

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 371 号	氏名	小川 竜
審査委員会委員	主査氏名	平松 和史	
	副査氏名	井原 健二	
	副査氏名	植田 星児	
論文題目 Changes in gastric mucosal glycosylation before and after <i>Helicobacter pylori</i> eradication using lectin microarray analysis (レクチンマイクロアレイ法を用いた <i>H. pylori</i> 除菌前後での胃粘膜糖鎖発現の検討)			
論文掲載雑誌名 Turkish Journal of Gastroenterology			
論文要旨 緒言：グリコシル化は、翻訳後修飾のひとつであり、細胞上のグリコシル化パターンの変化は細胞増殖、分化、組織粘着力や発癌に関連があると報告されている。 <i>H. pylori</i> 感染は萎縮性胃炎、胃十二指腸潰瘍、MALT リンパ腫や胃癌の原因となるが、 <i>H. pylori</i> 感染と胃粘膜グリコシル化パターンの関係は明らかでない。本研究では、レクチンマイクロアレイ法を用いて、 <i>H. pylori</i> 除菌前後での胃粘膜グリコシル化パターン変化の関連性を検討した。 対象及び方法：当院で施行した上部消化管内視鏡検査時に得られた、 <i>H. pylori</i> 未感染 10 例、 <i>H. pylori</i> 感染胃炎 10 例の除菌前および除菌後 1 年の胃粘膜生検組織を使用した。ホルマリン固定、パラフィン包埋された胃生検組織より、炎症による影響を最小限にするため、腺細胞を Laser Capture Microdissection を用いて採取し、抽出した蛋白を用いてレクチンマイクロアレイ法で Lectin-glycan interaction (LGI) 値を測定した。 結果：LGI 値は、同一患者において、 <i>H. pylori</i> 除菌前後で、胃前庭部では RCA120、TJA-II、EEL、Jacalin、ACA、MPA が有意に上昇し、UDA が有意に低下した。胃体部では、LTL、UEA、SNA、SSA、TJA-I が除菌後に有意に低下した。さらに、 <i>H. pylori</i> 未感染群と比較すると、胃前庭部においては、Jacalin および MPA は、 <i>H. pylori</i> 感染で有意に低下するものの、除菌により未感染レベルにまで回復が認められた。胃体部においては、LTL、SNA、SSA、TJA-I は、 <i>H. pylori</i> 感染にて有意に上昇するものの、除菌により未感染レベルにまで回復が認められた。 考察： <i>H. pylori</i> 感染により Jacalin、MPA、LTL、SNA、SSA、TJA-I は有意な変化を認め、除菌 1 年後に未感染レベルにまで回復した。LTL は膀胱癌の進行度マーカー、SNA は大腸直腸癌、肝細胞癌、膵癌の診断・転移・予後マーカーや肺炎診断マーカー、SSA は糖尿病性腎症の進行予測マーカー、SSA、SNA、TJA は大うつ病性障害の診断・モニタリングマーカーとしての報告がある。また Jacalin はヒト大腸癌細胞に対して増殖抑制作用があることが報告され、MPA に対する具体的な報告はないが、Jacalin と 85% の相同性があり、癌化と関連する可能性がある。 <i>H. pylori</i> 感染により胃粘膜細胞上では、さまざまな癌と関連性のあるレクチン結合状態が変化し、除菌によって回復していることが明らかとなった。 本研究は、 <i>H. pylori</i> 感染除菌前後の胃粘膜糖鎖のレクチン結合パターン変化を検討した初めての報告である。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。			

~~最終試験~~
の結果の要旨
学力の確認

審査区分 課・論	第371号	氏名	小川 竜
審査委員会委員	主査氏名	平松 和史 	
	副査氏名	井原 健二 	
	副査氏名	植田 昌規 	
<p>学位申請者は本論文の公开发表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. glycosylation パターンと <i>H.pylori</i> 関連あるいは非関連の胃がんとの関係性を検討した研究はこれまでにないのか。 2. <i>H.pylori</i> が感染した胃粘膜はどのような状態か。菌は胃粘膜に均一に分布しているのか、それとも感染領域と非感染領域があるとすると、どのような分布なのか。 3. introduction の中で初めはメチル化の記載があるが、その後グリコシル化に注目した理由は何か。 4. ホルマリン固定の検体を用いて検討を行っているが、ホルマリン固定をしても糖鎖の構造に影響しないのか。 5. 今回、内視鏡的に軽度の胃炎の患者を選択している。胃炎の強いものを選ばずに、軽度の胃炎患者に絞った理由は何か。 6. 普段数多くの内視鏡を行っている。本研究では除菌前後の10名を選択し、コントロール群も10名選択している。どのように10名を選択したか。 7. 病理組織から LCM で採取された胃粘膜の腺組織の中に含まれる <i>H.pylori</i> の数は測定できないのか？またどれくらいの <i>H.pylori</i> が含まれると推定されるのか。含有される菌数により解析結果に幅が生じてしまうのではないか。 8. レクチンは特定の糖鎖と特異的に結合するのか。 9. レクチンアレイに用いた各サンプル中のタンパク量はどのようにして定量し均等化したのか。 10. 表と図のデータはすべて平均値で記載されているが、標準偏差を記載していない理由は何か。また標準偏差は大体どれくらいだったのか。 11. 胃前庭部の除菌前と除菌後の lectin-glycan interaction value では7つのレクチンで有意差を認めている。しかしながら、Fig.1 においては Jacalin と MPA のみを選択され、<i>H.pylori</i> 非感染例との比較が示されている。なぜ他の5つについて示していないのか。 12. 非感染例と除菌前後の lectin-glycan interaction value の比較は、測定した全ての値を検討したのか。 13. <i>H.pylori</i> 除菌前後の糖鎖の構成を検討しているが、除菌1年後の検体を用いている。<i>H.pylori</i> 感染以外に糖鎖の構成に影響を与える要因はないのか。 14. 胃の前庭部と体部でアレイの結果が異なるが、胃がんの発症メカニズムも異なるのか。組織学的にも両者は異なる組織像を呈するのか？ <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 小川 竜

論 文 題 目

Changes in gastric mucosal glycosylation before and after *Helicobacter pylori* eradication using lectin microarray analysis

(レクチンマイクロアレイ法を用いた *H. pylori* 除菌前後での胃粘膜糖鎖発現の検討)

要 旨

- ア. 緒言: グリコシル化 (Glycosylation) は、一般的な翻訳後修飾 (Post-translational modification) のひとつであり、細胞上のグリコシル化パターンの変化が細胞増殖、分化、組織粘着力や発癌に関連性があると報告されている。ヘリコバクターピロリ感染は萎縮性胃炎、胃十二指腸潰瘍、MALT リンパ腫さらには胃癌の原因となることが知られているが、ヘリコバクターピロリ感染と胃粘膜グリコシル化との関係は未だに報告されていない。本研究では、レクチンマイクロアレイ法を用いて、ヘリコバクターピロリ感染、除菌前後での胃粘膜グリコシル化の関連性を検討した。
- イ. 研究対象及び方法: 当院で施行した上部消化管内視鏡検査時に得られた、ヘリコバクターピロリ未感染 10 例、ヘリコバクターピロリ感染胃炎 10 例の除菌前および除菌後 1 年の胃粘膜生検組織を使用した。ホルマリン固定、パラフィン包埋された胃生検組織より、炎症による影響を最小限にするため、腺細胞のみを LCM (Laser Capture Microdissection) を用いて採取、抽出した蛋白を用いてレクチンマイクロアレイを行い、LGI (Lectin-glycan interaction) 値を測定した。
- ウ. 結果: LGI 値は、同一患者において、ヘリコバクターピロリ除菌前後で、前庭部では RCA120、TJA-

II、EEL、Jacalin、ACA、MPA が有意に上昇し、UDA が有意に低下した。体部では、LTL、UEA、SNA、SSA、TJA-I が除菌後に有意に低下した。さらに、ヘリコバクターピロリ未感染群と比較すると、胃前庭部においては、Jacalin および MPA は、ヘリコバクターピロリ感染にて有意に低下するものの、除菌により未感染レベルにまで回復が認められた。胃体部においては、LTL、SNA、SSA、TJA-I は、ヘリコバクターピロリ感染にて有意に上昇するものの、除菌により未感染レベルにまで回復が認められた。

エ. 考察：ヘリコバクターピロリ感染により Jacalin、MPA、LTL、SNA、SSA、TJA-I は有意な変化を認め、除菌 1 年後に未感染レベルにまで回復した。LTL は膀胱癌の進行度マーカー、SNA は大腸直腸癌、肝細胞癌、膵癌の診断・転移・予後マーカーや肺炎診断マーカー、SSA は糖尿病性腎症の進行予測マーカー、SSA、SNA、TJA は大うつ病性障害の診断・モニタリングマーカーとしての報告がある。Jacalin は腫瘍関連性の Thomsen-Friedenreich(TF)抗原を認め、ヒト大腸癌細胞に対して増殖抑制作用がある。MPA に対する具体的な報告はないが、Jacalin とは 85% 相同性があり、TF 抗原に対し高い特異性を有し、MPA は癌化と関連する可能性がある。感染により有意な変化を認め、除菌により未感染レベルにまで回復するというこれらの変化は、胃粘膜における炎症スコアや活動性スコアにおける変化と同様である。ヘリコバクターピロリ感染による糖鎖発現の可逆性を示唆した興味深いデータであり、ヘリコバクターピロリ感染と胃癌発症が密接に関係している地域では重要な意味を持つ。

オ. 結語：本研究は、ヘリコバクターピロリ未感染症例と、同一症例での除菌前後の胃粘膜糖鎖へのレクチン結合を検討した初めての報告である。ヘリコバクターピロリ感染により胃粘膜細胞上では、さまざまな癌と関連性のあるレクチン結合状態が変化していた。さらに、それらの変化はヘリコバクターピロリ除菌によって回復することが判明した。