

審査の結果の要旨

氏名 福神 浩兼

本研究はEGFおよびHGF/SFの肝細胞増殖作用の相加性の機構を明らかにするため、肝臓の Zonation からのアプローチおよびシグナル伝達からのアプローチにより検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 肝臓の Zonation からのアプローチでは、ラット肝から門脈周囲肝細胞 (PPH)、中心静脈周囲肝細胞 (PVH) をシグトニン-コラゲナーゼ灌流法により分離し、10 nM EGFおよび0.1 nM HGF/SFによる増殖刺激を加えたところ、PPH、PVHともにEGF+HGF/SFで相加性を認めた。初代培養肝細胞で認められたEGFとHGF/SFの相加性が、PPH、PVHでも同様に認められたことより、この相加性は Zonation に関係なく肝実質細胞が持つ固有の性質であり、異なる反応性を有する細胞の共存により生じているものではないことが示された。

2. シグナル伝達からのアプローチでは、肝細胞を10 nM EGF、0.1 nM HGF/SFにより刺激した後、p42/p44 MAPキナーゼ活性を測定した。初代培養肝細胞、PPH、PVHではEGF+HGF/SFで相加性は認められなかった。また、p42/p44 MAPキナーゼ活性のパターンは、初代培養肝細胞、PPH、PVHのいずれにおいてもEGF > HGF/SFのパターンを示し、Zonationによる違いは認められなかった。

3. 相加性に関して、DNA合成とMAPキナーゼ活性が相関しないことから、並列型の細胞内シグナル伝達機構の存在が推測された。

4. MAPキナーゼキナーゼ1のインヒビターであるPD98059を添加し、EGFおよびHGF/SFにより誘導されるDNA合成を測定したところ、EGF+HGF/SFでは相加性は保たれていた。このことは、相加性における並列型の細胞内シグナル伝達機構の存在を裏付けるものと考えられた。

5. PI3キナーゼの特異的阻害剤であるwortmanninを添加し、EGFおよびHGF/SFにより誘導されるDNA合成を測定したところ、EGF+HGF/SFでは相加性は不明瞭となった。このことは、肝細胞増殖の相加性においてPI3キナーゼが何らかの役割を果たしていることを示すものと考えられた。

以上、本論文はEGFおよびHGF/SFの肝細胞増殖作用の相加性について肝臓の Zonation からのアプローチおよびシグナル伝達からのアプローチにより、1)肝細胞増殖作

用の相加性は肝実質細胞が持つ固有の性質であり、Zonation による違いはないこと、2) 古典的MAPキナーゼカスケード以外のシグナル伝達経路が相加性に関係しており、この経路と古典的MAPキナーゼカスケードがシグナル伝達において並列的に寄与している可能性があること、を明らかにした。本研究はこれまで未知であった肝細胞増殖作用の相加性の機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。