

Title	マウス顎下腺上皮由来腫瘍細胞の増殖過程における上皮成長因子受容体の役割に関する研究
Author(s)	千足, 浩久
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/38047
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	千 足 浩 久
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学位記番号	第 1 0 2 2 3 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科 歯学臨床専攻
学位論文名	マウス顎下腺上皮由来腫瘍細胞の増殖過程における上皮成長因子受容体の役割に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 作田 正義 (副査) 教授 鈴木不二男 助教授 白砂 兼光 助教授 零石 聰

論 文 内 容 の 要 旨

(研究目的)

近年、増殖因子受容体の過剰発現と腫瘍性増殖との関係が注目されている。頭頸部腫瘍においてもEGF受容体(EGFR)の過剰発現と腫瘍の悪性度との相関性が報告され始めている。しかし、EGFR過剰発現が腫瘍性増殖の原因であるのか、あるいはその結果であるのかは不明であり、またお互いがどのような機序を通じて関連し合っているのかという点に関しては殆ど解明されていない。その理由の一つとして適切な実験モデルの欠如が挙げられる。当教室の今本らは雄マウス顎下腺上皮細胞(MSG)を化学発癌物質により変異させることによりTMSG細胞を樹立した。TMSGは、もとのMSG細胞が保有していたEGF産生能力、及びEGFRを喪失したが、不死性、及び腫瘍原性を獲得した。

本研究においては、腫瘍細胞の増殖調節におけるEGFRの役割を詳細に知ることを目的として、まず、実験モデル開発のために分子生物学的技術を用いてマウス由来細胞でありEGFRを保有していないTMSG細胞にヒトEGFR(hEGFR)遺伝子を挿入した。その結果得られたhEGFRを過剰発現するマウス細胞TMSG-EGFRの増殖様式をin vitro、及びin vivoにおいてTMSG細胞と比較しながら検討した。

(方法及び結果)

TMSG細胞にEGFRを過剰発現させるために、hEGFR遺伝子を組み込んだプラスミドpMJ-30及びトランスフェクション終了後の細胞を薬剤耐性を利用してクローニングするためネオマイシン耐性遺伝子neoを組み込んだプラスミドpSV₂/neoを一緒にTMSG細胞にリン酸カルシウム沈澱法を用いてトランスフェクションさせた。トランスフェクション操作終了後、ネオマイシン存在下にて、効果的にト

ランスフェクションされた細胞を選別し、細胞株 TMSG-EGFR を樹立した。免疫沈降及びオートラジオグラフィーを用いた実験から、TMSG-EGFR 細胞はトランスフェクションされた hEGFR 遺伝子がコードする分子量170kd の hEGFR を発現することが証明された。さらに、抗リン酸化チロシン抗体を用いたウエスタンブロッティングを行なった結果、トランスフェクションされた EGFR が自己チロシンリン酸化能を有していることが確認された。

^{125}I -EGF の結合様式より、TMSG-EGFR 細胞は高親和性受容体 (K_d $3.7 \times 10^{-11}\text{M}$, 受容体数3000/細胞), 及び低親和性受容体 (K_d $8.3 \times 10^{-9}\text{M}$, 受容体数13万/細胞) を発現していることが明らかとなった。

in vitro において、TMSG-EGFR 細胞は、TMSG 細胞に比べ高い増殖性を示した。EGF, 及び TGF- α により濃度依存性にその増殖が促進されたのみならず、TMSG 細胞には見られなかった PDGF に対する反応性も示した。さらに、TGF- β の増殖抑制作用に対し抵抗性を示し、増殖抑制機構からの逸脱を示した。

in vivo において、TMSG-EGFR 細胞は強い腫瘍形成能を有し、TMSG 細胞と同様、未分化癌を形成した。その増殖能は TMSG 腫瘍に比べ大幅に高いものであった。

雄マウスにおいて主要な EGF 産生臓器である顎下腺の摘出により TMSG-EGFR 腫瘍の増殖は低下した。一方、TMSG 腫瘍の増殖は顎下腺摘出による影響を受けなかった。これより TMSG-EGFR 腫瘍は顎下腺由来の EGF によりその増殖が影響を受けることが示唆された。

EGFR が機能を発現し、細胞増殖を促進させるにはチロシンキナーゼを介する細胞内情報伝達機構の作動が要求される。チロシンキナーゼ阻害剤 ST-638 の細胞増殖阻害活性について検討した。ST-638 は培養 TMSG-EGFR 細胞の増殖を抑制した。in vivo においても ST-638 は TMSG-EGFR 腫瘍の増殖を有意に抑制した。一方、TMSG 腫瘍の増殖は ST-638 投与によっても抑制されなかった。

(結 論)

1. hEGFR を過剰発現するマウス顎下腺上皮由来腫瘍細胞株 TMSG-EGFR を樹立した。
2. hEGFR 遺伝子のトランスフェクションにより TMSG-EGFR の自己増殖能は in vitro および in vivo のいずれにおいても大幅に高められ、この増殖能の亢進は EGF に対する応答性の増加のみならず PDGF 等の他の増殖因子刺激に対する応答能、TGF- β のような細胞増殖抑制因子による増殖阻害からの逸脱能の獲得が協調しあった結果に起因すると推察された。
3. TMSG-EGFR 腫瘍のように EGFR を過剰発現する腫瘍の増殖はチロシンキナーゼ阻害剤により抑制し得る可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は腫瘍細胞の増殖過程における上皮成長因子受容体 (EGFR) の役割について検討したものである。EGFR および上皮成長因子 (EGF) 産生能力を喪失したマウス顎下腺由来腫瘍細胞 (TMSG) に

ヒトEGFR遺伝子を挿入し、EGFRを発現している細胞（TMSG-EGFR）を作製し、TMSG細胞と比較した。

その結果、TMSG-EGFR細胞の自己増殖能は増大した。また、この自己増殖能の亢進はEGFや他の増殖因子に対する応答能の増大のみならず、TGF- β のような細胞増殖抑制因子による増殖阻害からの逸脱による機構が関与している可能性が明らかとなった。さらに、この細胞の増殖は細胞内情報伝達機構の作動に重要なチロシンキナーゼに対する阻害剤により抑制し得ることが示唆された。

以上の結果は腫瘍細胞の自己増殖機構の一端を明らかにし、また腫瘍細胞の特性を研究する上で有益な実験モデルを提供したものである。よって、本研究者は博士（歯学）の学位を得る資格があると認める。