

29amD-086

L-アスコルビン酸及びその誘導体によるラット初代培養肝実質細胞増殖促進作用機構の検討

○森 巧実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、再生現象の *in vitro* モデル系として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(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、様々な培地に含まれる L-アスコルビン酸(AsA)が、肝実質細胞の増殖に対して大きな影響を及ぼすことを見出した。AsA は、近年、様々な種類の細胞に対して、細胞増殖促進・抑制作用を示すことが報告されているが、AsA による肝実質細胞に対する増殖促進作用の詳細は報告されておらず、また、どのようなシグナル伝達経路が関与するのかは解明されていない。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に対する増殖促進作用機構を DNA 合成能及び核数を計測することにより検討した。

【方法】*in situ* コラゲナーゼ還元法により、成熟ラットから肝実質細胞を単離し、初代培養を行った。細胞接着後、無血清培地に交換し、種々の濃度の AsA 及びその誘導体、または特異的シグナル伝達因子阻害薬や増殖因子受容体に対する中和抗体を添加した。一定時間培養後、肝実質細胞の DNA 合成能及び核数を計測した。

【結果及び考察】AsA 及びその安定型誘導体である L-アスコルビン酸 2 グルコシド(AsA2G)は、肝実質細胞に対して用量及び培養時間に依存して有意な増殖促進作用を示した。更に、その増殖促進作用は、AG1478、LY294002、PD98059、ラパマイシン及び抗 IGF-I 受容体モノクローナル抗体により各々抑制されたことから、AsA による肝実質細胞増殖促進作用には、少なくとも IGF-I 受容体、受容体 tyrosine kinase、phosphoinositide 3-kinase(PI3K)、MAPK/ERK kinase(MEK)、mammalian target of rapamycin(mTOR)が深く関与していることが示唆された。