

琉球大学学術リポジトリ

Increased expression of EGR1 and KLF4 by polysulfide via activation of the ERK1/2 and ERK5 pathways in cultured intestinal epithelial cells

メタデータ	言語: 出版者: University of the Ryukyus 公開日: 2020-12-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Arakaki, Kaoru, 新垣, かおる メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/47446

(別紙様式第 7 号)

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	新垣 かおる
論文審査委員	審査日	令和 2 年 3 月 26 日	
	主査教授	松下 正之	
	副査教授	荻谷 研一	
	副査教授	岸本 英博	
(論文題目)			
Increased expression of EGR1 and KLF4 by polysulfide via activation of the ERK1/2 and ERK5 pathways in cultured intestinal epithelial cells (培養腸管上皮細胞におけるポリスルフィドによる ERK1/2 系と ERK5 系の活性化による EGR1 と KLF4 の発現増加) (論文審査結果の要旨)			
1. 研究の背景と目的 毒物とされていた硫化水素 (H ₂ S) の細胞内での産生が明らかとなり、CO、NO に続く第 3 のガス状生理活性物質として注目され、神経伝達調節、血管新生、炎症やアポトーシス抑制等への関与が報告されている。腸管では腸内細菌によっても産生されるため、大腸上皮細胞は 2mM にも及ぶ高濃度の H ₂ S に暴露される可能性があり、潰瘍性大腸炎やクローン病、大腸癌に関与するとの報告もある。H ₂ S は生体内ではポリスルフィドとして機能するが、腸管上皮細胞におけるポリスルフィドの生理機能は不明である。今回著者らは、ラット腸管上皮 IEC-6 細胞株を用いて MAPK 系経路の活性化と遺伝子発現への影響について検討した。			
2. 研究内容、方法、結果および結論 【方法】ポリスルフィド産生物質として Na ₂ S ₃ を使用した。mRNA 発現変化は DNA マイクロアレイ法と RT-PCR により検討した。MAPK の活性化は免疫ブロット法で検討した。 【結果】IEC-6 細胞を 0.1 mM Na ₂ S ₃ で 60 分処理後、424 遺伝子の mRNA 発現が増加した。その中で、ERK1/2 と ERK5 により、それぞれ発現が増加することが報告されている EGR1 と KLF4 の増加が認められた。EGR1 と KLF4 の増加は、ERK1/2 と ERK5 の活性化阻害薬 (U0126) により抑制された。ERK1/2 は Na ₂ S ₃ により約 13 倍活性化された。また活性化 ERK1/2 に対する抗体の交差反応性を利用して ERK5 の活性化も確認された。ERK1/2 と ERK5 の活性化は、どちらも U0126 により抑制された。さらに ERK5 では高分子量側への mobility shift が認められ、Phos-Tag 電気泳動法と細胞抽出液の脱リン酸化酵素処理によりリン酸化によることが明らかになった。各種阻害薬を用いた検討から、ERK1/2 と ERK5 の活性化は、B-Raf の活性化によることが示唆された。			
3. 研究成果の意義と学術水準 IEC-6 細胞の Na ₂ S ₃ 処理により、主に ERK1/2 と ERK 5 が活性化され、遺伝子発現変化が引き起こされることが明らかになった。これらの結果は、腸管上皮細胞の機能がポリスルフィドにより制御されることを示唆する。ポリスルフィドが B-Raf を活性化する可能性は、全ての細胞系で初めて見出された知見であり、腸管での H ₂ S の生理機能解明にも繋がり得る意義深く高い水準の成果と言える。以上より、本論文は学位授与に十分値するものであると判断した。			

- 備考 1 用紙の規格は、A 4 とし縦にして左横書きとすること。
2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。
3 *印は記入しないこと。

(別紙様式第 8 号)

最終試験結果の要旨

報告番号	*課程博第	号	氏名	新垣 かおる
論文審査委員	審査日	令和 2 年 3 月 26 日		
	主査教授	松下 正之		印
	副査教授	荻谷 研一		印
	副査教授	岸本 英博		印
(最終試験結果の要旨)				
Increased expression of EGR1 and KLF4 by polysulfide via activation of the ERK1/2 and ERK5 pathways in cultured intestinal epithelial cells (培養腸管上皮細胞におけるポリスルフィドによる ERK1/2 系と ERK5 系の活性化とそれによる EGR1 と KLF4 の発現増加)				
最終試験は口頭による公開討論によって行い、以下の点を確認した。				
1) 研究の内容、意義についてよく理解していること				
2) 研究の目的と方法について十分理解し、熟知していること				
3) 研究結果について正しく理解していること				
4) 関連する内外の研究をよく把握していること				
5) 研究成果の展望について確かな見解を有していること				
これらの関連する質問に対して、研究を推進する目的についての意識が少し希薄であったが十分な回答が得られたため、本学大学院博士課程を修了することに値すると判断し、よって、最終試験判定は合格とした。				

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
2 *印は記入しないこと。