

Title	ヒト肝細胞癌における transforming growth factor- $\beta$ mRNA および蛋白の発現に関する検討
Author(s)	伊藤, 信之
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37340">https://hdl.handle.net/11094/37340</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)	伊 藤 信 之
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9583 号
学位授与の日付	平成3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	ヒト肝細胞癌における transforming growth factor- $\beta$ mRNA および蛋白の発現に関する検討
論文審査委員	(主査) 教授 垂井清一郎 (副査) 教授 森 武貞 教授 高井新一郎

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) は細胞の増殖・分化に関与し、オートクラインあるいはパラクラインにより多彩な生理活性を呈するポリペプチドである。培養系において、多くの悪性細胞がTGF- $\beta$  mRNAを過剰発現し、多量のTGF- $\beta$ を産生していることが知られているが、生体内での癌組織におけるTGF- $\beta$ の発現については明らかにされていない。癌組織でのTGF- $\beta$ の産生を知ることは、癌患者におけるTGF- $\beta$ の意義を理解するうえでも重要である。

本研究は、ヒト肝細胞癌組織におけるTGF- $\beta$ の発現を知る目的で、Northern hybridizationおよびcompetitive radioreceptor assayを用いて癌組織中のmRNA発現の強さおよび蛋白量の検討を行った。  
(方 法)

組織学的に確診したヒト肝細胞癌患者6例(男性4例女性2例、平均年齢65.3 $\pm$ 7.4歳)の切除癌組織を用いて検討した。全例HBs抗原は陰性であった。

壊死巣を含まない癌組織からtotal RNAをguanidine/cesium chloride法により抽出し、TGF- $\beta$  1 c-DNA (1.05kb)をプローブとしてNorthern hybridizationを行った。さらに、 $\beta$ -actin c-DNAをプローブとしてrehybridizationを行い、TGF- $\beta$  1 mRNAの発現の強さを $\beta$ -actin mRNAの発現の強さに対する比(TGF- $\beta$  1 mRNA/ $\beta$ -actin mRNA)で表した。

癌組織中のTGF- $\beta$ 蛋白はRobertsらの方法に準じて抽出した。癌組織中の不活性型TGF- $\beta$ はacid-ethanolにより活性型TGF- $\beta$ とし、totalのTGF- $\beta$ 蛋白を抽出した。抽出したTGF- $\beta$ 蛋白量は<sup>125</sup>I-TGF- $\beta$  1をリガンドとして、正常ラット腎線維芽細胞(NRK)を用いたcompe-

titive radioreceptor assay により測定した。

また、癌組織中の TGF- $\beta$  蛋白の局在を、ウサギ抗ヒト TGF- $\beta$  1 抗体を用いて avidin-biotin complex 法により、免疫組織化学的に検討した。

#### (結 果)

- (1) TGF- $\beta$  1 mRNA は全ての肝細胞癌組織において発現していることが明らかとなった。その発現の強さは、ヒト肝癌由来細胞株である PLC/PRF/5 細胞と同程度であり、ヒト正常肝に比し過剰に発現していた。
- (2) competitive radioreceptor assay で求めた精製ヒト TGF- $\beta$  1 の標準曲線は、0.5 から 1.0 ng/ml の濃度で良好な直線性を示した。また、抽出した検体の希釈曲線もこの範囲において標準曲線と良好な平行性を示し、NRK 細胞を標的細胞とした competitive radioreceptor assay が TGF- $\beta$  蛋白定量のうえで信頼性の高い測定系であることが示された。
- (3) 癌組織中の TGF- $\beta$  蛋白量は  $207 \pm 121$  ng/g wet tissue と高値を示した（非癌部肝組織  $71 \pm 33$  ng/g wet tissue）。
- (4) 癌組織中の TGF- $\beta$  1 mRNA の発現の強さ（TGF- $\beta$  mRNA/ $\beta$ -actin mRNA）は、TGF- $\beta$  蛋白量と有意な正の相関を示した（ $r = 0.69$ ,  $P < 0.05$ ）。
- (5) 免疫組織染色により肝癌細胞の細胞質内に顆粒状集積を認め、肝癌細胞が TGF- $\beta$  蛋白を産生していることが示された。

#### (総 括)

- (1) ヒト肝細胞癌組織において TGF- $\beta$  1 mRNA が過剰に発現していることを明らかにした。
- (2) ヒト肝細胞癌組織中の TGF- $\beta$  蛋白量は、 $207 \pm 121$  ng/g wet tissue と高値であった。また、免疫組織化学的手法により、肝癌細胞が TGF- $\beta$  蛋白を産生していることが示された。
- (3) 癌組織中の TGF- $\beta$  蛋白量は、TGF- $\beta$  1 mRNA の発現の強さと相関を示し、癌組織において、過剰に発現された TGF- $\beta$  1 mRNA が TGF- $\beta$  蛋白に転写されることにより、多量の TGF- $\beta$  が産生されることが示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヒト肝細胞癌における TGF- $\beta$  の発現については未だ検討されておらず、また、癌組織中の TGF- $\beta$  蛋白を測定した報告もない。本研究は、ヒト肝細胞癌組織において TGF- $\beta$  が過剰に発現していることを Northern hybridization および competitive radioreceptor assay により明らかにし、さらに肝癌細胞そのものが TGF- $\beta$  を発現していることを免疫組織化学的手法をもちいて証明したものである。また、TGF- $\beta$  1 mRNA の発現の強い症例において肝癌細胞の血管内および被膜への浸潤を認めたことは、肝癌細胞の腫瘍外浸潤における TGF- $\beta$  の関与を示唆したものである。これらの結果は、肝癌患者において TGF- $\beta$  が担う臨床的意義を解明するうえで重要な知見を加えるものであり、学位に値すると判断される。