The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Growth-stimulatory effect of androgen-induced autocrine growth factor(s) secreted from Shionogi carcinoma 115 cells on androgen-unresponsive cancer cells in a paracrine mechanism
Author(s)	野々村, 祝夫
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37135
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

【55】

氏名・(本籍)	野々村　祝夫（のの むら のり お）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9119 号
学位授与の日付	平成2年3月24日
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Growth-stimulatory effect of androgen-induced autocrine growth factor(s) secreted from Shionogi carcinoma 115 cells on androgen-unresponsive cancer cells in a paracrine mechanism (シオノギ癌（SC115）より分泌されるアンドロゲン誘導性自己増殖因子のアンドロゲン非依存性細胞に対するパラクリン機構を介した増殖促進効果)
論文審査委員	(主査) 教授　園田　孝夫 (副査) 教授　北村　幸彦　　教授　松本　圭史

論文内容の要旨

（目　的）

泌尿器科領域では前立腺癌に対するホルモン療法を考える上で，ホルモン療法抵抗性癌すなわちホルモン非依存性癌の出現が重大な問題となる。ホルモン依存性癌及び非依存性癌の増殖機構や，それらの増殖における相互関連を探ることは大切なことである。これらの事を基礎的レベルで研究するためには良い実験系が必要である。アンドロゲン依存性マウス乳癌であるシオノギ癌（SC115）からアンドロゲン依存性及び非依存性クローン化株（SC－3及びSC－4）を樹立し，無血清培養系を用いて，その培養上清中に分泌されるアンドロゲン誘導性増殖因子をヘパリンセファロースカラムにて生化学的に解析し，さらにこれら二種のクローン化株間における，この増殖因子を介したオートクリン，パラクリン機構について検討を加えた。

（材料と方法）

1. クローン化株（SC－3，SC－4）の樹立

シオノギ癌（SC115）の同一固形癌から培養細胞を作り，限界稀釈法を繰り返し，アンドロゲン依存性クローン化株（SC－3）及び非依存性クローン化株（SC－4）を樹立した。

2. 細胞増殖の評価

無血清培養液中におけるSC－3またはSC－4の細胞数の変化または，〔^{3}H〕thymidineの細胞内への取り込みによるDNA合成で評価した。

3. 無血清培養上清（Conditioned Medium=CM）の調整

SC－3，SC－4細胞を2％または5％の，Dextran-coated charcoal で処理した fetal calf serum（DCC－FCS）を含むEagle's minimum essential medium（MEM）でplatingし，24時間後，0.1％の bovine serum albumin（BSA）を含む無血清培養液〔Ham's F－12：MEM=1：1（v／v）〕に交換，更に24時間後再び同無血清培養液に交換して，それから2日後及び4日後にその無血清培養上清（CM）を回収した。回収したCMは filterにかけ，分子量10kDa cutのmembrane disc（PTGC OLCM2）にて限外濾過し，約25倍に濃縮した。

4. Heparin-Sepharose(H-S) Affinity Chromatography

約25倍に濃縮したCMをH－S column（gel bed volume：1.5－2.0ml）にかけ，0.1M NaClを含む10mMリン酸緩衝液で洗浄後，NaCl濃度を0.1Mから1.5M まで連続的に上げて溶出を行った。溶出した各分画は無血清培養液で透析した後，細胞に対する増殖促進効果をDNA 合成でみた。

（成　績）

1. 無血清培養条件下ではSC－3細胞は10^{-8} M testosterone（T）存在下でのみ著明に増殖した。一方，SC－4は高細胞密度条件下でのみTの存在と関係なく増殖した。
2. アンドロゲン刺激下でSC－3から得たCM（以下CM〔T〕）はSC－3，SC－4 の両細胞の増殖を著明に促進したが，アンドロゲン非存在下で得たCM（以下CM〔－〕）はSC－4に対してのみ，わずかな増殖促進効果を示した。
3. CM〔T〕中に存在する，SC－3よりアンドロゲン誘導性に分泌される増殖促進活性は，H－S column によりNaCl濃度1.1Mで溶出された。そして，アンドロゲン誘導性増殖因子はSC－3，SC－4の増殖を促進し，その形態をepithelialからfibroblast様に変化せしめた。
4. 高細胞密度のSC－4より得たCMはSC－4に対してのみ増殖促進活性を示したが，これは，H－S columnでNaCl濃度0.5Mの位置に溶出された。また，CM〔－〕中の増殖促進活性も同様であった。

（総　括）

SC－3細胞はアンドロゲン刺激下でアンドロゲン誘導性増殖因子をその培養液中に分泌しており，この増殖因子はオートクリン機構を介してSC－3自身を増殖させるだけでなく，パラクリン機構を介してアンドロゲン非依存性のSC－4細胞に対しても増殖促進効果を示した。また，この増殖因子はヘパリンに高親和性を持ち，fibroblast growth factor（FGF）様と考えられた。これは，ホルモン誘導性に産生される増殖因子が，ホルモン依存性を無くした癌の増殖を促進する事を示す。

SC－3およびSC－4細胞は，アンドロゲン非存在下でヘパリン低親和性増殖因子を分泌したが，これはSC－4の増殖のみを促進した。SC－4がアンドロゲン非存在下でも増殖するのは，ヘパリ

ン低親和性増殖因子に対する感受性を獲得したためと考えられる。

論文の審査結果の要旨

本研究は，アンドロゲン依存性癌であるシオノギ癌（SC115）が，その培養液中に分泌されるアンドロゲン誘導性のヘパリン親和性増殖因子により自己増殖機構を介して増殖促進されることを無血清培養系を用いて明らかにし，さらに，アンドロゲン依存性細胞とアンドロゲン非依存性細胞との間にはこの増殖因子を介したパラクリン機構が存在することをも明らかにしたものである。

これらの成果は，泌尿器科領域における同じアンドロゲン依存性癌である前立腺癌の増殖機構を探る上でも非常に有用であり，かつその治療分野への寄与も期待しうるものである。故に，学位論文として価値あるものと思われる。