

## 30-0857 W33-3

EGF 依存的肝細胞増殖における亜鉛応答性転写因子 MTF-1 の役割

○木村 朋紀<sup>1</sup>, 伊藤 徳夫<sup>2</sup>, 曾根 知道<sup>1</sup>, 近藤 昌夫<sup>3</sup>, 渡辺 善照<sup>3</sup>, 田中 慶一<sup>2</sup>, 磯部 正和<sup>1</sup> (<sup>1</sup>摂南大薬,<sup>2</sup>阪大院薬,<sup>3</sup>昭和薬大)

【目的】亜鉛応答性転写因子 Metal-responsive transcription factor-1 (MTF-1) は胎仔の肝成熟に関与することが報告されている。しかしながら、その作用機序は不明である。今回、我々は MTF-1 のドミナントネガティブ体を発現するアデノウイルスベクター Ad5MTF $\Delta$ C を利用し、MTF-1 が EGF 依存的肝細胞増殖に関与するか否かを調べるとともに、その機構の解析を試みた。

【方法】肝細胞をコラゲナーゼ灌流法によりマウス (ICR、雄性、5~8 週齢) から単離し、 $6.5 \times 10^3$  cells/cm<sup>2</sup> で播種して 4 時間後に Ad5MTF $\Delta$ C を 30M.O.I. で感染させた。対照群には Ad5GFP を感染させた。細胞増殖は <sup>3</sup>H-チミジンの取り込み量から評価した。LDH 漏出は Cytotox-96<sup>®</sup> により、caspase-3/7 活性は Caspase-Glo<sup>™</sup> 3/7 assay により測定した。古典的 MAPK である ERK1/2 はウェスタンブロット法により検出した。

【結果および考察】 MTF-1 活性を Ad5MTF $\Delta$ C で阻害することによって、EGF 依存的 <sup>3</sup>H-チミジン取り込み量増加の遅延が観察された。この時、LDH 漏出量および caspase-3/7 活性に変化は認められなかった。したがって、<sup>3</sup>H-チミジン取り込み量増加の遅延は細胞障害に起因するものではなく、細胞増殖の低下によるものであると考えられた。次に、EGF による古典的 MAPK 経路活性化について検討したところ、ERK1/2 活性化が Ad5MTF $\Delta$ C により阻害されていた。亜鉛キレーターである DTPA が古典的 MAPK 経路を阻害することは以前から知られており、この DTPA の作用が MTF-1 活性阻害を介する可能性が考えられる。現在、MTF-1 と古典的 MAPK 経路との接点を検討中である。