

|           |                                                                                                                                                                                     |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名       | せき かわ あきら<br>関 川 昭                                                                                                                                                                  |
| 学位(専攻分野)  | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                           |
| 学 位 記 番 号 | 医 博 第 2967 号                                                                                                                                                                        |
| 学位授与の日付   | 平 成 18 年 3 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    | REG I $\alpha$ Protein May Function as a Trophic and/or Anti-apoptotic Factor in the Development of Gastric Cancer<br>(REG I $\alpha$ 蛋白は胃癌の増殖において増殖因子あるいは抗アポトーシス因子として機能しているかもしれない) |
| 論文調査委員    | (主 査)<br>教 授 藤 田 潤 教 授 坂 井 義 治 教 授 武 藤 誠                                                                                                                                            |

### 論 文 内 容 の 要 旨

再生腭ラ氏島から単離された Regenerating gene (Reg) 蛋白は、腭ラ氏島細胞に対する細胞増殖作用を有し、腭における増殖因子と考えられている。またラット胃潰瘍モデルにおいて、Reg 蛋白は胃潰瘍の修復期に強発現し、さらに胃粘膜上皮細胞に対して細胞増殖作用を有することが報告されており、消化管組織においても増殖因子として機能している可能性がある。しかしながら、実際のヒトの胃病変における Reg 蛋白の役割については明らかでない。そこで本研究では、胃炎および胃癌における REG I $\alpha$  蛋白の関与、サイトカインの REG I $\alpha$  遺伝子発現に及ぼす影響、及び REG I $\alpha$  蛋白の機能について検討した。まず105例の早期胃癌患者より胃組織を採取して、REG I $\alpha$  蛋白発現と PCNA 発現を免疫染色を用いて検討し、REG I $\alpha$  蛋白の発現と臨床病理学的因子の関連を調べた。その結果、105例の早期胃癌中55例 (52.4%) で REG I $\alpha$  蛋白陽性であった。また、癌組織の REG I $\alpha$  蛋白発現は、その周囲の胃炎の程度に相関した。加えて、REG I $\alpha$  蛋白陽性胃癌では、細胞増殖マーカーである PCNA 発現が有意に増強していた。次に REG I $\alpha$  遺伝子プロモーター領域を含むルシフェラーゼベクターを構築し、サイトカイン刺激による REG I $\alpha$  のプロモーター活性を検討し、さらに各種炎症性サイトカインの REG I $\alpha$  遺伝子発現変化を Northern blot で検討した。その結果 IL-6 と IFN- $\gamma$  の刺激により REG I $\alpha$  遺伝子プロモーターは活性化され、REG I $\alpha$  mRNA の発現が増強した。次に、REG I $\alpha$  蛋白を胃癌培養細胞に投与し、MTT アッセイと BrdU 取り込みを用いて REG I $\alpha$  蛋白の細胞増殖作用について検討した。REG I $\alpha$  蛋白投与群では、コントロール群に比べて有意に高い細胞増殖作用を示した。また REG I $\alpha$  蛋白を胃癌培養細胞に投与し、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激を行い、TUNEL 染色、カスパーゼアッセイを用いて抗アポトーシス作用について検討した。その結果、REG I $\alpha$  蛋白投与群では、コントロール群に比べて抗アポトーシス作用を示した。このとき REG I $\alpha$  蛋白投与によりリン酸化 Akt と Bcl-xL の蛋白発現が増強することから、REG I $\alpha$  蛋白の抗アポトーシス作用の一部はリン酸化 Akt と Bcl-xL を介していることが示唆された。以上より、REG I $\alpha$  蛋白の発現は IL-6 と IFN- $\gamma$  により発現が誘導され、胃炎—胃癌シークエンス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胃癌の増殖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

再生腭ラ氏島から単離された Regenerating gene (Reg) 蛋白は、腭ラ氏島細胞に対する増殖因子と考えられている。また近年、Reg 蛋白がラット胃粘膜上皮細胞に対して細胞増殖作用を有することが報告された。しかしながら、実際のヒトの胃病変における Reg 蛋白の役割は不明である。そこで申請者は、胃炎・胃癌における REG I $\alpha$  蛋白の関与と意義について検討した。REG I $\alpha$  蛋白と PCNA の発現を免疫染色法で検討した結果、REG I $\alpha$  蛋白発現は105例中55例 (52.4%) の早期胃癌で陽性であり、その発現は周囲の胃炎の程度や PCNA 発現に相関した。胃癌培養細胞に対してサイトカイン刺激を与えたところ、IL-6 や IFN- $\gamma$  刺激により REG I $\alpha$  遺伝子プロモーターは活性化され、REG I $\alpha$  遺伝子発現は増強した。また、REG I $\alpha$  蛋白は、胃癌培養細胞に対して細胞増殖作用を示し、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激に対して抗アポトーシス作用を示した。さ

らに、REG I $\alpha$  蛋白の抗アポトーシス作用が、リン酸化 Akt と Bcl-xL を介していることが明らかになった。以上より、REG I $\alpha$  は IL-6 や IFN- $\gamma$  により発現が誘導され、胃炎—胃癌シーケンスにおいて、細胞増殖因子あるいは抗アポトーシス因子として胃癌の増殖に関与している可能性が示唆された。

以上の研究は、胃における炎症発癌の解明に貢献し、胃癌発生のメカニズムの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18年2月13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。