

氏 名	かわ さき きみ お 川 崎 公 男
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2913 号
学位授与の日付	平 成 17 年 9 月 26 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	<i>Helicobacter felis</i> — induced gastritis was suppressed in mice overexpressing thioredoxin-1 (ヘリコバクター胃炎におけるチオレドキシン-1の防御作用)
論文調査委員	(主 査) 教 授 一 山 智 教 授 光 山 正 雄 教 授 坂 井 義 治

論 文 内 容 の 要 旨

ヘリコバクター・ピロリ (*H. pylori*) 感染は慢性胃炎, 消化性潰瘍, 胃癌など各種胃疾患との関連が指摘されている。*H. pylori* 感染による胃粘膜傷害の機序については, ウレアーゼ, 接着因子, CagA, VacA などの菌側因子と, 胃粘膜へ浸潤した好中球やリンパ球などの炎症細胞が関与する宿主側因子についての検討がなされてきたが, 最近特に好中球や胃上皮細胞から産生される活性酸素による酸化ストレスが粘膜傷害に深く関与していることが解明されてきた。チオレドキシン-1 (TRX-1) は種々のストレスにより誘導される内因性の蛋白質で, その活性部位に2個のチオール基を有し, 両者がジスルフィド結合 (S-S) したものを酸化型, ジチオール (SH, SH) 型を還元型と呼ぶ。還元型 TRX-1 は活性酸素の除去による抗酸化作用に加え, ジスルフィド結合をもつ蛋白質を基質として還元反応を行うことにより, 細胞内の酸化還元状態の調節を行っている (レドックス制御)。TRX-1 はこのレドックス制御により酸化ストレスが関与する細胞内シグナル伝達において中心的役割を果たしていると考えられ, 細胞増殖や抗アポトーシス作用にも関与している。したがって様々なストレスに曝される胃炎粘膜においては, TRX-1 が生体防御に関与していることが予想されるが, その詳細は不明である。今回, TRX-1 トランスジェニック (TG) マウスを用いて, ヘリコバクター胃炎における TRX-1 の防御作用とその機序について調べた。

H. felis を野生型 (WT) および TG マウスに経口感染させ, 胃炎の組織所見, 胃粘膜における酸化ストレス及びサイトカイン産生を比較検討した。感染2ヶ月後には WT マウスでは肉眼的に胃壁の肥厚が生じ, 組織学的にも胃粘膜に著明な炎症細胞浸潤と, 胃底腺細胞の消失および腺窩上皮の過形成を認めた。これに対し, TG マウスでは胃炎所見は全くみられないか, わずかに炎症細胞浸潤を認めるのみで *H. felis* 感染に対して抵抗性を示した。胃粘膜の酸化ストレス状態を酸化ストレスマーカーである 8-OHdG と MDA で検討した結果, 8-OHdG と MDA は感染 WT マウスでのみ増加していた。胃上皮培養細胞 GSM06 を用いた実験でも, TRX-1 は過酸化水素による細胞傷害を軽減したことから, TRX-1 は酸化ストレスを直接軽減することで粘膜防御作用を持つことが示唆された。胃粘膜中のサイトカイン, ケモカインの検討では, 炎症性サイトカインである IL-1 β , TNF- α の発現は感染 WT マウスで有意に増加していたが, 感染 TG マウスではその発現増加が WT マウスに比べ抑制されており, 組織学的炎症所見と一致した。これとは対照的に IL-7, およびヒト IL-8 のホモログで好中球遊走・活性化に関わるケモカインである MIP-2 は感染 WT と TG マウスの両者で差がなかった。感染 TG マウスでは炎症性サイトカインと異なり MIP-2 の発現低下が見られないにもかかわらず, 胃粘膜への好中球を含む炎症細胞浸潤が抑制されたことより, TRX-1 が MIP-2 による好中球遊走を抑制した可能性が推察されたため, *in vivo* および *in vitro* で TRX-1 による好中球遊走阻止実験を行った。マウス air pouch モデルを用いた *in vivo* 実験およびマウス, ヒト血球細胞を用いた *in vitro* 実験の両者において, TRX-1 は MIP-2 および IL-8 による白血球遊走を阻害することが示された。

以上から TG マウスでは酸化ストレスの直接的な軽減に加えて, 炎症部位への白血球遊走自体を阻害することで, 炎症

細胞に起因する酸化ストレスを含む他の傷害因子も減少させ、胃炎に対し防御的に作用していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

ヘリコバクター・ピロリ (*H. pylori*) 感染による胃粘膜傷害には活性酸素による酸化ストレスが深く関与している。チオレドキシン-1 (TRX-1) はストレス誘導蛋白で、抗酸化作用に加え、細胞内の酸化還元状態の調節を行うことにより生体防御作用を示す。従って、様々なストレスに曝される胃炎粘膜では TRX-1 が粘膜保護に関与していることが推測される。申請者は本研究で TRX-1 トランスジェニック (TG) マウスを用いて、ヘリコバクター胃炎における TRX-1 の胃粘膜防御作用について検討した。

H. felis 経口感染により WT マウスでは著明な胃炎が生じたのに対し、TG マウスでは胃炎の程度は軽微で胃粘膜酸化ストレスも軽減していた。TG マウス胃粘膜では IL-1 β , TNF- α 発現は抑制されたが、好中球遊走に関わる MIP-2 発現は WT と TG マウスで差がなかったことより、TRX-1 による好中球遊走阻止能を検討した結果、TRX-1 は MIP-2 による白血球遊走を抑制した。以上より、TRX-1 は酸化ストレスによる胃粘膜傷害の軽減に加えて、炎症部位への白血球遊走を阻害し炎症細胞に起因する傷害因子を減少させることにより、ヘリコバクター胃炎に対し防御的に作用することが明らかとなった。

以上の研究は、ヘリコバクター胃炎における TRX-1 の生体防御作用の機序を解明し、その効果を更に高める薬剤や機能性食品の開発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17年8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。