

29amD-087

ラット初代培養肝実質細胞における L-アスコルビン酸の IGF-I 受容体チロシンキナーゼ及び MAP キナーゼ活性化に対する効果の検討

○三上 翔平¹, 茂木 肇¹, 木村 光利¹, 荻原 政彦¹ (¹城西大薬)

【目的】当研究室では従来から肝再生現象の *in vitro* モデル系としてのラット初代培養肝実質細胞実験系を独自に開発し、いくつかの増殖因子 (上皮増殖因子; EGF や肝細胞増殖因子; HGF など) について、肝実質細胞に対する増殖促進作用、増殖抑制作用あるいは増殖修飾作用などを詳しく研究してきた。一連の研究の中で、我々は、L-アスコルビン酸 (AsA) に注目した。初代培養肝実質細胞に対して、AsA は、IGF-I 受容体を介して細胞増殖促進作用を示すことを見出した。そこで本研究では、AsA による成熟ラット初代培養肝実質細胞増殖促進作用を更に検証するため、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) のリン酸化を Western blotting 解析法を用いて直接測定した。

【方法】AsA と特異的シグナル伝達因子阻害薬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 及び ERK1/ERK2 抗体を用いて 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。

【結果及び考察】初代培養肝実質細胞を AsA 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。この AsA により誘発された ERK2 リン酸化活性は、AG1478, AG538, LY294002, PD98059 により抑制された。一方、AsA 誘発 IGF-I-RTK リン酸化活性は、AG1478 及び AG538 によるのみ抑制された。また、ラパマイシンは AsA 誘発 IGF-I-RTK 及び ERK2 リン酸化活性に影響を及ぼさなかった。以上の結果から、AsA による肝実質細胞の増殖促進シグナルは、IGF-I-RTK 及び ERK2 のリン酸化を介して、核内に伝達されていると考えられた。