

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 浅井 聖子

本研究は、腸管組織と腸管内容とを隔てるバリア機構を有する腸管上皮細胞が、短時間の低濃度エタノール刺激に対し、どのような形態学的かつ生化学的な変化を示すかを明らかにするために、ヒト腸管上皮細胞である Caco-2 cell を、5%および 10%のエタノールで刺激し、アポトーシスの誘導を評価した。また、女性が男性に比べ少量の積算量で、アルコール性肝障害を発症し、かつ急速に重篤化するメカニズムを検討するために、低濃度のエタノール刺激によって生じる腸管上皮細胞の変化に対し、女性ホルモンが何らかの修飾をおよぼすかを検討した。それぞれ下記の結果を得ている。

1. 腸管上皮細胞 Caco-2 cell monolayer を、5%および 10%のエタノールで刺激し、フォスファチジルセリンの外膜移行、活性化カスパーゼによるサイトケラチン 18 の分節、および DNA 断片化を、フローサイトメトリーで測定し評価した結果、10%エタノール刺激は、コンフルエント Caco-2 cell に対し、まずカスパーゼ 3 および 7 の活性化を惹起し、次いでフォスファチジルセリンの外膜移行を生じ、その後 DNA を断片化することが示された。これらの形態学的かつ生化学的な変化から、アポトーシスの誘導が証明された。

2. 低濃度のエタノール刺激により生じる Caco-2 cell の細胞死に対し、カスパーゼ活性がどのように関与するかを検討するために、10%エタノール刺激に先立ち、カスパーゼ阻害剤である zVAD-fmk にて前処置を行ったところ、

zVAD-fmk はエタノール刺激により生じるカスパーゼ活性を抑制したのみならず、フォスファチジルセリンの外膜移行や DNA 断片化をも阻止し、本研究で評価した全ての形態学および生化学的変化を抑制した。この事実から、10%エタノール刺激による Caco-2 cell へのアポトーシスの誘導において、カスパーゼ活性が中心的役割を果たしていることが示された。

3. 低濃度エタノール刺激により誘導される腸管上皮細胞のアポトーシスが、女性ホルモンの投与によりどのように修飾されるかを検討するために、低濃度エタノール刺激に先立ち Caco-2 cell monolayer を女性ホルモンで前刺激した。その結果、女性ホルモンの単独刺激は、Caco-2 cell のアポトーシスに影響をおよぼさないことが示された。また、非生理的濃度のエストラジオールの前処置は、10%エタノール 2 時間の刺激により誘導される腸管上皮細胞のアポトーシスに、ほとんど影響をおよぼさないことも示された。

4. 女性のみにも生理的な濃度の女性ホルモンの前投与は、低濃度のエタノール刺激により誘導される Caco-2 cell のアポトーシスを促進することが示された。

以上、本論文は、高濃度のエタノール刺激が胃粘膜や小腸粘膜に出血性ピランや壊死などの傷害を生じるのに対し、低濃度のエタノールによる急性刺激がヒト腸管上皮細胞にアポトーシスを誘導すること、また、女性のみにも生理的な濃度の女性ホルモンの前投与は、低濃度エタノール刺激により誘導される腸管上皮細胞のアポトーシスを促進することを明らかにした。本研究は、アルコール性肝障害の発症、進展や、男女間の病態の相違の一因を説明すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。