

## 【33】

氏 名	佐藤陽子
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	乙第829号
学位授与の日付	令和4年10月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項
学位論文題目	Unique membranous gastrin receptor expression of parietal cells and its distribution pattern in the gastric oxyntic mucosa and fundic gland polyps (胃底腺壁細胞の細胞膜でのガストリンレセプターの特異な発現ならびに胃底腺粘膜と胃底腺ポリープにおけるその発現分布様式)
論文審査委員	(主査) 教授 石田和之 (副査) 教授 玉野正也 教授 奥山 隆

### 論文内容の要旨

#### 【背景】

ガストリンレセプター (gastrin receptor : GR) はヒト胃の胃底腺壁細胞や腸クロム親和性細胞様細胞 (enterochromaffin-like cells : ECL細胞) に発現し、ガストリンの結合により壁細胞の酸分泌を促進する。ガストリン-GR系はECL細胞増殖や複数の増殖因子分泌を介して粘膜増殖を促すことが知られ、またGRの発現は胃原発の癌や腫瘍において報告されており、ガストリン-GR系は酸分泌だけでなく胃底腺粘膜の変化に関連している可能性がある。一方、プロトンポンプ阻害薬 (proton pump inhibitor : PPI) が壁細胞をターゲットとする酸分泌抑制薬として近年広く用いられており、PPIの長期使用により胃底腺ポリープ (fundic gland polyp : FGP) の発生などの胃粘膜の構造的変化を来すことが知られている。このようにガストリン-GR系は胃底腺粘膜の変化やFGP発生に関連する粘膜の構造変化に関連している可能性があるが、その主要因子であるGRの胃底腺粘膜における発現の状態に関してこれまで十分に検討されているとは言い難い。

#### 【目的】

胃底腺粘膜やFGPにおけるGRの発現状態を確認し、その発現様式と組織学的及び免疫組織化学的に評価した胃底腺粘膜の状態ないしPPI内服歴との関連を明らかにする。

#### 【対象と方法】

本研究は獨協医科大学埼玉医療センター倫理審査委員会の承認 (No.19102) のもと行った。対象症

例はすべて同院病理診断科において2013年から2021年の期間に病理診断された検体である。胃底腺粘膜の評価に関しては、胃・食道腫瘍の手術検体から得られた萎縮や高度炎症細胞浸潤および腫瘍性変化のない34例の胃底腺粘膜組織を用い、FGPに関しては、上部消化管内視鏡検査にて生検や粘膜切除により33症例から採取された43病変を用いた。対象症例の医療記録から臨床情報や内服歴を得た。

上記の確定診断後の症例に対して、既存のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから標本の薄切を行い（formalin fixed paraffin embedded section：FFPE標本）、ヘマトキシリン・エオジン染色（hematoxylin and eosin staining：HE染色）とともに、胃型の粘液形質マーカーであるMUC5ACやMUC6、細胞増殖能マーカーであるKi-67、ヘリコバクター・ピロリ（*Helicobacter pylori*：H. pylori）およびGRに対する免疫組織化学染色（免疫染色）を行った。GRに関しては、代表症例に対してGRの免疫蛍光染色やFFPE標本上でのin situ hybridization（ISH）によるmRNAの検出も追加し、その発現を確認した。

全対象症例のHE標本に対する組織学的評価を行い、以下の点を検討した：① 胃底腺粘膜表層の腺窩上皮の過形成様変化の有無、② 壁細胞の細胞質の断頭分泌様変化あるいは細胞質の微小空胞変性の有無（いずれもPPI長期内服により現れるとされる）、③ 中等度以上の単核球性炎症細胞浸潤の有無（updated Sydney systemに基づく）。また、FGPに対しては、拡張した胃底腺の最大径などの定量的な計測を追加した。

統計解析にはフリー統計ソフトEZR（自治医科大学附属埼玉医療センター）を用い、フィッシャーの正確確率検定やマン・ホイットニーのU検定、ピアソンの相関係数にて検討し、 $p < 0.05$ を有意とした。

## 【結 果】

GRの免疫染色により、壁細胞細胞質の弱陽性像に加え、特徴的な線状の細胞膜陽性像（membranous linear GR expression：mGR）が壁細胞の内腔側に認められた。mGRには再現性があり、殆どの胃底腺粘膜標本で認められ、免疫蛍光染色でも確認された。ISHでは壁細胞の細胞質にGRのmRNAがドット状に認められた。

胃底腺粘膜標本においてmGRの分布は、mGRが認められない（パターン0）、mGRが腺峡部・頸部に限局（パターン1）、mGRが腺峡部・頸部および腺底部に非連続的に認められる（パターン2）、mGRが腺峡部・頸部～底部に連続して認められる（パターン3）という所見を呈しており、腺底部のmGRの有無により、パターン（0, 1）とパターン（2, 3）の二群に大別された。これら二群間で臨床病理学的および病理組織学的所見の検討を行い、以下の結果を得た：① 正常に近い状態の胃底腺粘膜ではGRの壁細胞細胞質陽性像は粘膜全体に認められたが、mGRは峡部・頸部に限局して認められた。② 胃底腺腺底部でのmGR陽性壁細胞の出現は、PPI内服歴のある症例において有意に多かった。③ 胃底腺腺底部でmGR陽性壁細胞を伴う症例では峡部・頸部域以深のMUC5AC陽性細胞およびMUC6陽性細胞の分布が拡大し、腺底部にmGRを伴わない群と比較し有意な広がりをも認めた。④ 峡部・頸部域以深のMUC5ACおよびMUC6陽性細胞の分布はPPI内服歴のある症例において有意な拡大が認められた。ちなみに、峡部・頸部域以深におけるMUC5AC陽性細胞の分布の拡大とMUC6陽性細胞の分布の拡大との間にも有意な相関関係を認めた。FGPの検討では、PPI内服歴にかかわらず、ほぼ全例において壁細胞にびまん性・高度のmGRを認め、PPI内服群では非内服群に比べてポリープ径

が有意に大きく、表層腺窩上皮の過形成性様変化および壁細胞の変化が有意に多く認められた。

#### 【考 察】

今回の検討ではGR免疫染色により壁細胞の細胞質陽性像に加え特徴的なmGRを認めた。また、胃底腺腺底部におけるmGRの有無とMUC5AC陽性細胞やMUC6陽性細胞といった胃粘膜の構成細胞の分布の変化に相関関係を認めた。粘膜傷害を伴う胃粘膜では今回の結果にも認められたようなMUC6陽性細胞の出現を伴う偽幽門腺化生や幽門腺化生といった変化が知られている。また、ガストリン-GR系と粘膜構築維持との関連を示唆した実験的報告は複数あり、GRの発現状況が胃粘膜構築の状態と関連している可能性が考慮された。加えて今回の検討では、PPI内服歴が、胃底腺腺底部のmGR分布の変化とともに胃底腺粘膜の構成細胞の分布の乱れに関連していることが示唆された。

FGPの検討では、ほぼ全例でびまん性に高度のmGRを認め、胃底腺粘膜での結果と併せ胃底腺構造の乱れがmGRの出現と関連している可能性が示唆された。

但し胃底腺腺底部のmGRの出現は、PPI長期内服に伴う胃粘膜の組織学的変化との関連はみられず、FGPでのmGR分布についてもPPI内服群と非内服群において差が認められなかった。よってmGRの出現は、PPI内服に伴う粘膜の組織学的変化およびPPIのFGP発生や増大に関連する機序とは独立した所見を捉えている可能性が考えられ、より詳細な検討が望まれる結果であった。

#### 【結 論】

本研究は胃底腺壁細胞のmGRがPPI内服下の多くの胃底腺腺底部やFGPに発現することを明らかにし、GRの発現状況がヒト胃底腺粘膜の構造維持に関連し、何らかの機能的役割を有している可能性を示した。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

#### 【論文概要】

ガストリンレセプター (gastrin receptor : GR) は胃底腺粘膜の壁細胞に発現し、ガストリン-GR系は酸分泌だけでなく、粘膜増殖といった粘膜変化に関連している。申請論文では、GRの正常胃底腺粘膜や胃底腺ポリプ(fundic gland polyp : FGP)における詳細な発現状態や、プロトンポンプ阻害薬(proton pump inhibitor : PPI) 内服歴との関連を、組織学的ならびに免疫組織化学的に検討している。その結果GRの壁細胞細胞質における弱陽性像に加え、特徴的な線状の細胞膜陽性像 (membranous linear GR expression : mGR) が壁細胞の管腔側に認められることを明らかにした。そのmGRの発現分布と臨床病理学的因子ないし胃粘膜構成細胞の分布との関連について検討を行い、1) 正常胃底腺粘膜ではmGRは峽部・頸部に限局して認められること、2) 胃底腺腺底部でのmGR陽性壁細胞の出現は、PPI内服症例において有意に多いこと、3) 胃底腺腺底部でmGR陽性壁細胞を伴う症例では峽部・頸部域以深のMUC5AC陽性細胞およびMUC6陽性細胞の分布の有意な拡大を認めること、4) PPI内服症例において峽部・頸部域以深のMUC5ACおよびMUC6陽性細胞の分布に有意な拡大が認められること、を明らかにした。加えてFGPの検討では、PPI内服歴に関わらずほとんどの症例において壁細胞にびまん性・高度のmGRが認められることを明らかにした。これらの結果から胃底腺壁細胞のmGRが、PPI内服下の多くの胃底腺腺底部や、ほとんどのFGPに発現することを明らかにし、GRの発現状況がヒト胃底腺粘膜の構

造維持に関連し、何らかの機能的役割を有している可能性がある」と結論づけている。

#### 【研究方法の妥当性】

申請論文は獨協医科大学埼玉医療センター臨床研究倫理審査の承認を得て行われた。同院病理診断科にて確定診断後の症例から適切な基準で症例を選出し、ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから、ヘマトキシリン・エオジン染色標本や免疫組織化学標本を作製し、GR等の蛋白発現の検討を行っている。それに加え、GRに関しては蛍光免疫染色やin situ hybridization (ISH) を追加し発現を確認している。また、その結果と臨床病理学的因子などとの関連も客観的な統計学的方法を用いて検討しており、本研究方法は妥当と考えられる。

#### 【研究結果の新奇性・独創性】

ガストリン-GR系の主要因子であるGRの発現状態の詳細は現在まで明らかとなっていない。本研究では胃底腺壁細胞におけるGRの特徴的な管腔側の膜陽性像を明らかにしたことに加えて、その分布パターンが、PPI内服歴と関連し、胃粘膜構成細胞の正常な分布からの逸脱や粘膜構築維持に関連している可能性を初めて明らかにした。また、FGPにおけるGRの発現状況に関する報告もこれまでなされていない。この点において本研究は新奇性・独創性に優れた研究であると評価できる。

#### 【結論の妥当性】

申請論文では、適切な症例群を選出し、適切な実験手法と客観的な統計解析を用い、GRの胃底腺粘膜やFGPにおける発現状態を検討している。そこから導き出された結論は論理的に矛盾するものではなく、病理学や消化器学などの関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

#### 【当該分野における位置付け】

申請論文では、GRの正常胃粘膜およびFGPにおける発現状態を明らかにし、PPI内服歴との関連や、胃粘膜構成細胞の分布からみたGRの発現分布パターンを検討することで、GRの特徴的な膜陽性像が胃底腺粘膜の正常状態からの逸脱や粘膜構成細胞の維持に関連している可能性を明らかにした。これは胃底腺粘膜の構築の維持ならびに、それに対するPPIの影響の解明に役立つ大変意義深い研究であり、PPIとの関連を含めた胃の病態生理に関する今後の研究の進展に寄与するものと考えられる。

#### 【申請者の研究能力】

申請者は、病理学や消化器学の分野を学び実践した上で、作業仮説を立て実験計画を立案し、本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究結果は当該領域の国際誌に掲載が承認されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

#### 【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士(医学)の学位授与に相応しいと判定した。

#### (主論文公表誌)

Human Pathology

(125 : 23-34, 2022)