

氏名(本籍)	佐藤大介(茨城県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第4780号		
学位授与年月日	平成20年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	<b>Peroxiredoxin I Protects Gastric Mucosa from Oxidative Injury Induced by <i>H. pylori</i> Infection</b> (Peroxiredoxin Iは、 <i>H. pylori</i> 感染による酸化ストレスから胃粘膜を防御する)		
主査	筑波大学教授	医学博士	川上 康
副査	筑波大学講師	博士(医学)	田淵 経司
副査	筑波大学講師	博士(医学)	原 尚人
副査	筑波大学講師	博士(工学)	奥脇 暢

## 論文の内容の要旨

### (目的)

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) は、胃粘膜に慢性炎症を引き起こし、萎縮性胃炎や胃癌の原因となる。*H. pylori* 感染は、好中球、リンパ球、マクロファージ等の炎症細胞浸潤を誘導し、胃粘膜において種々の活性酸素種を産生させる。また、NOとsuperoxideの反応によって傷害性の強いperoxynitriteが産生され、胃粘膜に強い酸化的DNA傷害を引き起こす。Peroxiredoxins (Prxs) は、抗酸化酵素群の一つで、種々の活性酸素種による酸化ストレスから細胞を防御する。Prx Iは、酸化ストレスによって誘導され、種々の細胞に存在するPrxsの代表的アイソザイムであり、特にperoxynitriteに対して強い消去能を有する。

本研究では、Prx I遺伝子欠損(Prx I<sup>-/-</sup>)マウスを用いて、*H. pylori*感染による酸化ストレスに対する胃粘膜防御に果たすPrx Iの役割について検討した。

### (対象と方法)

野生型(Prx I<sup>+/+</sup>)とPrx I<sup>-/-</sup>マウス(C57BL/6J, 雄)を*H. pylori*非感染群と感染群に分け、感染群は4週齢の時点で*H. pylori* (Sydney strain-1)を感染させた。感染2, 6, 12ヶ月後における胃粘膜傷害の程度を評価し、Prx I<sup>+/+</sup>マウスとPrx I<sup>-/-</sup>マウス間、および非感染群と感染群間でそれぞれ比較した。Prx Iの発現強度は免疫ブロット法にて、またPrx Iの発現局在は免疫染色にて評価した。胃粘膜傷害の程度は、①胃粘膜病理組織標本(HE染色)を用いたシドニーシステムによる炎症スコア、②各種炎症性サイトカイン(MIP-2, IL-1β, TNF-α; ELISA)の発現量、③酸化的DNA傷害の指標である胃粘膜8-OHdG含有量、④Single-stranded DNAの免疫染色を用いたアポトーシス細胞数、以上の項目を測定することにより評価した。

### (結果)

- ① prx I<sup>-/-</sup>マウスにおいては、*H. pylori*感染の有無に関わらず、Prx Iの発現は認められなかった。
- ② prx I<sup>+/+</sup>マウスにおいては、非感染マウスでは軽度のPrx I発現が認められ、*H. pylori*感染マウスでは、感染6, 12ヶ月後のいずれでも有意にPrx Iの発現増強が認められた。
- ③ prx I<sup>+/+</sup>マウスの*H. pylori*感染群におけるPrx I発現の局在は、*H. pylori*が付着している粘膜表層に加

えて、炎症細胞が浸潤する粘膜深層にも認められた。

2. *H. pylori* 非感染群においては、Prx I<sup>+/+</sup> と Prx I<sup>-/-</sup> マウスの間で、病理組織像、炎症性サイトカイン、酸化的 DNA 傷害、アポトーシスに有意な差は認められなかった。
3. *H. pylori* 感染群においては、特に感染 6～12 ヶ月後において、Prx I<sup>+/+</sup> マウスと比較して、Prx I<sup>-/-</sup> マウスで有意に高度の MIP-2 増加を伴う好中球浸潤、酸化的 DNA 傷害、アポトーシスが認められた。
4. *H. pylori* 感染による胃粘膜萎縮像は Prx I<sup>-/-</sup> マウスのみで認められた。

(考察)

本研究で、初めて *H. pylori* 感染が胃粘膜細胞の Prx I の発現を増強させる事を明らかにした。また、*H. pylori* 感染 Prx I<sup>-/-</sup> マウスでは、Prx I<sup>+/+</sup> マウスと比較して、有意に高度の好中球浸潤、酸化的 DNA 傷害、アポトーシスが認められる事を確認した。これらの結果は、Prx I が、*H. pylori* 感染による酸化ストレスに対する胃粘膜防御に重要な役割を果たす事を示唆する。

*H. pylori* 感染では、胃粘膜で種々の活性酸素種が産生されるが、とりわけ NO 由来の peroxynitrite が多量に産生され、胃粘膜細胞に傷害を惹起することが報告されている。したがって、peroxynitrite に対して強い消去能を有する Prx I は、*H. pylori* 感染による酸化的 DNA 傷害に対して重要な役割を果たすと考えられる。

本研究では、Prx I の免疫染色において、*H. pylori* が付着する粘膜表層と炎症細胞が浸潤する粘膜深層に特に強い Prx I の発現が認められたが、これらの部位はいずれも *H. pylori* 感染による酸化ストレスを強く受ける部位であり、同部位で Prx I の発現が増強する事は、生体を酸化ストレスから防御する反応の結果であると考えて矛盾しない。

Prx I<sup>-/-</sup> マウスでは、Prx I の欠損により、酸化ストレスに対する感受性が亢進しているため、*H. pylori* 感染によって胃粘膜により強い酸化的 DNA 傷害が惹起され、多くの細胞がアポトーシスを起こし、その結果、大量のサイトカインが産生され、高度の炎症が惹起されたものと考えられる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、Prx I が、*H. pylori* 感染による酸化ストレスから胃粘膜を防御する上で重要であることを明らかにした。*H. Pylori* 感染による胃潰瘍発生解明にせまる興味深い結果であり、価値ある論文である。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。