



Title	シオノギ癌：SC115における生理量アンドロゲン及び薬理量エストロゲンによる増殖促進機構
Author(s)	中村, 信義
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36588
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	なか 中	むら 村	のぶ 信	よし 義
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8 3 5 6	号	
学位授与の日付	昭和 63 年 10 月 19 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	シオノギ癌；SC115における生理量アンドロゲン及び薬理量エストロゲンによる増殖促進機構			
論文審査委員	(主査)			
	教 授	松本	圭史	
	(副査)			
	教 授	小野	啓郎	教 授 北村 幸彦

論文内容の要旨

〔目 的〕

アンドロゲン依存性マウス乳癌SC115は、in vivo 及び in vitro にて常にアンドロゲン依存性が維持され、ホルモン依存性癌の増殖機構を解明する上で極めて有用なモデルである。我々は最近 in vivo の系において、生理量のアンドロゲンのみならず、薬理量のエストロゲンによってもSC115の増殖が促進される事を見いだした。今回私はアンドロゲン及びエストロゲンによるシオノギ癌に対する増殖促進効果について、in vivo, in vitro 双方の系で対比し、増殖機構に対する考察を行った。

〔方 法〕

1) 動物及び腫瘍

雄DSマウスにて333-350代継代したSC115腫瘍を、2～3月齢の去勢雄DSマウスの背部皮下に移植した。Testosterone Propionate (TP), Estradiol (E_2) は vehicle (saline, 0.4% Polysorbate80, 0.5% carboxymethylcellulose, 0.9% benzylalcohol) 0.05ml に溶解し皮下注した。各週毎に腫瘍の幅と長さを測定した。

2) Primary cell culture と cloning

正常雄DSマウスに移植後4週の腫瘍を採取し、trypsin, collagenase 処理等の後、 10^{-8} M Testosterone (T) 添加10% Fetal Calf Serum (FCS) 含有 Eagle's Minimum Essential Medium (MEM) にて plating を行った。以後20回 passage の後 limiting dilution 法にて cloning を行い SC 3 株を得た。これを 10^{-8} M 添加, Dextran-Coated Charcol treated FCS 2% 含有 ME (DCC-FCS-MEM) にて維持した。

3) SC3に対する増殖促進効果の測定

DCC-FCS-MEM+ $T10^{-8}$ Mにて, SC3を径35mm dishに 1×10^4 個蒔き, 24時間 plating を行い, 以後評価すべき各 Steroid, 増殖因子または培養上清を含む無血清培養液 (Ham F-12: MEM (1:1, v/v), 0.1% BSA 添加) に替え (day 0), 48時間毎に培養液交換し, day10または12に細胞数を count した。またゲル炉過溶出液の活性測定では, day 4 にて [3 H] Thymidine (2μ Ci/ 2 ml/dish) にて SC3 を 2 時間 pulse label し, 細胞から過塩素酸沈澱にて得た pellet の放射活性を測定した。

4) 無血清培養上清の採取

径100mm dishに 1×10^6 個の cell を蒔き, 上記と同じく plating の後, 48時間毎に培養液交換し, day 0 から day 10 までの $T10^{-8}$ M 刺激による無血清培養上清 (CM) を得た。また day 0 から day 2 までの $T10^{-8}$ M 刺激による培養上清 (CM; 0-2) 非刺激による培養上清 (CM (-); 0-2) をそれぞれ集めた。

〔結 果〕

1) in vivo では, 生理量 TP, 薬理量 E_2 によって投与量依存性に SC115 腫瘍の増殖は促進された。かつこれら腫瘍は形態学的, 生化学的に同一の性質を示した。また E_2 による増殖は Androgen Receptor を介するものではなかった。

2) in vitro にて, DCC-FCS-MEM 中で SC3 は T 刺激にて著明な細胞数増加を認め, それは 10^{-8} M 以上で plateau に達した。一方 SC3 において Estrogen Receptor (ER) は SC115 と同レベルに存在するにもかかわらず, E_2 高濃度刺激で増殖促進効果は見られなかった。

3) 無血清培養液中でも T により SC3 の増殖は促進されたが, E_2 10^{-6} M では促進効果はなかった。T 無添加では 3-6 日で細胞は死滅した。また $T10^{-8}$ M による対象の 10 倍以上の増殖促進効果は, 10^{-6} M の anti-androgen; Cyproterone Acetate (CA) の添加にて完全に抑制された。さらに種々の濃度の EGF, Insulin は増殖促進活性がなかった。

4) CM に充分量の CA を添加後, 5-40% の比率で新鮮無血清培養液と混合し, その SC3 に対する増殖効果を調べた。CM には混合濃度依存性に, CA にて抑制されない増殖促進活性を認めた。一方, CM (-); 0-2 には, CM; 0-2 に認められる増殖促進活性はなかった。

5) 200ml の CM を限外炉過膜にて 40 倍に濃縮し, Sephadex G-100 にてゲル炉過を行った。その結果分子量約 70KDa に, CA にて抑制されない増殖促進活性を認めた。

〔考 察〕

近年性ホルモン依存性癌の増殖は, 性ホルモン誘導性に癌細胞自身から分泌される自己増殖因子によると考えられている。シオノギ癌は in vivo の系のみならず, 無血清培養液中にても生理量の T により著名な増殖を示した。また CM には CA にて抑制されない増殖促進活性を認め, さらにゲル炉過にて分子量約 70KDa に活性の peak を確認した。即ち, シオノギ癌は無血清培養液中において T 誘導性に自己増殖因子を分泌し, 自らの増殖を維持していると考えられた。また in vivo の腫瘍においてもこうした機構 (autocrine mechanism) が存在すると思われた。一方 in vivo の系で, 薬理量の E_2 は腫瘍の増殖を促進したが, in vitro の系ではこれは認められなかった。この点に関しては種々の理由が考えられる

が、in vivo の系における薬理量 E_2 の効果はシオノギ癌自身による自己増殖因子によるものではなく、他の正常細胞からの E_2 誘導性増殖因子による可能性 (paracrine または endocrine mechanism) 等が推察された。

論文の審査結果の要旨

シオノギ癌 SC115 はアンドロゲン依存性癌として知られているが、in vivo では生理量のアンドロゲンのみならず、薬理量のエストロゲンによっても増殖が促進される。本研究はアンドロゲン及びエストロゲンによるシオノギ癌 SC115 の増殖機構について研究したものである。本研究において彼は、SC115 腫瘍からクローニングによって得た株 SC3 の in vitro における増殖が、アンドロゲン誘導性自己増殖因子による事 (autocrine mechanism) を示した。また、SC3 株が in vitro では大量のエストロゲンによっても増殖し得ないことを見だし、SC115 腫瘍の薬理量エストロゲンによる増殖が autocrine mechanism 以外の増殖機構 (paracrine あるいは endocrine mechanism) によることを示唆した。現在、性ホルモン依存性癌の増殖機構に関しての多くの事がいまだ不明であり、特にアンドロゲン依存性癌の増殖機構に関してはほとんど解明されていない。本研究は性ホルモン依存性癌の増殖機構に関する数少ない研究の中でも、2つの性ホルモンによる癌増殖が異なる機構を介していることを示した示唆に富むものであり、学位を授与するに値すると考える。