

Title	AMMONIA AGGRAVATES STRESS-INDUCED GASTRIC MUCOSAL OXIDATIVE INJURY THROUGH THE CANCELLATION OF CYTOPROTECTIVE HEAT SHOCK PROTEIN 70.
Sub Title	胃内アンモニアによるストレス性胃粘膜傷害増強機序：粘膜保護的HSP70発現抑制の介在
Author	永橋, 正一
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.4 (2003. 12) ,p.23-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031202-0023">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031202-0023</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# AMMONIA AGGRAVATES STRESS-INDUCED GASTRIC MUCOSAL OXIDATIVE INJURY THROUGH THE CANCELLATION OF CYTOPROTECTIVE HEAT SHOCK PROTEIN 70.

(胃内アンモニアによるストレス性胃粘膜傷害増強機序—粘膜保護的HSP70発現抑制の介在—)

永橋 正一

## 内容の要旨

目的：胃潰瘍を代表とする胃粘膜病変の発生要因に、*H. pylori* (Hp) や心理的ストレスは重要である。阪神大震災直後の症例対照研究では、胃潰瘍患者のHp抗体陽性率が非ストレス下の潰瘍患者より高率であり、ストレス潰瘍の発生機序の一つにHpの関与が指摘された。しかし、これまでストレス性胃粘膜傷害の形成過程におけるHp感染の影響についての実験的報告はみられない。Hp関連胃粘膜傷害において、本菌由来のNH<sub>3</sub>は傷害因子の一つとして重要視されている。本研究では、胃内NH<sub>3</sub>存在下における情動ストレスに対する反応をCommunication box法 (CB法) を用いて客観的に評価した。また、ストレス下において誘導されるHSP70の関与についても検討した。

材料と方法：雄性C57BL/6マウスを用い、0.01%のNH<sub>3</sub>水を投与した群 (NH<sub>3</sub>群) と対照として蒸留水を投与した群を設定し、さらにCB法により、情動ストレスを負荷する群をresponder群、負荷しない群をcontrol群とした。胃粘膜病変の評価はシドニー分類に基づきスコア化し、好中球集積の指標として胃粘膜内ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性、胃粘膜内酸化的ストレスの指標としてチオバルビツール酸反応物質 (TBARS)、胃粘膜内HSP70含量、SOD活性、還元型グルタチオン含量をそれぞれ測定した。

結果：control群 (水投与control)、NH<sub>3</sub>群 (NH<sub>3</sub>投与control) stress群 (水投与responder)、NH<sub>3</sub>+stress群 (NH<sub>3</sub>投与responder) の4群において、NH<sub>3</sub>+stress群で高度な出血性びらんを示した。MPO活性はstress群 (0.34±0.12mg/mg蛋白) でcontrol群 (0.09±0.04) と比較してさらにNH<sub>3</sub>+stress群 (0.73±0.14) ではstress群より有意に高値であった。TBARS含量はcontrol群 (0.86±0.28nmol/mg蛋白) よりstress群 (2.13±0.76) で有意に増加し、NH<sub>3</sub>+stress群 (4.71±1.34) ではstress群よりもさらに増加した。また、HSP70含量はstress群 (277.9±134.9pg/mg蛋白) で増加したが、NH<sub>3</sub>+stress (79.9±27.4) では、control群 (68.4±46.5) に比して有意な増加は認めなかった。一方、NH<sub>3</sub>群ではcontrol群と比較して有意に減少した。

考察：情動ストレスによる胃粘膜傷害の発生機序に酸化的ストレスが関与し、この時、HSP70が産生され胃粘膜を保護している可能性が考えられた。一方、Hp感染によるNH<sub>3</sub>の存在下では、HSP70の産生が抑制され、ストレス性胃粘膜傷害をさらに悪化させている可能性が示唆された。

## 論文審査の要旨

胃潰瘍を代表とする胃粘膜病変の発生要因として、*H. pylori* とともに情動ストレスは重要であるが、両因子の混在する病態の実験的解析はこれまでになかった。本研究では、*H. pylori* 感染に伴う胃内高NH<sub>3</sub>状態を、強制的にNH<sub>3</sub>を経口投与をするとともに、情動ストレスを負荷をCommunication box法 (CB法) によりシミュレーションするモデルを開発し、情動ストレスを負荷したマウスの胃粘膜傷害における胃内アンモニアの影響を検討した。その結果、情動ストレスによる胃粘膜傷害時に酸化的ストレスが関与すると同時にHSP70の産生が認められた。しかし、高NH<sub>3</sub>存在下では、HSP70の産生は抑制され、傷害をさらに悪化させている可能性が示唆された。

審査では、まず、CB法の有用性について質問された。これに対し、従来、精神薬理の領域で用いられてきた方法を、実験疫病学へ応用したもので、水没拘束などと異なり、情動ストレスを受ける個体には、直接の身体的ストレスはかからない系であり、また、senderにかける電気刺激の頻度、強度等を設定することで、定量的なストレス負荷も可能であるという点で有用であると回答された。また、胃内に投与したNH<sub>3</sub>の濃度については、既報の*H. pylori* 感染下の胃内濃度を再現している点で、妥当性があると評価された。NH<sub>3</sub>投与のみで白血球が増えた理由についても質問があり、これに対しては、NH<sub>3</sub>の短期投与で直接的胃粘膜傷害は起こりにくいため、むしろNH<sub>3</sub>によるHSP70の抑制などと関連した粘膜防御因子の低下による可能性が考えられると回答された。また、白血球浸潤が起こっても、過酸化脂質が上昇していない群については、その理由が質問されたが、白血球から放出された活性酸素種が、抗酸化物質に消費された可能性が挙げられるが、今回測定したCu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>・SODと還元型グルタチオンには、差がなかったことから、それ以外の抗酸化物質の関与が考えられると回答された。また、HSP70に注目した理由については、急性期にHSP70が誘導され、HSP60などは治療期に増加すると報告されているため、HSP70に注目したと回答された。情動ストレスにNH<sub>3</sub>負荷という状況は、交感神経緊張状態におけるNH<sub>3</sub>の影響をみていることになるが、他に、どのような臨床的病態が考えられるかとの質問もあり、交感神経系の強調された病態である肝硬変 (門脈圧亢進症など) の高NH<sub>3</sub>血症も同様の病態が考えられると回答された。また、HSP70の発現部位についての質問に対して、本分画では、核、ミトコンドリアは除かれており、細胞質部分を測定したと考えられ、HSP70の発現部位は細胞質であると回答された。また、雄性マウスを使用した理由を質問され、雌は性周期などがあり、ホルモンの影響をうけやすいため雄を使用したこと、実験疫病学では、雌の潰瘍は発生しにくいとされているためと回答された。

以上のように、本研究は、今後検討されるべき課題を残しているものの、消化器診療の日常で頻繁に遭遇する*H. pylori* 感染下でのストレスによる胃粘膜病変を動物実験モデルにて定量的に検討し、分子シャペロンであるHSP70の関与まで言及した点で、消化器病学上、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 石井 裕正  
外科学 北島 政樹 医化学 末松 誠  
病理学 坂元 亨宇  
学力確認担当者：北島 政樹  
審査委員長：北島 政樹

試問日：平成15年10月7日