

氏 名	かな い まさ し 金 井 雅 史
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- κ B dependent pathway (TGF- α による NF- κ B 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- α 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的に抑制した。従来の報告では TGF- α の受容体である epidermal 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- κ B 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- κ B 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- κ B 阻害作用を持つ MG132 によって完全に抑制された。NF- κ B 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- κ B 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- κ B 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- κ B 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。Helicobacter pylori の感染している胃においては NF- κ B 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 Helicobacter 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られる。

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- κ B 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- κ B 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- κ B 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- κ B 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。