氏　　　名　金井雅史（かない　まさし）
学位(専攻分野)　博　士（医　学）
学位記番号　医　博　第2508号
学位授与の日付　平成14年5月23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　TGF-α inhibits apoptosis of murine gastric pit cells through an NF-κB dependent pathway
（TGF-αによるNF-κBを介したマウス胃粘膜培養細胞に対する抗アポトーシス作用）

論文調査委員　（主　査）教授 武藤　誠　　教授 山岡義生　　教授 千葉　勉

論文内容の要旨

正常胃粘膜の，被蓋上皮細胞（pit cell）にはtransforming growth factor-α（TGF-α）が発現している。胃粘膜におけるTGF-αの役割としては今までに，胃酸分泌抑制，細胞増殖作用などが知られている。またTGF-αのトランスジェニックマウスではメネトリエ病に似た胃粘膜の肥厚が見られること，高分化型の胃癌においてTGF-αの発現が亢進していることなどが報告されている。一方，近年，いくつかの成長因子は増殖作用だけでなく抗アポトーシス作用も有することが報告されている。そこでTGF-αが胃粘膜細胞に対して抗アポトーシス作用を有するのではないかと考え，胃粘膜におけるTGF-αの抗アポトーシス作用ならびにその細胞内情報伝達経路について検討した。

実験にはマウス培養胃粘膜細胞（GSM06）を用い，血清除去によるアポトーシス刺激に対するTGF-aの効果をLadder法，DNA断片化率の定量法を用いて検討した。さらに各種細胞内情報伝達経路阻害剤をTGF-αと同時に加え，TGF-αの抗アポトーシス作用が抑制されるか否かを検討した。TGF-αは血清除去によるGSM06細胞のアポトーシスを濃度依存性に抑制した。従来の報告ではTGF-αの受容体であるepidemal growth factor receptor（EGF-R）を介し，MEK/MAPK経路，PI-3 kinase/Akt経路が活性化されることが知られており，またこれらのいずれの経路もある種の細胞または刺激に対し抗アポトーシス作用を有することが知られている。そこでまずこれらの細胞内情報伝達経路がGSM06細胞におけるTGF-αの抗アポトーシス作用に関与しているか否かを検討した。MEK inhibitorであるPD98059またはPI3-kinase inhibitorであるwortmanninのいずれの添加によっても，TGF-αの抗アポトーシス作用は完全には抑制されなかった。従ってTGF-αの抗アポトーシス効果はMEK/MAPK，PI3-kinase/Akt以外の経路を介していると考えられた。近年，転写因子のひとつであるNF-κBが抗アポトーシス作用を有することが多数報告されている。そこでTGF-αの抗アポトーシス作用におけるNF-κBの関与について検討した。TGF-αによる抗アポトーシス効果はNF-κB阻害作用を持つMG132によって完全に抑制された。NF-κB阻害作用を持つ他の薬剤（curcumin, PDTC）にてもTGF-αの抗アポトーシス作用は抑制された。以上よりTGF-αの抗アポトーシス作用はNF-κBを介していると考えられた。さらにゲルシフトアッセイにてGSM06細胞でのTGF-α刺激によるNF-κBの活性化が確認された。

以上から，TGF-αが培養胃粘膜細胞に対してNF-κBを介した抗アポトーシス作用を有することが示唆された。Helicobactor pyloriの感染している胃においてはNF-κBの活性化が見られ，また高分化型胃癌においてはTGF-αの発現が亢進しているとの報告もあり，今回の結果はまだ不明な点が多いHelicobactor pylori感染症ならびに胃の発癌の機序の解明に寄与するものと考える。

論文審査の結果の要旨

正常胃粘膜の被蓋上皮細胞（pit cell）にはtransforming growth factor-α（TGF-α）が発現している。今回申請者らはTGF-αが胃粘膜細胞に対して抗アポトーシス作用を有するのではないかと考え，胃粘膜におけるTGF-αの抗アポトーシ

ス作用ならびにその細胞内情報伝達経路について検討した。

マウス培養胃粘膜細胞（GSM06）においてTGF-αは血清除去によるGSM06細胞のアポトーシスを濃度依存性に抑制した。次にTGF-αの抗アポトーシス作用に関与する細胞内情報伝達経路に関して検討した。MEK inhibitorであるPD98059またはPI3-kinase inhibitorであるwortmanninのいずれの添加によっても，TGF-αの抗アポトーシス作用は完全には抑制されなかったが，NF-κB阻害作用を持つMG132によって完全に抑制された。以上よりTGF-αの抗アポトーシス作用はNF-κBの経路を介していると考えられた。さらにゲルシフトアッセイにてGSM06細胞でのTGF-α刺激によるNF-κBの活性化が確認された。またこの下流においてTGF-α刺激によりRT-PCR法によりBcl-2 family proteinのmRNAの増加が確認された。

以上から，TGF-αが胃粘膜培養細胞に対しNF-κBを介して抗アポトーシス作用を有することが示唆された。

以上の研究は，胃炎や胃の発癌に関する新たな機構の解明に貢献し，消化器病学に寄与するところが多い。従って，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14年3月14日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け，合格と認められたものである。