



Title	マウス乳腺におけるEpidermal Growth FactorとRetinoic Acidの作用
Author(s)	甲村, 弘子
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35865">https://hdl.handle.net/11094/35865</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">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	甲	村	弘	子
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7888	号	
学位授与の日付	昭和	62年	10月	13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	マウス乳腺におけるEpidermal Growth FactorとRetinoic Acidの作用			
論文審査委員	(主査) 教授 谷澤 修			
	(副査) 教授 坂本 幸哉 教授 松本圭史			

### 論文内容の要旨

#### [目的]

乳腺上皮の増殖と分化は従来よりエストロゲン・プロゲステロンの他、成長ホルモン・インスリン・コーチゾル・プロラクチンなどさまざまなホルモンにより調節されていることが知られている。近年、増殖因子の1つであるEpidermal Growth Factor (EGF) が乳腺の増殖分化に関与しているという報告があり注目を集めている。また一方、ビタミンAの誘導体であるRetinoic Acid (RA) は上皮組織の成長・分化に深く関連している。しかしながら乳腺におけるビタミンAの役割には不明な点が多い。

本研究では、マウス乳腺の器官培養系を用いRAの乳腺上皮に及ぼす影響をEGFとの相乗作用の点から検討した。またEGF受容体を測定することによりRAとEGFの乳腺上皮に対する作用機構の一端を明らかにしようと試みた。

#### [方法]

妊娠中期のC<sub>3</sub>H/HeNマウスの乳腺を摘出しmedium199中で器官培養を行った。

- 1) 増殖能の測定—1 μCi/mlの<sup>3</sup>H-thymidineを含む培養液中に種々の濃度のEGF, RAあるいは両者を加えて培養し乳腺上皮のDNAへの<sup>3</sup>H-thymidineの取り組みを測定した。
- 2) 分化能の定量—乳腺上皮はインスリン(I), コーチゾル(F), プロラクチン(P)の3者のホルモンの存在下で機能的分化が誘導されcasein, α-lactalbumin等のミルクに特異的な蛋白が合成されることが知られている。そこで5 μg/mlのI, 1 μg/mlのF, 5 μg/mlのPを含む培養液中にEGF及びRAを加えて乳腺組織を培養し、EGFとRAのcasein合成, α-lactalbumin活性に及ぼす影響をみた。casein合成は抗casein血清を用いる二抗体法により, α-lactalbumin活性はlactose合成

系を利用して測定した。

3) EGF受容体の測定—器官培養した乳腺をcollagenaseで処置して乳腺上皮細胞浮遊液を調整し、 $2 \times 10^6$ 個の上皮細胞を [ $^{125}\text{I}$ ] EGF (1 ng, S.A. 172  $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ ) と  $0 \sim 1 \mu\text{g}$  の非標識EGFを含むmedium 199中で37°C 2時間インキュベートした。0.25% BSAを含むice-cold PBSにて洗浄し、乳腺上皮に取り込まれた [ $^{125}\text{I}$ ] EGFの放射活性を測定しScatchard分析を行った。

#### [成績]

1) EGF単独添加の場合、乳腺上皮のDNA合成は促進され、その効果は  $0.01\text{ng}/\text{ml}$  から  $100\text{ng}/\text{ml}$  まで濃度依存性であった。また時間的推移をみると48時間でその効果は最大に達した。

2) RA単独添加ではDNA合成に影響はなかったが、EGF ( $50\text{ng}/\text{ml}$ ) とRA ( $10\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を同時に加えるとRAはEGFのDNA合成能を有意に促進した。さらにRAで24時間の前培養をしたのちにEGFとRAと含むmediumに移すtwo-step cultureを行なうとDNA合成は前培養液中にRAを添加していないものに比べ有意に増加した。

3) 分化能については、EGF ( $50\text{ng}/\text{ml}$ ) はcasein合成及び $\alpha$ -lactalbumin活性をそれぞれ33%, 40%抑制した。これに  $0.1 \sim 10\mu\text{g}/\text{ml}$  のRAを加えると、EGFのcasein合成抑制作用には影響を与えたかったが $\alpha$ -lactalbumin活性は濃度依存性に抑制された。

4) Scatchard分析によって、乳腺上皮EGFに対する結合親和性をみると、高親和性 ( $k_a = 3.6 \times 10^{-10} \text{M}$ ) と低親和性 ( $k_a = 5.3 \times 10^{-9} \text{M}$ ) の2種の結合部位を有することが明らかになった。RAの添加はEGF受容体の親和性を変化させなかつたが、結合部位数は約34%増加した。また、このようなRAによるEGF結合能の増加作用は24時間で最大となり、それ以後は減少した。

#### [総括]

本研究において、1) EGFはマウス乳腺上皮のDNA合成を促進し、ミルク蛋白(casein,  $\alpha$ -lactalbumin)の合成を抑制すること、2) Retinoic AcidはこのようなEGFの作用を増強すること、3) その増強効果はRetinoic Acidが乳腺におけるEGF受容体数を増加させることによる可能性を明らかにした。

#### 論文の審査結果の要旨

これまでEGFとレチノイン酸の乳腺への作用は一定の見解を得ていなかつたが、今回マウス乳腺の器官培養系を用いて行なった研究の結果、EGF及びレチノイン酸が相乗的に作用して妊娠中の乳腺の増殖を促進し分化を抑制すること、及びその機構はレチノイン酸がEGF受容体の結合部位数を増加させることによることを初めて明らかにした。

さらに、本研究は妊娠中の乳腺の機能を検討するモデルになりうるものであり、学位論文に価するものと考える。