

# Involvement of cyclooxygenase-2 in hyperplastic gastritis induced by Helicobacter pylori infection in c57bl/6 mice

著者	肖 芳
雑誌名	浜松医科大学学報. 学位授与記録
巻	19
ページ	24-26
発行年	2002-03-26
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1208">http://hdl.handle.net/10271/1208</a>

doi: 10.1046/j.1365-2036.2001.00965.x

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 355号	学位授与年月日	平成14年 3月26日
氏名	肖 芳		
論文題目	Involvement of cyclooxygenase-2 in hyperplastic gastritis induced by <i>Helicobacter pylori</i> infection in c57bl/6 mice (c57bl/6 マウスにおける <i>H.pylori</i> 感染による過形成性胃炎における cyclooxygenase-2 の関与について)		

博士(医学) 肖 芳

## 論文題目

Involvement of cyclooxygenase-2 in hyperplastic gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection in c57bl/6 mice

(c57bl/6マウスにおける *H. pylori* 感染による過形成性胃炎における cyclooxygenase-2 の関与について)

## 論文の内容の要旨

[はじめに]

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染が慢性胃炎、消化性潰瘍、さらには胃癌や胃 MALT リンパ腫等の多くの上部消化管疾患に関与していることが明らかにされてきている。*H. pylori* が胃粘膜に感染すると胃粘膜細胞に増殖性変化が引き起こされ、腺窩上皮に過形成変化が生じ、*H. pylori* の除菌によってこの増殖性変化が正常域にまで低下することが知られているがその機序については不明な点が多い。Cyclooxygenase (COX) は、アラキドン酸から prostaglandin (PG) が産生される際の律速酵素であるが、この酵素には2種類存在しており、定常的に発現している COX-1 と、炎症や腫瘍において増殖因子や炎症性サイトカインによって誘導される COX-2 に分けられる。そして、*H. pylori* 感染胃粘膜において COX-2 の発現が認められ、PG 産生が亢進していることも明らかにされてきている。この PG には胃の微小循環の調整、粘液分泌促進、胃酸分泌抑制作用に加えて粘膜の増殖作用があることが知られている。また、近年 *H. pylori* 感染動物モデルとして、C57BL/6 マウスに *H. pylori* の sydney 株 (SS1) の感染モデルが報告された。SS1 株は cytotoxin associated gene A (CagA) 並びに vacuolating toxin A (VacA) 陽性である。このモデルでは、ヒトと同様な慢性活動性胃炎が惹起されることが知られている。本研究では、*H. pylori* 感染時における胃粘膜の過形成性変化に COX-2/PG 系が関与しているかをこの動物モデルを用いて検討した。

[材料ならびに方法]

6週齢の C57BL/6 マウスに *H. pylori* の SS1 株を (0.5ml、 $2.5 \times 10^8$  CFU を 5 日おきに 3 回経口投与) 感染させた。餌中に COX-2 の選択的阻害剤である Etodolac (肌) を 10mg/kg/day となるように混じて投与した群と非投与群を設定した。*H. pylori* を含まない溶液のみを投与した非感染群でも同様の 2 群を設定した。*H. pylori* 投与前、および投与 12、24 週間後に屠殺した (各群 n=10)。胃を摘出し、HE 染色並びに、ギムザ染色標本作製した。胃粘膜の厚さは、HE 染色標本で測定した。また、胃粘膜より蛋白、RNA を抽出し胃粘膜内の COX-2 蛋白、mRNA 量を western blotting、及び、競合的 RT-PCR 法で測定した。さらに、胃粘膜中の PGE2 量を ELISA 法で測定した。*H. pylori* 感染の有無は、培養ならびにギムザ染色標本の鏡検で行った。

[結果]

*H. pylori* 投与 12 週後において、感染群では組織学的に前庭部から体部にかけて粘膜下層に炎症細胞の軽度浸潤を認め、24 週後には、体部に炎症細胞の著明な浸潤を認めた。萎縮、腸上皮化生は各群ともほとんど認めなかった。*H. pylori* 感染 24 週後には胃粘膜上皮に著明な過形成性変化が認められ、胃重量も非感染群に比べて有意に増加した。しかし、ET の投与にて胃粘膜上皮の過形成性変化は有意に抑制され、胃重量の増加も有意に抑制された。24 週後胃粘膜中 COX-2 の蛋白量、mRNA の発現は感染群では非感染群

より有意に増加したが、ETの投与にてCOX-2蛋白量、mRNA量に有意な変化は認めなかった。胃粘膜中のPGE2量は*H. pylori*感染によって有意に増加したが、ET投与によってPGE2の産生増加が有意に抑制された。*H. pylori*非感染群ではET投与によって胃重量、胃粘膜の厚さ、胃粘膜中のCOX-2、PGE2のいずれにも有意な変化を認めなかった。

#### [結論ならびに考察]

*H. pylori*感染により、C57BL/6マウスにおいて慢性活動性胃炎が惹起され、胃粘膜上皮に過形成性変化が認められ、胃重量も増加した。そして、胃粘膜中のCOX-2の遺伝子発現、蛋白合成は増加し、PGE2が増加した。*H. pylori*による胃粘膜の組織学的な変化および胃粘膜中のPGE2産生増加はCOX-2の選択的阻害剤であるETの投与により、有意に抑制された。しかし、COX-2蛋白量、mRNA量の増加を抑制されなかった。ETはCOX-2の活性を抑制することによりPGE2産生を有意に抑制し、それに伴い胃粘膜のPGによる過形成変化が有意に抑制されたと考えられる。以上より、*H. pylori*感染によって誘導されるCOX-2/PG系が粘膜の過形成性変化に関与していると考えられた。

疫学的には、NSAIDs使用者に胃癌の頻度が少ないことが知られている。また、COX-2/PG系が胃癌に関与している場合があることが報告されている。今回の検討からNSAIDs使用が胃発癌を抑制する機序として、NSAIDsによりCOX-2/PG系が抑制され、胃癌発症の母地と考えられている胃の過形成性変化も抑制され、また、PGを介する癌細胞の増殖作用も抑制されることが関与している可能性が考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)の胃粘膜感染による胃粘膜細胞の過形成性変化にCOX-2/PG系が関与していることを*H. pylori*感染動物モデルを用いて明らかにするために本研究は実施された。

*H. pylori*感染が慢性胃炎、消化性潰瘍、胃癌、胃MALTリンパ腫等の上部消化管疾患に重要な役割を果たしていることが報告されている。*H. pylori*感染により胃粘膜の過形成が生じるが、その機構については不明であった。*H. pylori*感染後の胃粘膜にはCOX-2の発現が亢進しており、胃粘膜内のプロスタグランジン(PG)の産生が増加していることが報告されている。この胃粘膜PGには胃微小循環の調整、粘液分泌増加、胃酸分泌抑制作用の他に粘膜の増殖作用があることが知られている。近年、C57BL/6マウスに*H. pylori*のSydney株を感染させたモデルがヒトと同様な慢性活動性胃炎を惹起される*H. pylori*感染動物モデルとして報告されている。申請者はこの感染モデル動物を用いて*H. pylori*感染による胃粘膜の過形成性変化に対するCOX-2/PG系の関与について検討した。

申請者は6週齢のC57BL/6マウスに*H. pylori*のSydney株(0.5ml、 $2.5 \times 10^8$  CFU)を5日おきに3回経口投与した後、COX-2の選択的阻害薬であるetodolac(ET)を10mg/kg/dayとなるように飼料に混じて投与した群と、非投与群を作成した。また、*H. pylori*を含まない溶液のみを投与した非感染群でも、同様にET投与群と非投与群を設定した。全ての群において*H. pylori*投与前、投与12週、24週後に屠殺し、胃粘膜の厚さをHE染色標本で測定した。また、胃粘膜内のCOX-2蛋白、mRNA量、PGE2量を測定した。

*H. pylori*感染群では組織学的に12週後に胃前庭部から体部にかけて粘膜下層に炎症細胞の軽度浸潤を、24週後には体部に炎症細胞の著明な浸潤を認めている。さらに24週後には胃粘膜上皮に著明な過形成性変化を認め、胃重量や胃粘膜の厚さが非感染群に比し有意に増加していた。これらの変化はET投与群では有意に抑制されており、*H. pylori*感染により増加したPGE2量もETにより明らかに抑えられた。しか

しながら、*H. pylori* 感染により増加した胃粘膜内の COX-2 蛋白、mRNA 発現量は ET 投与によっては抑制されなかった。

以上の結果より、申請者は *H. pylori* 感染による過形成胃炎に COX-2/PG 系が関与することを明らかにし、COX-2 阻害薬が胃粘膜の細胞増殖の亢進を抑制することを実験動物で証明した。本研究は COX-2 阻害薬の発癌抑制への可能性を示唆するものであり、審査委員会一同は高く評価した。

以上の申請者の研究内容について審査委員会では以下のような質問および議論があった。

- 1) このマウスのモデルはヒトのモデルとして適切か
- 2) Sydney 株を用いた理由は
- 3) 他の動物モデルとしてどの様なものがあるのか
- 4) *H. pylori* 感染により浸潤する細胞の種類は
- 5) 胃重量の増加は何によるのか
- 6) Etodolac 投与量の設定理由は
- 7) Gastritis Score はどのように決めるのか
- 8) PGE2 測定のエッセイにおける抗体はマウス用なのか
- 9) 過形成性変化は前癌状態なのか
- 10) 過形成性変化は可逆的なのか

これらの質問に対し申請者の解答はおおむね適切であり、問題点も理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 大橋 京一  
副査 小出 幸夫 副査 梶村 春彦