慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Phorbol myristate acetate惹起性胃潰瘍における nuclear factor kappa BとTumor necrosis factor-αの役割
Sub Title	
Author	竹内, 哲
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.1 (2003. 3) ,p.16-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030304-0016

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Phorbol myristate acetate惹起性胃潰瘍における nuclear factor kappa BとTumor necrosis factor-αの役割

竹内　哲

内容の要旨

胃潰瘍の発生機序に関しては、未だ不明の点が多い。近年、Helicobacter pyloriが、消化性潰瘍の成因の一つとして注目されてきたが、どのように組織傷害に関与しているかは不明である。また、現在まで種々の実験潰瘍モデルにより胃潰瘍の形成過程の検討が行なわれたが、活性酸素や炎症性サイトカイン産生に関するin vivoでの細胞内シグナル伝達機構に関する研究は少ない。起炎性物質であるホルボールエステル（phorbol 12-myristate 13-acetate（PMA））は、直接プロテインキナーゼC（PKC）を活性化しそれに伴うシグナル伝達を誘導するが、その際にnuclear factor kappa B（NF-κB）はPMAにより惹起される炎症過程において基本的な役割を果たすと考えられる。またTNF-αは急性炎症反応の主要なメディエーターであるが、NF-κBの活性化はTNF-αによって誘発される細胞傷害過程に介在している可能性が考えられている。しかし、胃粘膜傷害の形成過程、特に生体内での実験的胃潰瘍形成におけるNF-κBとTNF-αの役割は明らかではない。そこで本研究においては、PMAを胃壁の漿膜下に局注することにより誘発される新たな実験的胃潰瘍モデルを作成し、その胃潰瘍形成過程におけるNF-κBとTNF-αの役割を解明することを目的として検討を行った。

本研究ではウィスター系雄性ラットを用いた。ラット胃漿膜下に局注したPMAは容量依存性に胃潰瘍を誘発し、局注48時間後に最大となった。潰瘍形成はPKC阻害剤であるcalphostin CおよびNF-κB阻害剤であるpyrrolidinedithiocarbamate、proteasome inhibitor（MG132）、NF-κB decoyにより肉眼的および組織学的に著明に抑制された。また抗TNF-α抗体の投与によってもPMA惹起性潰瘍形成は著明に抑制された。PMA局注部位に一致した胃粘膜において、潰瘍が顕性化する以前にNF-κBの活性化が生じていることが、in situ fluorescence DNA binding assayとelectrophoretic mobility shift assayにより観察され、また、calphostin Cおよび各種NF-κB阻害剤でNF-κBの活性化が抑制されることも確かめられた。一方、抗TNF-α抗体はNF-κBの活性化を抑制しなかった。

本研究により胃漿膜下へのPMAの局注により潰瘍が形成されることが、肉眼的および組織学的に初めて示された。またin vivoでPMAが胃粘膜内の転写因子であるNF-κBを活性化すること、およびNF-κBの活性化に引き続き生じるTNF-αの産生が、PMA惹起性胃潰瘍の形成過程における組織傷害発生に重要であることが明らかにされた。近年、Helicobacter pyloriによる胃潰瘍誘発過程においても、NF-κBの活性化とそれに伴う炎症性サイトカインの産生が生じていることが報告されており、本モデルはNF-κB活性化に伴う潰瘍形成機序を解明する有用な手段となると考えられた。

論文審査の要旨

胃潰瘍の発生機序は、未だ不明の点が多く、その発症過程におけるin vivoでの細胞内シグナル伝達機構および細胞内での転写機構に関する直接的な研究はほとんどなされていない。そこで本研究では、プロテインキナーゼC（PKC）および転写因子であるnuclear factor kappa B（NF-κB）を活性化し、シグナル伝達を誘導するホルボールエステル（phorbol 12-myristate 13-acetate（PMA））を胃漿膜下に局注し、その潰瘍形成過程における細胞内シグナル伝達機構の解明を試みた。PMA惹起性胃潰瘍はPKCおよびNF-κBの阻害薬にて抑制され、またTumor necrosis factor-α（TNF-α）の阻害薬にても抑制された。更に、in situ fluorescence DNA binding assayとelectrophoretic mobility shift assayにより胃粘膜内でのNF-κBの活性化が認められ、またNF-κBの阻害薬によりその活性化が抑制されたことより、本潰瘍モデルはPMAによるPKC、NF-κBの活性化およびそれにより産生されるTNF-αにより惹起される可能性が考えられ、胃潰瘍発生過程におけるNF-κBおよびTNF-αの役割を解明する一助となる可能性が示唆された。

審査では、今回の実験モデルにおいてPMAを用いた理由を質問され、PMAの直腸内への投与により急性炎症を生じる報告があり、またPMAがPKCおよびNF-κBを介したシグナル伝達を誘導することも報告されていたため、胃にPMAを投与することにより胃潰瘍が生じた場合、その形成過程の解明に有用ではないかと考えたためと回答された。PMA投与後の潰瘍形成過程を質問され、PMA投与6時間後に胃粘膜上皮側に生じたびらんが、時間経過とともに漿膜側へと進展すると回答された。漿膜下へ投与したPMAにより粘膜上皮側よりNF-κBの活性化およびびらんが生じる機序が質問され、さらにNF-κBおよびTNF-αの産生細胞を同定すべきではないかと指摘された。漿膜下へ投与したPMAは粘膜側へ浸透し、胃粘膜細胞のNF-κBを活性化し、炎症性サイトカインや接着分子などの産生および微小循環障害が粘膜上皮側に生じ、炎症が惹起されるのではないか。ただし、本実験ではNF-κBやTNF-αの産生細胞は同定されておらず、微小循環障害についても検討をしていないため、正確な発生機序は不明であると回答された。本実験ではNF-κB活性化以降の潰瘍形成過程の検討が不十分であり、時間経過、NF-κB活性化の炎症惹起過程における変化、微小循環障害形成過程を含めて、今後詳細な検討が必要であると指摘された。

以上のように、本研究は今後、更に検討すべき課題を残してはいるが、PMA惹起性胃潰瘍モデルにおいてin vivoにおける細胞内シグナル伝達機構と胃潰瘍形成過程を直接関連付けたことは消化器病学にとって有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　内科学　石井　裕正
外科学　北島　政樹　　医化学　末松　誠
病理学　岡田　保典　　解剖学　相磯　貞和
学力確認担当者：北島　政樹
審査委員長：北島　政樹

試問日：平成14年11月13日