

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K24255

研究課題名(和文)死亡例における胃粘膜病変発症の分子機構の解明

研究課題名(英文)Mechanisms of pathological change of gastric mucosa on autopsy cases

研究代表者

楊 志斌 (Yang, Chihpin)

大阪大学・大学院医学系研究科・特任助教(常勤)

研究者番号：10852543

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、初めから凍死時の胃粘膜の特殊な変化に着眼し、スライス培養法を用いて、胃酸の分泌の促進と低体温の関連、とその可能なメカニズムにたどり着いた。もう一つの目的糖尿病ケトアシドーシスと凍死の共通的な死体現象について、動物モデルの考案は新型コロナウイルス感染拡大と重なりほぼ進展出来ず、実の事例も集めることができず残念な結果となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は凍死事例による死体現象の一つのWischnewski斑に対し、分子的メカニズムの仮説を立て、さらに実験的手法で仮説を証明した。本研究では、低体温状態でしか発現上昇しない遺伝子は、凍死診断に分子的レベル証拠をもたらすことを示した。国内では、Umehara等の研究により、骨格筋内のある遺伝子群が極端体温環境で発現が上昇した報告もある(Umehara T. et al, 2020)。最後に、in vivo実験でWischnewski斑の再現は困難であり、近年の文献を検索したところまだ成功した報告はいない、in vivoで同じ現象を再現する課題が残されていた。

研究成果の概要(英文)：Our research first focused on the post-mortem change of gastric mucosa, so-called Wischnewski spot. We use in vitro techniques called slice culture to mimic real gastric mucosa and finally found possible mechanisms that cause gastric acid secretion in low body temperature. However, while we tried to use the same methods to find mechanisms of certain findings of kidneys in diabetic ketoacidosis post-mortem cases, covid-19 lockdown occurred and we failed establishing animal model and collecting autopsy cases.

研究分野：法医学

キーワード：Wischnewski spot Fatal hypothermia Diabetic ketoacidosis

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

低体温症で死亡した解剖事例では、胃粘膜に多数変色点が散在して、Wischnewski 斑と言われている。研究者が在籍していた教室は年に数件の凍死事例があり、研究者はこの現象もよく観察していたし、この現象についての先行論文も調べた、この現象について未だに生成原因が見つかっておらず。研究者はこの現象が胃に特異性があることで、胃酸の生成がこの現象と関連していることを仮定して、遺伝子の分析出来ないかと考えた。研究者等は数個胃粘膜上に発現している遺伝子が低温環境で発現が上昇したことを判明した。それを踏まえて、研究者等は他の死体現象にも着目した、例えば Armanni-Ebstein 現象と呼ばれた凍死時腎小球の組織的变化。研究者等は同じ手法を違う器官での応用を考えた。更に、同じく二つの現象を有する事例群が報告され、それが糖尿病アシドーシスとされる、この二つの死因の繋がりはいずれも事例からの観察を考えた。

### 2. 研究の目的

本研究は、低体温死における特異的な分子メカニズムの解明を目指す。申請者らは先行の研究で、低体温死における死体現象の一つのWischnewski斑の分子メカニズムの解明に努めた。低体温死の事例においては、特異的な死体現象、たとえばWischnewski斑、Armani-Ebstein現象、が起こしている。それらの現象は、糖尿ケトアシドーシスの事例からも観察出来た。申請者等はこれから一、動物モデル、二、解剖事例の病理的变化を対象に、低体温時における身体的変化及びその変化に至る分子メカニズムの解明を目指す。

### 3. 研究の方法

凍死のように体外環境において生じる病変についてはまず自律神経系や循環動態、あるいは循環系に乗った因子の反応なのか、それとも胃粘膜特異的な反応かを明らかにする必要がある。そこで、胃では殆ど使われていなかった、organotypic胃スライス培養法を用いた。全身への影響として神経系、循環器系の影響を除去するものの、胃の組織構成を保持したまま、詳細な分子解析ができることができると考えた。遺伝子の比較手法は、qRT-PCR、western blotting、免疫染色、RNAシーケンスなどを用いる。

### 4. 研究成果

- (1) まずは低温環境で胃酸の分泌実際増加しているかの検討。  
32°Cの低温環境で六時間培養後、培養液の pH は対照群より有意に下がった。

- (2) 次は胃酸の生成に最も関わる胃壁細胞上のプロトンポンプについて、32°Cの低温環境での変化を検討した。プロトンポン

プは非胃酸分泌時、細胞質に分散する小胞体の表面に存在する。胃酸分泌時、小胞体は胃腔側のアピカル膜に融合し、胃酸を大量に胃腔側に放出する。32°Cの低温環境で、プロ

トンポンプを構成した HK $\alpha$ /HK $\beta$  タンパク質及び mRNA の発現が有意に増加した。また、細胞質と細胞膜成分を分離して解析した結果、細胞膜にいた HK $\alpha$ /HK $\beta$  の mRNA 発現が有

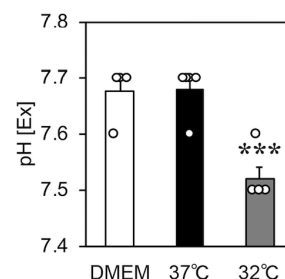


図1. 培養液中の pH が低温環境に減少が認められた

意に増加した。このことから、32℃の低温環境下、プロトンポンプを含有した小胞体は、アピカル膜に融合した分泌態に移行することが推察された。

(3) 次は胃酸以外に、胃粘膜病変を引き起こす可能性のあるタンパク質分解酵素ペプシンについて、低温環境での変化を検討

した。胃のタンパク質分解酵素はペプシンCで、その前駆体であるペプシノゲンは酸性環境でペプシンへと変化する。32℃の低温環境で、ペプシノゲンの mRNA 発現が有意に増加した。

以上のことから、低温環境下で、壁細胞の中のプロトンポンプは発現量を増加し、小胞体が細胞質からアピカル膜の移行により、胃酸の生成を短時間に増加させた。また、ペプシノゲンの発現も上昇し、その産物が酸性環境でペプシンCへ変化した、胃酸と一緒に胃粘膜病変の原因になりうることを示唆された。

〈引用文献〉

1. Yang, C., Sugimoto, K., Murata, Y. *et al.* Molecular mechanisms of Wischnewski spot development on gastric mucosa in fatal hypothermia: an experimental study in rats. *Sci Rep* **10**, 1877 (2020).

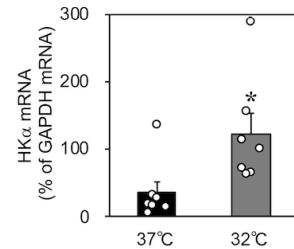


図 2. 細胞膜成分を単離して解析した結果低温環境で、細胞膜にいた HKα の mRNA 発現量が有意に増加した。

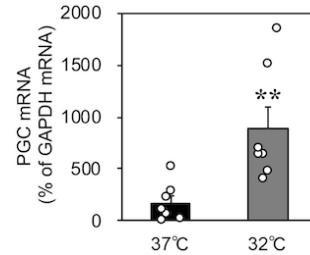


図 3. ペプシノゲンの mRNA 発現が低温環境で有意に増加した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Chihpin Yang	4. 巻 10
2. 論文標題 Molecular mechanisms of Wischnewski spot development on gastric mucosa in fatal hypothermia: an experimental study in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1877
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-58894-8	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Chihpin Yang
2. 発表標題 Molecular mechanisms of Wischnewski spot development on gastric mucosa in fatal hypothermia: an experimental study in rats
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------