

Title	マウス辜丸間質細胞腫の特異なステロイドホルモン応答機構の解析
Author(s)	前田, 義章
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33756">https://hdl.handle.net/11094/33756</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	まえ 前	だ 田	よし 義	あき 章
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6349	号	
学位授与の日付	昭和59年3月14日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	マウス睪丸間質細胞腫の特異なステロイドホルモン応答機構の 解析			
論文審査委員	(主査) 教授	岸本 進		
	(副査) 教授	倉智 敬一	教授	松本 圭史

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

ステロイドホルモン作用は、サイトゾールにあるステロイドレセプターとホルモンが結合したのち、この複合体が活性化され核に移行し、クロマチンの acceptor site に結合し、遺伝子を活性化することにより発揮されると考えられている。このステロイドホルモン作用機構の central dogma が、全ての標的細胞に適用できるかは興味ある問題である。特に癌細胞と正常標的細胞とにおいて、ステロイド応答機構に差異がある可能性は詳細には検討されていない。われわれはマウス睪丸間質細胞腫の実験腫瘍をモデルにして、癌細胞のホルモン応答機構の変異の可能性を検討するため、以下の実験を行った。

1. 高親和性エストロゲン結合因子の細胞内分布
2. 高親和性エストロゲン結合因子の性状
3. 高親和性エストロゲン結合因子の生物学的意義

#### (方法ならびに成績)

エストロゲン刺激によりBALB/Cマウスに作成した睪丸間質細胞腫を継代移植すると、エストロゲンにより増殖が影響をうける種々の subline ができる。本実験では20代継代移植以後、エストロゲン刺激により腫瘍増殖が加速されるものを選択した。

1. 高親和性エストロゲン結合因子の細胞内分布

(方法) 高親和性エストロゲン結合因子の細胞内分布を検討するため、細胞をサイトゾール、マイクロゾーム、ミトコンドリア、核の分画にわけ、Scatchard 解析を行った。またレセプターの活性化を阻止する  $\text{Na}_2\text{M}_0\text{O}_4$  を添加した実験も行った。さらに collagenase - trypsin 消化により得た 80~95%

viableな細胞を調製し、totalのエストロゲン結合部位数を検討した。

(結果) ホルモン非刺激時の腫瘍細胞には、サイトゾールに高親和性エストロゲン結合因子は同定されず、核にのみ存在した。 $\text{Na}_2\text{MgO}_4$  存在下にて核の結合部位数は減少しなかった。またその結合部位数は、intact cell を用いた時の値とよく一致した。以上のことは、この腫瘍系には核に高親和性 unoccupied エストロゲン結合因子が存在することが示された。

## 2. 高親和性エストロゲン結合因子の性状

(方法) 核内エストロゲン結合因子のステロイド特異性を知るため、単離核と $^3\text{H-E}_2$ との結合に対する阻害度を一定量の種々のステロイドまたは合成エストロゲン (Diethylstilbestrol : DES) 存在下で検討した。また EDTA 添加 buffer または  $\text{Mg}^{2+}$  添加 buffer にて調製した核を用い、二価イオンの  $K_d$ ,  $V_{\max}$  への影響を検討した。更に 0.4 M KCl, Micrococcal nuclease, RNase, Trypsin 処理にて核内エストロゲン結合因子は減少するか検討した。

(結果) 核内エストロゲン結合因子と $^3\text{H-E}_2$ の結合は  $\text{E}_2$ , DES でのみ抑制された。また  $\text{Mg}^{2+}$  存在下で温度依存性に  $K_d$  が変化した (0 °C 12 nM, 30 °C 3 nM) EDTA 添加にて温度依存性の  $K_d$  の変化は消失した (0 °C 30 °C とも  $K_d$  2 ~ 3 nM)。そしてこれらの変化は可逆性であった。更にこの結合因子は、0.4 M KCl, Micrococcal nuclease, RNase 処理では抽出率は低く、Trypsin にて破壊された。Spelsberg 等の方法で精製したクロマチンでも同様な結合因子の存在を確認した。このことはこの核内結合因子はクロマチンに結合した、少くとも一部は蛋白性因子により構成された分子である。

## 3. 高親和性エストロゲン結合因子の生物学的意義

(方法) 腫瘍移植時に宿主の皮下に DES pellet を植込みエストロゲンの腫瘍増殖への影響を検討した。また dopamine agonist である CB-154 を連日皮下投与し、プロラクチンの影響も同時に検討した。

(結果) DES 刺激により腫瘍増殖は著明に加速され 50 日で宿主は全例死亡した。また CB-154 投与にて血中プロラクチンは低下したが、DES の腫瘍増殖への影響には変化なかったことから腫瘍増殖の加速はエストロゲンの直接作用と思われる。

(総括)

1. この腫瘍系のサイトゾールには高親和性エストロゲン結合因子は存在しない。
2. 核内には特異な高親和性 unoccupied エストロゲン結合因子が存在し、温度および二価イオン依存性に  $K_d$  が変化する。この因子はクロマチンと結合しており、少くとも一部は蛋白性因子により構成されている。
3. 腫瘍増殖はエストロゲン刺激にて加速され、核内エストロゲン結合因子がエストロゲン作用を仲介していると思われ、この腫瘍細胞には正常とは異なった今まで報告されていないホルモン応答機構の存在が示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

ステロイドホルモンは細胞質のレセプターに結合し、この複合体が核に移行し、クロマケンと結合することによって作用を発揮すると考えられている。

しかしすべての標的細胞に適用されるか否かは不明である。

本研究はエストロゲン反応性マウス睪丸間質細胞腫では、未だ報告されたことのない、エストロゲン高親和性結合因子が核内に存在することを明らかにし、その性状と生物学的意義を検討したものであり、高く評価される。