

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 高 見 和 孝

本研究は、気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患などの呼吸器疾患の病因、病態生理に重要な役割を演じていると考えられるヒト気道上皮細胞の増殖制御およびその分子生物学的なメカニズムを明らかにすることを目的としている。極細気管支鏡を用いて採取された実際のヒト末梢気道上皮細胞およびヒト気道上皮細胞株 BEAS-2B 細胞を用いて、多能性増殖因子として注目されている肝細胞増殖因子(HGF)および Interferon- γ (IFN- γ) のヒト気道上皮細胞の増殖に対する影響およびその分子生物学的なメカニズムを検討しており、下記の結果を得ている。

1. HGF は、極細気管支鏡を用いて採取されたヒト末梢気道上皮細胞およびヒト気道上皮細胞株 BEAS-2B 細胞の増殖を促進した。この HGF による増殖活性には血清の存在が必要であり、無血清下において HGF は増殖活性を示さなかった。IFN- γ は、HGF によるヒト気道上皮細胞の増殖を抑制することが示された。
2. 増殖に重要なシグナル伝達物質である extracellular signal-regulated kinases(ERK1/2)のリン酸化に対する HGF の効果をウエスタンブロットにて検討したところ、無血清下においても HGF は ERK のリン酸化を誘導することが示された。ERK 経路の阻害剤 PD98059 を用いた薬理的阻害実験にて、PD98059 は HGF および血清刺激に対する ERK のリン酸化も細胞増殖もともに阻害することが示された。HGF によるヒト気道上皮細胞の増殖作用に、ERK の活性化は、必要条件ではあるが十分条件ではないと考えられた。

3. p38 mitogen-activated protein kinase(p38 MAP kinase)の特異的阻害剤 SB203580 は、ERK のリン酸化、細胞増殖ともに影響を与えず、phosphatidyl inositol 3-kinase(PI 3-K)経路の特異的な阻害剤 LY294002 は、HGF および血清刺激に対する ERK のリン酸化に影響を与えず、細胞増殖を部分的に阻害することが示された。
4. 細胞周期に対する影響を検討するため、cyclin D1 および p27^{kip1} cyclin-dependent kinase inhibitor の発現に対する HGF の影響をウエスタンブロットにて検討した。無血清下において HGF は、cyclin D1 の発現を増強したが、p27^{kip1} の発現は抑制しないことが示された。
5. IFN- γ は、HGF による ERK のリン酸化および cyclin D1 の発現に対しては影響を与えないことが示された。HGF と血清刺激により、p27^{kip1} の発現は経時的に減弱することが観察されたが、IFN- γ を投与することにより p27^{kip1} の発現は逆に増強することが示された。HGF による気道上皮細胞の増殖を IFN- γ が抑制するメカニズムとして、p27^{kip1} の発現の誘導が関与していると考えられた。

以上、本論文は HGF が正の増殖因子、IFN- γ は負の増殖因子として、ヒト気道上皮細胞の増殖を制御していることを明らかにした。増殖制御のメカニズムを明らかにするため、細胞増殖に重要な MAP kinase および細胞周期制御分子についても検討し、HGF の増殖作用に ERK の活性化は必要条件ではあるが十分条件ではないこと、IFN- γ の増殖抑制作用に p27^{kip1} が重要であることを明らかにした。現在まで実際のヒト末梢気道上皮細胞を用いた増殖制御に関する研究はほとんど見られない。極細気管支鏡により採取が容易となったヒト末梢気道上皮細胞を用いて、気道上皮細胞の増殖機構を解明する事は、慢性閉塞性肺疾患、びまん性汎細気管支炎、気管支喘息などの末梢気道領域を障害する疾患の病態解明に重要な貢献をなし、また再生医療の観点からも興味深く、学位の授与に値するものと考えられる。