



Title	Gastrin induces CXC-chemokine expression in gastric epithelial cells through the activation of NF- $\kappa$ B
Author(s)	平岡, 伸太郎
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43188">https://hdl.handle.net/11094/43188</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	平 岡 伸 太 郎 ひら おか しん た ろう
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 5 5 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 13 年 10 月 29 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Gastrin induces CXC-chemokine expression in gastric epithelial cells through the activation of NF- $\kappa$ B (ガストリンはNF- $\kappa$ B 活性化を介して胃上皮細胞における CXC-ケモカインの発現を誘導する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 澤 佑 次  (副査) 教 授 門 田 守 人 教 授 金 倉 謙

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

IL-8に代表されるCXC-ケモカインは、*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染胃粘膜において、胃炎の病態形成に重要な役割を果たすと考えられている。実際、*in vitro*の実験結果から、*H. pylori*にIL-8誘導作用のあることが明らかとされている。われわれは体部胃粘膜に著明な炎症細胞浸潤を伴う巨大難癒性胃炎患者において、通常の*H. pylori*胃炎患者と比較して、有意に高い血清ガストリン値の認められることを明らかにしてきた。そこで、本研究ではガストリンの胃炎における役割を明らかにする目的で、ガストリンがCXC-ケモカイン発現に及ぼす効果を*in vitro*の系を用いて検討した。

#### 【方法】

ラット胃粘膜由来細胞株RGM1およびヒト胃癌由来細胞株MKN28にヒトガストリン受容体cDNAを導入し、ガストリン受容体を恒常的に発現する細胞株RGA9ならびにMKGR26を得た。ガストリン刺激によるIL-8およびCINC-1 mRNAの発現はNorthern法にて、IL-8タンパク発現はELISA法にて検討した。IL-8 promoterの転写活性と転写因子NF- $\kappa$ B、AP-1の活性化はそれぞれLuciferase assayならびにGel shift assayにて検討した。

#### 【成績】

1. RGA9とMKGR26をガストリン刺激することにより、CINC-1またはIL-8 mRNAが誘導され、それぞれのピークは1時間ならびに3時間後であった。またこれらの反応はガストリン受容体拮抗剤L-740,093により抑制された。
2. ガストリンによりIL-1 $\beta$ およびTNF- $\alpha$ によるCINC-1およびIL-8 mRNA発現は増強した。
3. ガストリン刺激によりMKGR26からmedium中へのIL-8放出は増加した。また、この作用はIL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ や*H. pylori*と協調的であった。
4. ガストリンはIL-8 promoterの転写活性を促進した。さらにIL-8 promoterのAP-1またはNF- $\kappa$ B結合部位に変異を導入したベクターを用いて検討した結果、ガストリンによるIL-8転写活性の増強にはNF- $\kappa$ Bが必須であり、AP-1は部分的に必要であることが明らかとなった。
5. ガストリンはNF- $\kappa$ Bを活性化し、NF- $\kappa$ B阻害剤PDTCはガストリンによるNF- $\kappa$ B活性化のみならず、IL-8産生も抑制した。

6. ガストリンによる IL-8 mRNA の発現は、EGF 受容体特異的チロシンキナーゼ阻害剤 AG1478、PKC 阻害剤 staurosporine、または MEK 阻害剤 PD98059により部分的に抑制されることから、これら protein kinase の関与が示唆された。

【総括】

ガストリンは NF- $\kappa$ B 活性化を介して胃粘膜由来 CXC ケモカインの産生を促進することが明らかになった。ガストリンはケモカイン産生を促進することにより胃炎の憎悪因子として作用することが示された。

論文審査の結果の要旨

本研究はヒト胃癌由来細胞株ならびにラット正常胃粘膜由来細胞株にガストリン受容体を恒常的に発現させ、ガストリンによる IL-8 等の CXC ケモカイン誘導を検討したものである。ノザンプロット、ELISA によりガストリンは濃度依存性に CXC ケモカインの mRNA およびタンパク発現を誘導することが明らかとなった。また、この CXC ケモカイン誘導には EGF 受容体、MAPK、PKC 等、複数の protein kinase が関与していた。さらに、ルシフェラーゼアッセイ、ゲルシフトアッセイによりガストリンによる CXC ケモカインの誘導には NF- $\kappa$ B の活性化が必須であり、AP-1 の活性化が部分的に必要であることが明らかとなった。本論文は *H. pylori* 感染にしばしば認められる高ガストリン血症がケモカインを誘導することを分子レベルで初めて明らかにしたものであり、学位に値すると考える。