

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
野口 誉生	主査 教授 勝 健 一 副査 教授 窪 田 隆 裕 副査 教授 花 房 俊 昭 副査 教授 谷 川 允 彦 副査 教授 島 原 政 司
主論文題名 Effect of Long-term Administration of Ammonia Water on Rat Gastric Mucosa -Combined Effect of Gastric Mucosal Protective Agents (アンモニア水長期投与によるラット胃粘膜に及ぼす影響 -胃粘膜防御因子製剤併用による効果も含めて)	
学位論文内容の要旨	
<p>《 目 的 》</p> <p><i>Helicobacter pylori</i> (<i>H. pylori</i>) による胃粘膜障害の機序としてアンモニアをはじめとする分泌毒素、酵素、外膜蛋白などの複合的な因子が明らかにされつつあるが、中でもアンモニアは <i>H. pylori</i> の産生するウレアーゼによって産生され、単独でも胃粘膜障害を惹起することが既に報告されている。そこでラットに 2 種類の濃度のアンモニア水を投与しその胃粘膜障害の過程を検討した。さらにアンモニア水を投与したラットに胃粘膜防御因子製剤の一つである geranylgeranylacetone (GGA)を同時併用投与し、アンモニア水の胃粘膜障害に対する影響を検討した。</p> <p>《 対 象 》</p> <p>対象は体重約 200～250g の 6 週令の Wister 系雄性ラット 59 匹とした。</p> <p>《 方 法 》</p> <p>実験 1</p> <p>2 種類の濃度のアンモニア水を 6 週間投与し胃粘膜障害の検討を行った。コントロール群として無処置のラット 5 匹、0.02%群として 0.02%アンモニア水を自由飲水させた 15 匹、0.1%群として 0.1%アンモニア水を自由飲水させた 15 匹に分けた。コントロール群のラットは 6 週後に、0.02%群と 0.1%群のラットは 2 週後、4 週後、6 週後に 5 匹ずつ脱血致死させ胃を摘出し、前庭部および体部の組織標本作製し、以下の項目について検討を行った。</p> <p>胃粘膜萎縮として HE 染色標本での胃粘膜の厚さを測定し、また粘膜の厚さに対する固有胃腺の割合を atrophy index として評価した。</p> <p>胃粘膜内粘液量として浅層粘液の指標となる Periodic Acid Schiff (PAS)染色、深層粘液の指標となる Paradoxical Concanavalin A (PCA)染色を行い、粘膜固有層に対する各染色陽性部分の面積比を計測し、各粘液量の指標とした。</p>	

胃粘膜細胞増殖能として、抗 Proliferative Cell Nuclear Antigen (PCNA)抗体を用いた Labelled Streptavidin Biotin (LSAB)法による免疫染色を行い光学顕微鏡下に PCNA 陽性細胞数を前庭部および胃体部の 3 箇所を観察しその平均値を PCNA 陽性率とした。

実験 2

アンモニア水長期投与ラットに胃粘膜防御因子製剤を同時併用し、その効果を検討した。コントロール群として通常飲水させた 8 匹、アンモニア群として 0.1%アンモニア水を自由飲水させた 8 匹、GGA 群として 0.1%アンモニア水の自由飲水と GGA を 200mg/kg/day の用量で同時併用投与した 8 匹に分けた。実験開始 6 週後に脱血致死させ胃を摘出し、前壁は胃粘膜のみを鈍的に剥離し得られた胃粘膜をホモジネイトし、後壁は組織標本を作製し、以下の項目について検討した。

ラットの体重変化

胃粘膜萎縮

胃粘膜内粘液量

胃粘膜細胞増殖能

胃粘膜内炎症細胞浸潤や組織障害の指標となる Myeloperoxidase (MPO)活性および脂質過酸化の指標となる Lipid Peroxidation (LPO)活性

《結果》

実験 1

胃粘膜の萎縮に関して、0.1%アンモニア水投与によって前庭部で 4 週後、体部でも 6 週後に胃粘膜の萎縮を認めた。0.02%アンモニア水投与では有意な変化を認めなかった。

胃粘液量は、0.1%アンモニア水投与により前庭部において 2 週後に一時的に浅層粘液の増加を認めたが、4 週以後は浅層、深層いずれの胃粘液量も有意に減少した。0.02%アンモニア水投与では有意な変化を認めなかった。

胃粘膜細胞増殖能については、0.1%アンモニア水投与により前庭部で 2~4 週後は著明に増加し 6 週後にコントロールのレベルとなり、胃体部では 6 週後に有意な増加が認められた。0.02%アンモニア水投与では有意な変化を認めなかった。

実験 2

体重の変化はすべてのグループで有意差を認めなかった。

胃粘膜萎縮に関しては、GGA を併用投与することでアンモニア水による胃粘膜萎縮が有意に抑制された。

胃粘液量については、GGA 併用によりアンモニア水による浅層、深層ともに胃粘液量の減少が有意に抑制された。

胃粘膜萎縮の起こらなかった GGA 併用群では、胃粘膜細胞増殖能の変化を認めなかった。

GGA を併用することでアンモニア水による MPO 活性、LPO 活性の上昇が有意に抑制された。

《考察》

ヒトにおける *H. pylori* 感染状態の胃液中のアンモニア濃度は約 0.01~0.02%と報告されているが、今回の実験では 0.02%アンモニア水投与では 6 週間という期間内に有意な変化を来すまでには至らなかった。一方で 0.1%アンモニア水投与では 4 週後に前庭部が、6 週後には胃体部の粘膜が萎縮した。この変化はヒトの萎縮性胃炎と同様の変化と考えられ、アンモニア水による胃粘膜障害は *H. pylori* 感染後に起こる萎縮性胃炎のモ

デルに

なりうることが示された。

さらにアンモニア水と胃粘膜防御因子製剤の一つである GGA を同時投与することで、アンモニア水による胃粘膜萎縮が有意に抑制された。GGA には胃粘液増加作用があり、本実験でもアンモニア水による胃粘液量の減少が抑制された。また組織障害の指標となる MPO 活性、脂質過酸化の指標となる LPO 活性はアンモニア水投与により上昇し、アンモニア水投与による胃粘膜障害にはフリーラジカルが関与すると考えられる。GGA 併用によりこれらの変化が有意に抑制された結果より、胃粘液がラジカルスカベンジャーとして機能し、胃粘膜防御の中心的役割を果たしていることが推察された。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙 第 号	氏 名	野口 誉生
論文審査担当者		主 査 教授 勝 健 一 副 査 教授 窪 田 隆 裕 副 査 教授 花 房 俊 昭 副 査 教授 谷 川 允 彦 副 査 教授 島 原 政 司	
主論文題名 Effect of Long-term Administration of Ammonia Water on Rat Gastric Mucosa -Combined Effect of Gastric Mucosal Protective Agents (アンモニア水長期投与によるラット胃粘膜に及ぼす影響 -胃粘膜防御因子製剤併用による効果も含めて)			
論文審査結果の要旨			
<p><i>Helicobacter pylori</i> (<i>H.pylori</i>)感染状態の胃粘膜において、分泌毒素として作用するアンモニアは <i>H.pylori</i> の産生するウレアーゼによって発生し、胃粘膜障害に深く関与していることが既に報告されている。本研究では、2種類の濃度のアンモニア水を6週間ラットに投与し、アンモニアによる胃粘膜障害の過程と機序について検討し、さらに高濃度のアンモニア水と胃粘膜防御因子製剤の一つである geranylgeranylacetone (GGA)を同時併用投与しその影響についても検討している。本研究において得られた結果は下記の如くである。</p> <p>(1) 低濃度である 0.02%アンモニア水投与においては、6 週間の実験期間を通して胃粘膜の萎縮は惹起されず、胃粘液量、胃粘膜細胞増殖能についても変化を認めなかった。</p> <p>(2) 高濃度である 0.1%アンモニア水投与において、4 週後に前庭部、6 週後には胃体部の粘膜萎縮が認められた。その過程において萎縮に伴って浅層粘液、深層粘液がともに有意に減少していた。</p> <p>(3) アンモニア水と GGA を同時併用投与することでアンモニア水による胃粘膜萎縮、胃粘液量の減少が抑制された。</p> <p>(4) 組織障害の指標となる MPO 活性、脂質過酸化の指標となる LPO 活性はアンモニア水投与により有意に上昇したが、GGA を併用することで有意に抑制された。</p> <p>これらの結果より、ラットに 0.1%アンモニア水を長期投与することによりヒト <i>H.pylori</i> 感染の際に認められる萎縮性胃炎に類似した変化が生じ、胃粘液量の減少や MPO 活性・LPO 活性の上昇を伴っている事を示した。また胃粘膜防御因子製剤の GGA を併用することでラジカルスカベンジャーの機能をもつ胃粘液の減少を抑制し、アンモニアによる胃粘膜萎縮を有意に抑制することが明らかとなった。</p> <p>本研究は、<i>H. pylori</i>感染後におこる胃粘膜萎縮の病態についての新たな知見であり、その臨床的意義は高いと考えられる。</p> <p>以上より、本論文は本学学位規程第3条第2項に定める所の博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p><主論文公表誌> Bulletin of the Osaka Medical College 53(1): 69-78, 2007</p>			