

氏 名 アピチャート ナナキン
Apichart Nanakin
学位(専攻分野) 博 士 (医 学)
学位記番号 医 博 第 3233 号
学位授与の日付 平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻 医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目 Expression of the *REG IV* gene in ulcerative colitis
(潰瘍性大腸炎における *REG IV* 遺伝子発現)

論文調査委員 (主 査)
教 授 三 森 経 世 教 授 坂 井 義 治 教 授 長 田 重 一

論 文 内 容 の 要 旨

Regenerating gene (REG) IV 遺伝子は潰瘍性大腸炎 (UC) 組織の cDNA ライブラリーから強発現する遺伝子として同定された。しかしながら、UC における *REG IV* 遺伝子の役割については明らかではない。そこで本研究では、UC および UC-associated cancer (colitic cancer) における *REG IV* 遺伝子発現機序と *REG IV* 蛋白の機能について検討し、UC における *REG IV* 発現の意義を明らかにすることを目的とした。UC および colitic cancer における *REG IV* 蛋白の発現局在を免疫染色法で検討したところ、*REG IV* 蛋白は、UC の大腸再生粘膜上皮のみならず dysplasia や colitic cancer にも強発現した。次に UC 粘膜組織における *REG IV* 遺伝子及び他の細胞増殖因子の発現を Real-Time PCR 法で定量的に評価したところ、*REG IV* 遺伝子は正常大腸粘膜に比べ UC 粘膜で有意に発現が増強し、その発現強度と *bFGF*、*HGF* 遺伝子の発現強度の間にはそれぞれ正の相関を認めた。さらに *REG IV* 遺伝子の発現制御メカニズムを検討するため、大腸癌セルライン SW403 に対して、種々のサイトカイン、増殖因子の刺激を与え、*REG IV* 遺伝子の発現変化を Northern blot 法で検討した結果、*bFGF* および *HGF* の刺激によって *REG IV* 遺伝子の発現は増強し、その増強した *REG IV* 遺伝子発現は MEK 阻害剤である PD98059 により阻害された。次に *REG IV* 遺伝子の役割を明らかにするため、*REG IV* 発現ベクターを構築して大腸癌細胞 (DLD-1) に遺伝子導入し、*REG IV* 発現大腸癌細胞株 (DLD-1-*REG IV*) を樹立した。そこで DLD-1-*REG IV* 細胞を用い、*REG IV* 遺伝子強発現による細胞増殖能および抗アポトーシス効果を BrdU 取り込みと MTT 法および TUNEL 法で検討した。その結果 DLD-1-*REG IV* 細胞はコントロール比で有意に細胞増殖能が亢進するだけでなく、 H_2O_2 刺激に対して抗アポトーシス効果を示した。さらに、*REG IV* 蛋白の抗アポトーシス作用に関する分子メカニズムを明らかにするため、DLD-1 細胞に対して *REG IV* 蛋白を投与したところ、抗アポトーシス分子であるリン酸化 Akt の発現増強を認めた。以上より、*REG IV* 遺伝子の発現は *bFGF*、*HGF* などの増殖因子刺激によって増強し、*REG IV* 蛋白は UC の大腸粘膜において細胞増殖因子あるいは抗アポトーシス因子として colitic cancer の発育に関与している可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Regenerating gene (REG) IV 遺伝子は潰瘍性大腸炎 (UC) 組織の cDNA ライブラリーから同定されたが、その役割は不明である。本研究で申請者は、UC および UC 関連大腸癌 (colitic cancer) における *REG IV* 遺伝子の発現機序と *REG IV* 蛋白の機能について検討した。免疫染色法を用いた検討では、*REG IV* 蛋白は UC の大腸再生粘膜上皮のみならず、前癌病変や colitic cancer にも強発現した。次に *REG IV* 遺伝子及び細胞増殖因子の発現を Real-Time PCR 法で評価したところ、*REG IV* 遺伝子は UC 粘膜において有意に発現が増強し、その発現強度と *bFGF*、*HGF* 遺伝子の発現強度の間には正の相関を認めた。また大腸癌細胞株に対して *bFGF*、*HGF* を投与したところ *REG IV* 遺伝子の発現は増強した。さらに *REG IV* 発現大腸癌細胞株を用いた検討から、*REG IV* 蛋白は細胞増殖能と抗アポトーシス効果を有し、その効果の一部はリン酸化 Akt の発現増強を介することが明らかになった。以上より、*REG IV* 蛋白は *bFGF*、*HGF* などの増殖因子刺激によりその発

現が増強し、UCの大腸粘膜において細胞増殖因子あるいは抗アポトーシス因子として colitic cancer の病態あるいは進展に関与している可能性が示唆された。

以上の研究は大腸における炎症発癌の解明に貢献し、大腸癌発生の機序解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 2 月 25 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。