

氏 名	なか じま とし お 中 島 敏 雄
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2486 号
学位授与の日付	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
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Gastrin stimulates the growth of gastric pit cell precursors by inducing its own receptors (幼若胃粘膜被蓋上皮細胞におけるガストリン受容体存在の発見とその意義に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 尾 一 和 教 授 今 村 正 之 教 授 千 葉 勉

論 文 内 容 の 要 旨

ガストリンが胃粘膜に対して増殖作用を有していることはよく知られている。従来の検討ではガストリン受容体の発現は壁細胞、エンテロクロマフィン様細胞に観察され、被蓋上皮細胞には見られていない。従って、被蓋上皮細胞に対するガストリンの増殖作用は壁細胞、エンテロクロマフィン様細胞から分泌される Reg 蛋白やヘパリン結合性 EGF 様増殖因子を介した間接的なものであるとされている。しかし壁細胞ノックアウトマウスの被蓋上皮細胞にもガストリン刺激による増殖が観察されること、ヒト慢性萎縮性胃炎では壁細胞数が減少するにもかかわらず正常胃粘膜より被蓋上皮細胞の細胞分裂が盛んであることが観察されており、上記間接的作用とは別にガストリンが被蓋上皮細胞の増殖を直接刺激することが示唆される。ガストリンの胃被蓋上皮増殖に対する直接作用の可能性を検討するため、申請者等は新たに高ガストリントランスジェニックマウスを作成し、長期高ガストリン刺激下における胃粘膜変化及び、ガストリン受容体発現部位の検討を行った。

マウス受精卵に、ヒト変異ガストリン遺伝子をプロモーター下に配した DNA を導入し高ガストリン血症トランスジェニックマウスを作成した。ガストリン受容体 mRNA の発現は *in situ* hybridization 法を用いて可視化した。CTB レクチン染色、PCNA 抗体、H, K-ATPase 抗体を用いた免疫染色を行い、被蓋上皮細胞、幼若被蓋上皮細胞、壁細胞を同定した。高ガストリンマウスの胃粘膜は同週齢コントロールマウスに比べ著明に肥厚し、この肥厚は主に被蓋上皮細胞の増殖亢進によるものであった。また壁細胞数はコントロールマウスに比べ著明に減少していた。ガストリン受容体 *in situ* hybridization では、コントロールマウス粘膜基底部のみにガストリン受容体が観察されるのに対し、高ガストリンマウスでは粘膜基底部の他に増殖帯近傍に存在する幼若被蓋上皮細胞に一致しガストリン受容体 mRNA 発現が観察された。

さらに被蓋上皮細胞におけるガストリン受容体発現調節を検討するためマウス被蓋上皮細胞由来培養細胞株 GSM06 を用い、ガストリン受容体発現の有無、ガストリン刺激によるガストリン受容体発現量の変化を半定量 RT-PCR 法にて検討した。その結果、非刺激 GSM06 細胞にはガストリン受容体が極めて少量発現していること、GSM06 細胞上のガストリン受容体はガストリン刺激により濃度・時間依存的に増加することが観察された。またガストリン刺激による細胞増殖を検討したところ、GSM06 細胞はガストリンの濃度依存的な増殖を示し、ガストリンによる増殖作用はガストリン受容体特異的拮抗剤添加によって抑制された。

以上の結果は、1) 従来ガストリン受容体が発現していないとされていた被蓋上皮細胞のうち、増殖帯付近の幼若被蓋上皮細胞には微量のガストリン受容体が発現していること、2) この幼若被蓋上皮細胞上のガストリン受容体発現は、長期のガストリン刺激によって up-regulate されることを *in vivo*, *in vitro* で初めてあきらかにしたものである。従って、1) 2) の発見により胃粘膜被蓋上皮細胞に対するガストリンの増殖作用には、従来報告されてきた壁細胞やエンテロクロマフィン様細胞を介した間接作用の他に被蓋上皮細胞自身に存在するガストリン受容体を介した直接作用も関与する事が明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

ガストリンが胃粘膜に対して増殖作用を有していることはよく知られているがその機序はいまだ不明な点が多い。本研究で申請者らは高ガストリントランスジェニックマウスを作成し長期高ガストリン刺激下における胃粘膜変化を分子生物学的手法、免疫組織学的手法を用い検討した。

マウス受精胚にヒト変異ガストリン遺伝子をプロモーター下に配した DNA を導入、高ガストリントランスジェニックマウスを作成した。高ガストリンマウス胃粘膜は同週齢正常コントロールマウスに比べ著明な肥厚を呈した。CTB レクチン染色、PAS 染色、PCNA 抗体、クロモグラニン A 抗体、H, K-ATPase 抗体を用いた免疫染色を行い胃粘膜構成細胞を同定したところ従来からガストリン受容体の存在が証明されていた壁細胞、ECL 細胞数の増加は認められず、幼若被蓋上皮細胞及び成熟被蓋上皮細胞の増加が確認された。ガストリン受容体 mRNA の発現を *in situ* hybridization 法を用いて可視化したところ、ガストリン受容体は正常コントロールマウスでは胃粘膜基底部のみに観察されるのに対し、高ガストリンマウスでは粘膜基底部の他に増殖帯近傍に存在する幼若被蓋上皮細胞に一致しガストリン受容体 mRNA 発現が観察された。以上、ガストリン刺激による胃粘膜増殖作用には、従来報告されてきた壁細胞や ECL 細胞を介した間接作用の他に、被蓋上皮細胞自身に存在するガストリン受容体を介した直接作用も関与する事が明らかとなった。

以上の研究は、胃粘膜増殖に関する新たな機構の解明に貢献し、消化器病学に寄与するところが多い。従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成14年2月8日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。