

# 29amD-084

ラット初代培養肝実質細胞における L-アスコルビン酸による MAP キナーゼ活性化に対するアドレナリン作動性調節機構の検討

○茂木 肇<sup>1</sup>, 木村 光利<sup>1</sup>, 荻原 政彦<sup>1</sup>(<sup>1</sup>城西大薬)

【目的】当研究室では、肝再生現象の仕組みを解明するための一端として、アドレナリン受容体作動薬と増殖因子(上皮増殖因子;EGF や肝細胞増殖因子;HGF など)の受容体を介するシグナル伝達系との関連(cross-talk)について、成熟ラット初代培養肝実質細胞系を用いて検討してきた。その結果、 $\alpha_1$ 及び $\beta_2$ 作動薬は、単独では、肝実質細胞の増殖に影響を与えないが、上記の増殖因子との共存下で、増殖因子の増殖促進作用を増強させることを見出した。一方、我々は L-アスコルビン酸(AsA)は、IGF-I 受容体に結合し、肝実質細胞の増殖を促進させることを見出した。そこで、 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 及び $\beta$ 受容体を介する肝実質細胞増殖促進作用の増強が、AsA のシグナル伝達機構のどの部分と相互作用をしているのかを、IGF-I 受容体チロシンキナーゼ (IGF-I-RTK) 及び MAP キナーゼ (MAPK;ERK1/ERK2) の活性を直接測定することにより、検討した。

【方法】AsA と  $\alpha_1$  及び  $\beta_2$  作動薬との共存下における初代培養肝実質細胞の IGF-I-RTK 及び MAPK 活性を、抗リン酸化 IGF-I-RTK、ERK1/ERK2 抗体を用いた Western blotting 解析法にて測定し、そのリン酸化活性を比較検討した。

【結果および考察】初代培養肝実質細胞を AsA 単独で刺激すると、培養開始 3~5 分でピークとなる一過性の IGF-I-RTK 及び ERK2 リン酸化活性の上昇が発現した。更に ERK2 リン酸化活性は  $\alpha_1$  及び  $\beta_2$  作動薬の共存下で増強された。一方、 $\alpha_1$  及び  $\beta_2$  作動薬は、単独では IGF-I-RTK および MAPK リン酸化活性に影響を及ぼさなかった。これらの結果から、肝実質細胞における AsA の肝実質細胞増殖促進シグナルは、IGF-I-RTK の下流から ERK2 の上流の間で  $\alpha_1$  及び  $\beta_2$  アドレナリン作動性増強を受けていることが示された。