

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16985

研究課題名（和文）胃の膵上皮化生の発生メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the developmental mechanism of pancreatic acinar cell metaplasia in stomach

研究代表者

和田 康宏（Wada, Yasuhiro）

大分大学・医学部・客員研究員

研究者番号：10812125

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000 円

研究成果の概要（和文）：膵上皮化生は胃粘膜に見られる化生であり、その発生メカニズムや存在意義については知られていない。本研究ではラット十二指腸液逆流モデルを作成した。胆汁酸の逆流が見られる胃-空腸吻合部周囲の粘膜に、十二指腸液の逆流によるSPEMを伴う胃粘膜損傷に関連して誘導され、さらに膵上皮化生、幽門腺化生は、腺頸部に由来する幹細胞より発生していると考えた。また、胃粘膜から採取した生検組織5930例について人での膵上皮化生の発生頻度と患者背景を検討し、胃前庭部に膵上皮化生が発生しやすいことが示された。胃前庭部は日常診療では胆汁逆流が見られやすい箇所であることから、胆汁酸が膵上皮化生の発生に関与していると考えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵上皮化生は胃粘膜に見られる化生であり、その発生メカニズムや存在意義については知られていない。本研究では膵上皮化生が十二指腸液に含まれる胆汁酸逆流により誘導されている可能性が示された。しかし、膵上皮化生を誘導する胆汁酸の同定や、実際に胃粘膜に胆汁酸刺激を加えて、膵上皮化生を誘導する遺伝子を同定できておらず今後の研究課題である。また、膵上皮化生と胃癌の発生の関与は現段階では不明であり、今後の研究課題と考える。

研究成果の概要（英文）：Pancreatic acinar cell metaplasia is found in gastric mucosa, and its developmental mechanism and significance are not elucidated. In this study, we created a rat reflux model of duodenal fluid. We considered that pancreatic acinar cell metaplasia is induced in the mucosa around the gastric-jejunal anastomosis, where bile acid reflux is observed, in association with gastric mucosal injury with SPEM due to duodenal fluid reflux. We also considered that pancreatic acinar cell metaplasia and pyloric metaplasia originated from stem cells derived from the neck region. The frequency of pancreatic acinar cell metaplasia in humans and the patient background of 5930 biopsies taken from the gastric mucosa showed that pancreatic acinar cell metaplasia is more likely to occur in the gastric antrum. Since the gastric antrum is a common site of bile reflux in daily practice, we hypothesized that bile acid is involved in the development of pancreatic acinar cell metaplasia.

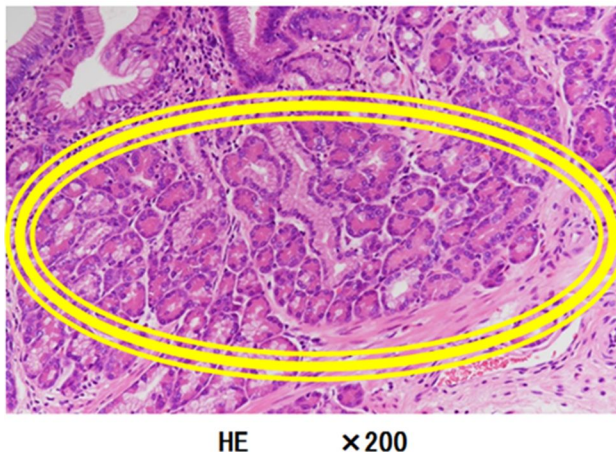
研究分野：消化器内科学

キーワード：膵上皮化生 胆汁酸逆流

1. 研究開始当初の背景

胃粘膜に起こる化生として「腸上皮化生」が知られている(図1)。腸上皮化生は胃粘膜の一部が膵腺房細胞に分化する化生である。腸上皮化生は(1)自己免疫胃炎、(2)制酸剤である Proton pump inhibitor(PPI)投与、(3)*H.pylori* 感染で認められると報告されている。研究代表者らはこれらの病態に共通する事象として胃内の胃粘膜の障害に対する再生性変化と低酸状態を想定している。低酸状態では十二指腸から胃に逆流する胆汁酸濃度が増えると言われている。現在腸上皮化生の組織発生の機序は不明であるが、研究代表者らは胃から腸上皮への分化に十二指腸液のうち胆汁酸が関与していると仮説を立てた。本研究では、腸上皮化生の発生機序と発生に関わる遺伝子を同定しようと考えた。

図1 ヒトの腸上皮化生



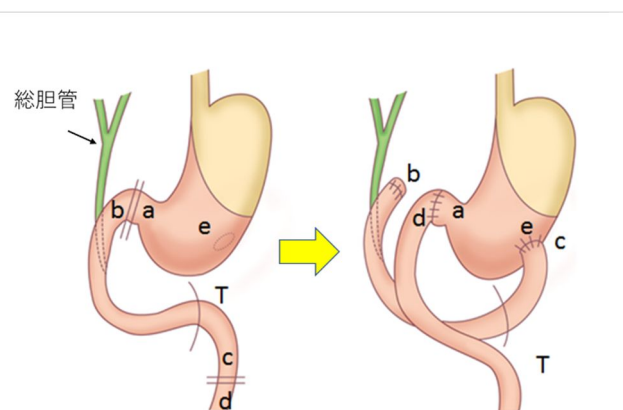
2. 研究の目的

腸上皮化生は胃癌との関連は不明であるが、*H.pylori* 感染と同じく前癌状態と言える自己免疫性胃炎では腸上皮化生はしばしば観察され、腸上皮型の胃癌もまれに発生する。*H.pylori* 感染に伴う胃炎の罹患数がいまだに多いこと、本邦でも自己免疫性胃炎の症例が増加している現状を考えると、腸上皮化生は今後さらに注目されるべき病態である。これまで膵臓への分化に関わる遺伝子として、PTF1A 遺伝子と PDX1 遺伝子が知られている。PTF1A 遺伝子は膵腺房細胞の外分泌腺への分化、PDX1 遺伝子は膵内分泌腺への分化に関与した遺伝子である。胃粘膜から腸上皮化生への分化に関わる遺伝子が存在するかどうかは知られていない。遺伝子の特定により、将来的には ES 細胞や iPS 細胞より膵臓への分化が誘導できれば、再生医療分野への活用の可能性を秘めている。以上の研究は海外での研究であり、本邦での腸上皮化生の検討は私たちの報告のみである (Dig Dis Sci. 52:1219-1224, 2007)。本研究は腸上皮化生という本邦ではユニークな点に着目しており、新しい知見が得られ、大変有意義な研究であると考えた。そこで、本研究で以下の3項目について検討する計画とした。(1)ラット十二指腸液逆流モデルの作成と腸上皮化生の組織発生の解明、(2)腸上皮化生を誘導する胆汁酸の同定、(3)ラット胃組織を 3D 培養システムにより用いて初代培養し、胆汁酸刺激を加えて、腸上皮化生を誘導する遺伝子を同定。本研究では(1)は実現できたが、(2)(3)は症例数の蓄積ができず実現ができなかった。そこで(2)(3)に代わって、(4)人の *H.pylori* 感染した胃粘膜における腸上皮化生の発生部位と頻度の検討を行った。

3. 研究の方法

(1)ラット十二指腸液逆流モデルの作成と腸上皮化生の組織発生の検討では、コントロールとラット逆流モデル群を作製した。術後 30 週までに安楽死させ、胃を摘出し、組織学的に評価した。膵腺房細胞になる抗 アミラーゼ抗体や、腸分化にかかわるとされる抗 PDX1 抗体や抗 PTF1A 抗体を用いた免疫染色とともに、SPEM に陽性となる TFF2 や幽門腺型の細胞に陽性となる HIK1083 と合わせた蛍光二重染色を行い、腸上皮化生の組織発生や起源について検討した。ラット逆流モデルは過去の論文 (Dig Dis Sci. 48:2153-2158, 2003) に従って作製した(図2)(Dig Dis Sci.6:1072-1079, 2021)。

図2 十二指腸液逆流モデル



(4)の胃粘膜における腸上皮化生の発生部位と頻度の検討では、大分大学医学部消化器内科学講座で 1998 年 1 月 1 日から 2019 年 12 月 31 日までに胃粘膜から採取した生検組織 5930 例について人での腸上皮化生の発生部位と頻

度を検討した。当院では同意を得られた患者から胃粘膜から5点生検（生検部位は前庭部大弯、前庭部小弯、胃角部小弯、体部小弯、体部大弯の5か所）（図3）を行い、腭上皮化生が発生しやすい部位と頻度を検討した（BMC Gastroenterol.22:289, 2022）。

4. 研究成果

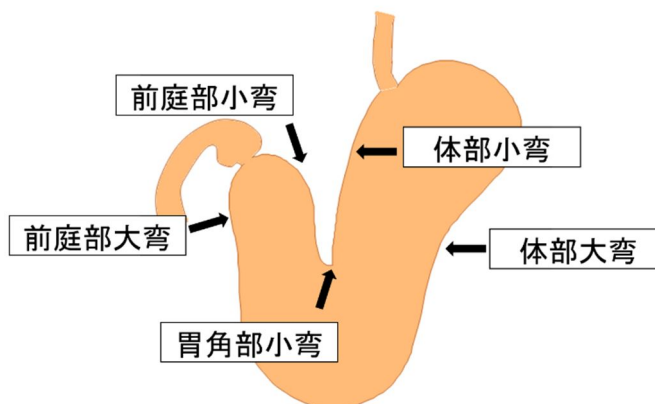
(1)のラット十二指腸液逆流モデルの作成と腭上皮化生の組織発生の検討では、手術後30週まで生存した、12匹の逆流モデルを安楽死させ、胃を摘出したところ、いずれのラットにも胆汁酸の逆流が見られる胃-空腸吻合部周囲の粘膜に、アミラーゼ陽性、TFF2弱陽性の腭上皮化生を認めた。腭上皮化生の周囲の腺窩上皮から腺頸部にかけてTFF2が陽性であった。このことから、腭上皮化生は十二指腸液の逆流によるSPEMを伴う胃粘膜損傷に関連して誘導され、さらに腭上皮化生、幽門腺化生は、腺頸部に由来する幹細胞より発生していると考え

られた。なお、抗PDX1抗体や抗PTF1A抗体の免疫染色はラットの胃粘膜では安定した染色ができなかったため、本研究では評価はできなかった。これらの結果はDigestive Diseases and Sciences誌に掲載された(Dig Dis Sci.6:1072-1079,2021)。

(4)の胃粘膜における腭上皮化生の発生部位と頻度の検討では、腭上皮化生は前庭部大弯で0.56%、前庭部小弯、体部小弯では0.17%で発生した。胃角部大弯、体部大弯では腭上皮化生は見られなかった。腭上皮化生は前庭部大弯に発生しやすいことが示された(BMC Gastroenterol.22:289,2022)。

(1)や(4)の結果よりラット十二指腸液逆流モデルでは、胆汁の逆流が見られる胃-空腸吻合部周囲の粘膜に、十二指腸液の逆流によるSPEMを伴う胃粘膜損傷に関連して誘導され、さらに腭上皮化生、幽門腺化生は、腺頸部に由来する幹細胞より発生していると考えた。また、腭上皮化生は日常診療では胆汁逆流が見られやすい箇所である前庭部大弯に発生しやすいことが示されたことから、胆汁酸が腭上皮化生の発生に関与している可能性を考えた。今後前庭部大弯で腭上皮化生を認めた症例と認めなかった症例の胆汁酸の分画の差を同定することが望ましいが、(4)の検討では生検検体における前庭部大弯での腭上皮化生の出現率は0.56%であり、時間をかけての症例の蓄積が必要である。また、腭上皮化生の発生にかかわる遺伝子の同定も今後の検討課題である。

図3 5点生検の生検部位



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yasuhiro Wada; Kenichi Mukaisho; Shunpei Kanai; Takahisa Nakayama; Masahide Fukuda; Kazuhiro Mizukami; Tadayoshi Okimoto; Masaaki Kodama; Hiroyuki Sugihara; Kazunari Murakami; Ryoji Kushima	4. 巻 66
2. 論文標題 Development of Pancreatic Acinar Cell Metaplasia During Gastric Repair in a Rat Duodenal Contents Reflux Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Digestive Diseases and Sciences	6. 最初と最後の頁 1072-1079
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10620-020-06342-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takafumi Fuchino, Yasuhiro Wada, Masaaki Kodama, Ken-ichi Mukaisho, Kazuhiro Mizukami, Tadayoshi Okimoto, Ryoji Kushima, Kazunari Murakami	4. 巻 22
2. 論文標題 Clinicopathological characteristics of pancreatic acinar cell metaplasia associated with Helicobacter pylori infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 289-289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12876-022-02338-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 和田康宏、九嶋亮治、向所賢一、兒玉雅明、淵野貴文、福田昌英、水上一弘、沖本忠義、村上和成	4. 巻 57
2. 論文標題 背景胃粘膜の病理組織学的所見	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 胃と腸	6. 最初と最後の頁 1175-1185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 和田康宏、向所賢一、金井俊平、仲山貴永、福田昌英、水上一弘、沖本忠義、兒玉雅明、杉原洋行、村上和成、九嶋亮治
2. 発表標題 膵上皮化生は胃粘膜の再生過程で発生する ラット十二指腸液逆流モデルからの知見
3. 学会等名 第109回病理学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀧野貴文、和田康宏、兒玉雅明、向所賢一、水上一弘、沖本忠義、九嶋亮治、村上和成
2. 発表標題 H. pylori 感染胃炎ならび除菌後における腭上皮化生の臨床病理学的検討
3. 学会等名 第17回日本消化管学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	九嶋 亮治 (Kushima Ryoji)	滋賀医科大学・臨床検査医学講座・教授 (14202)	
研究協力者	村上 和成 (Murakami Kazunari)	大分大学・消化器内科学講座・教授 (17501)	
研究協力者	向所 賢一 (Mukaisho Kennichi)	滋賀医科大学・医学・看護学教育センター・教授 (14202)	
研究協力者	兒玉 雅明 (Kodama Masaaki)	大分大学・福祉健康科学部・教授 (17501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------