産物であるpepsin Cタンパク質の発現上昇が認められた。 〔総 括〕 低温環境はガストリンやヒスタミンの分泌を増加させ、プロトンポンプ発現量の増加及び壁細胞の活性化をもたらすことにより、胃酸の分泌を促進させることを明らかにした。一方、pepsinogen C及びpepsin Cの発現を上昇させることにより、過度のタンパク分解酵素の産生をもたらすことを明らかにした。このように局所的な胃酸分泌の増加及びタンパク分解酵素の産生増加が胃粘膜及び微細血管の損傷を引き起こし、出血をもたらすことにより「Wischnewski斑」の形成を誘導することが示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 楊志斌		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	松本 千代
	副 査 大阪大学教授	竹原 収
	副 査 大阪大学教授	市井 要一
論文審査の結果の要旨 Wischnewski斑は19世紀に報告された凍死に認められる胃粘膜の所見であるが、その形成機序は未だ明らかではない。申請者は、低体温状態が胃粘膜の胃酸分泌やタンパク分解酵素産生を促進しこの現象が生じると考え、ラット胃スライス培養法を用いて胃粘膜におけるWischnewski斑形成の分子的機序を検討した。培養液中のpHが低温群で有意に低下し胃酸分泌が促進していること、胃酸分泌誘発因子gastrin, histamineの発現上昇も認められ、胃酸分泌細胞である壁細胞が刺激状態であることも観察された。細胞内の動向について検討したところ、CCKBR, HRH2の発現上昇とHKα, HKβの細胞質から膜への移行も認められ、低温による胃酸分泌機構が明らかになった。また、低温で主細胞からPGC, pepsin Cが分泌され粘膜融解が生じることも明らかにした。以上のことは、先の仮説である低温環境により引き起こされる胃酸分泌の増加及びタンパク分解酵素の産生量増加により、粘膜及び微細血管の損傷がもたらされ、Wischnewski斑が形成される機序を明らかにしたと言え、申請者のこれらの研究内容は、学位に値すると考えられる。		