The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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	https://hdl.handle.net/11094/37809
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

【40】

氏　　名	奥（おく）　邦（くに）　彦（ひこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　9960　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 Cloned Human Esophageal Squamous Cancer Cell Line in a Protein-free Medium （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子の影響）
論文審査委員	（主査） 教授　北村　幸彦 （副査） 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（0.1-1,000ng/ml），insulin（0.01-100 μg/ml），EGF，transforming growth factor（TGF）-α，acidic fibroblast growth factor（aFGF），basic FGF，platelet-derived growth factor（PDGF），TGF-β（0.01-100ng/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（αIR3）による抑制効果の評価

IGF-I，IGF-II（100ng/ml）あるいはinsulin（10μg/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 10μg/mlの濃度で得られた。EGFとTGF-α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-β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-α，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）-α，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考えられる。