



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Effects of Various Growth Factors on Growth of a Cloned Human Esophageal Squamous Cancer Cell Line in a Protein-free Medium                     |
| Author(s)    | 奥, 邦彦                                                                                                                                           |
| Citation     | 大阪大学, 1991, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37809">https://hdl.handle.net/11094/37809</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              | 奥 邦 彦                                                                                                                                                                        |
| 博士の専攻分野<br>の 名 称 | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                    |
| 学 位 記 番 号        | 第 9 9 6 0 号                                                                                                                                                                  |
| 学位授与年月日          | 平 成 3 年 12 月 3 日                                                                                                                                                             |
| 学位授与の要件          | 学位規則第 4 条第 2 項該当                                                                                                                                                             |
| 学 位 論 文 名        | Effects of Various Growth Factors on Growth of a<br>Cloned Human Esophageal Squamous Cancer Cell Line<br>in a Protein-free Medium<br>(無蛋白培養系におけるヒト食道癌株の増殖に及ぼす種々の成長因<br>子の影響) |
| 論 文 審 査 委 員      | (主査)<br>教 授 北村 幸彦<br>(副査)<br>教 授 森 武貞 教 授 高井新一郎                                                                                                                              |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

食道癌は消化器癌の中でも予後が悪い。一般に食道癌において、epidermal growth factor (EGF) receptor (R) が過剰発現し、また予後をよく反映するとされている。しかし、食道癌の増殖機構に関して、どのような成長因子やレセプターが関与しているかについては未だ明らかにされていない。そこで今回、無蛋白培地にて維持・継代が可能なヒト由来培養食道癌株 (TE-3-OS) を樹立し、種々の成長因子がその増殖に及ぼす影響について検討した。

### 〔方 法〕

#### 1. 細胞および細胞培養

高分化型食道癌の皮膚転移巣より樹立されたヒト由来培養食道癌 TE-3 を用いた。我々の教室で、10% fetal calf serum (FCS) を含む Eagle's minimum essential medium (MEM) 培地で維持可能となった。さらに24継代後に、limiting dilution method によって無蛋白培地〔Ham's F-12 : MEM = 1 : 1 (v/v)〕にて維持可能なクローン株 TE-3-OS を樹立し、以下の実験に用いた。

#### 2. 細胞増殖促進効果の評価

Insulin-like growth factor (IGF) -1, IGF-II (0.1 - 1,000 ng/ml), insulin (0.01 - 100  $\mu$ g/ml), EGF, transforming growth factor (TGF) - $\alpha$ , acidic fibroblast growth factor (aFGF), basic FGF, platelet-derived growth factor (PDGF), TGF- $\beta$  (0.01 - 100 ng/ml) を各々単独で刺激した時の TE-3-OS 細胞への [ $^3$ H] thymidine の取り込み、及び TE-3-OS

細胞の細胞数の変化にて評価した。

3. IGFs 及び insulin 誘導性増殖に対する抗 IGF-I receptor (R) 抗体 ( $\alpha$ IR3) による抑制効果の評価

IGF-I, IGF-II (100ng/ml) あるいは insulin (10  $\mu$ g/ml) で刺激し、同時に 10-10,000 ng/ml の抗 IGF-IR 抗体を添加した時の TE-3-OS 細胞への [ $^3$ H] thymidine の取り込みにて評価した。

4. IGF-I レセプターアッセイ

$^{125}$ I-IGF-I を用い monolayer 系にて binding assay を行なった。また、結合特異性を調べるために IGF-II 及び insulin による結合阻害を調べた。

#### 〔結 果〕

1. IGFs 及び insulin は、TE-3-OS 細胞の細胞数および [ $^3$ H] thymidine の取り込みを濃度依存性に促進し、その最大効果は IGFs 100ng/ml, insulin 10  $\mu$ g/ml の濃度で得られた。EGF と TGF- $\alpha$  も有意な増殖促進作用を示し 10ng/ml の濃度で平衡に達した。
2. PDGF, aFGF, bFGF 及び TGF- $\beta$  は、何れの濃度でも TE-3-OS の増殖を促進しなかった。
3. IGFs 及び insulin 誘導性の増殖促進効果の各々約 80%, 70% が、抗 IGF-IR 抗体によって抑制された。
4. TE-3-OS 細胞には、Kd 800 pM, 結合部位数 110,000/cell の IGF-I レセプターが存在した。また、IGF-IR に対して IGF-II は、IGF-I よりやや低いもほぼ同様の親和力を有したが、insulin の親和力はかなり低かった。

#### 〔総 括〕

無蛋白培地にて維持・継代が可能なヒト由来培養食道癌株 TE-3-OS 細胞を樹立した。この TE-3-OS 細胞の増殖機構について検討した結果、1) IGF-I, IGF-II insulin は TGF- $\alpha$ , EGF とともに増殖促進作用を有すること、および 2) IGF-I と同様に IGF-II, insulin も主に IGF-IR を介して作用することから、食道癌の増殖に IGF-IR が重要な役割を持つ可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

腫瘍細胞の増殖機構として autocrine mechanism があり、数種類の autocrine growth factor が知られている。本研究は autocrine growth factor による食道癌株 TE-3-OS 細胞の増殖機構を明らかにしようとして行った研究である。先ず、本研究においては、食道癌株 TE-3 のクローニングによって無蛋白培地にて維持が可能な株 TE-3-OS を得た。さらに、その増殖がトランスフォーミング因子 (TGF)- $\alpha$ , 上皮成長因子 (EGF) 及びインシュリン様成長因子 (IGF)-I, IGF-II あ

るいはインシュリンによって促進されることを見いだした。また、これらの増殖促進作用は、EGFレセプター及びIGF-Iレセプターを介することを示唆した。現在まで、無蛋白培地にて維持ができる食道癌株はなく、食道癌の autocrine 機構による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、その機構を解明するために無蛋白培養系において増殖する食道癌株を樹立し、その増殖を促進する成長因子を明らかにした。これらの所見は、食道癌の autocrine 機構による増殖の機構の解明に手がかりを与えるものであり、学位を授与するに値すると思われる。