

Title	Androgen-responsive expression and mitogenic activity of schwannoma-derived growth factor on an androgen-dependent Shionogi mouse mammary carcinoma cell line.
Author(s)	園田, 光
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3063609
rights	©1992. This manuscript version is made available under the CC-BY-NC-ND 4.0 license.
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	その 園	だ 田	ひかる 光
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)		
学位記番号	第 1 0 3 9 2 号		
学位授与年月日	平成 4 年 9 月 17 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	Androgen-responsive expression and mitogenic activity of schwannoma-derived growth factor on an androgen-dependent Shionogi mouse mammary carcinoma cell line. (シオノギ癌由来アンドロジェン依存性マウス乳癌細胞株におけるシュワノーマ由来増殖因子のアンドロジェン応答性発現と増殖誘導活性)		
論文審査委員	(主査) 教授	谷口 維紹	
	(副査) 教授	平野 俊夫	教授 三木 直正

論文内容の要旨

[目的]

シオノギ癌 SC115 はアンドロジェン依存性を持つマウスの乳癌であるが、雄マウスにおいてアンドロジェン依存的に増殖した SC115 固形癌は去勢後いったん縮退し、数週間後に今度はアンドロジェン非依存的な増殖を始め宿主を死に至らしめるという点で、前立腺癌などヒトの性ホルモン依存性癌のモデルとして興味を持たれている。SC115 のこのアンドロジェン依存性増殖および非依存性増殖能獲得のメカニズムを *in vitro* で研究するため、我々はこれまでに SC115 よりアンドロジェン依存性細胞株 SC2G および非依存性細胞株 SC1G を樹立し、さらに、SC2G 細胞のアンドロジェン存在下における培養上清中から SC2G 細胞に対する増殖因子活性を検出し、部分精製の結果、その増殖因子活性は分子量約3万のヘパリン結合性蛋白によって担われていることが明らかとなった。今回この増殖因子を同定するため、その性状を上皮細胞増殖因子 (EGF) など既知の増殖因子のものと比較したところ、ラット・シュワノーマ由来増殖因子 (SDGF) のものとよく一致することがわかった。SC2G 細胞より調製した1本鎖 cDNA を鋳型としてラット SDGF 特異的プライマーを用いた PCR 反応を行ったところ、SC2G 細胞において SDGF 遺伝子が発現していることが確認された。本研究は、SC2G 細胞で発現されている SDGFcDNA をクローンすることによりマウス SDGF の1次構造を決定し、組換え体 SDGF 蛋白のもつ SC2G 細胞に対する増殖因子活性について検討し、また、SC2G 細胞における SDGF 遺伝子の発現のアンドロジェン依存性を調べる目的で行われたものである。

[方法ならびに成績]

- (1) SC2G 細胞全 cDNA を鋳型としたラット SDGF 特異的プライマーを用いた PCR 反応の産物である DNA 断片をクローンし塩基配列を決定したところ、この cDNA は744bp の翻訳領域を持ち、そこにコードされるアミノ酸配列はラット SDGF のものと84%の相同性を有していたため、これはマウスにおけるラット SDGF のホモログであると考えられた。
- (2) SC2G 細胞よりクローンしたマウス SDGFcDNA を COS-7 細胞で発現させたところ、その培養上清の10倍希釈液は10nM テストステロンにより誘導される細胞増殖に比べ68%の SC2G 細胞に対する増殖誘導活性を示した。さら

に、SDGFはその構造上EGFのファミリーに属すると考えられるが、EGFファミリーに属する他の増殖因子同様その前駆体は細胞膜に結合した形で存在することが予想されたため、SDGF cDNAの細胞外領域のC-末端付近に相当する部分に人工的に終止コドンを入れ分泌型SDGFをコードするcDNAを構築しCOS-7細胞で発現させたところ、その培養上清の10倍希釈液は10nMテストステロンの1.7倍のSC2G細胞に対する増殖誘導活性を示した。

- (3) SC2G細胞におけるSDGF mRNAの発現をノーザン・ブロット法により解析したところ、テストステロン存在下で培養したときのみその発現が検出され、テストステロン非存在下ではバンドは確認できなかった。一方、SC1G細胞ではテストステロンの存在、非存在に関係なくSDGF mRNAは構築的に発現していた。また、これらの細胞における内在性マウス乳癌ウイルス(MMTV)による転写産物を解析したところ、SC1G、SC2Gどちらの細胞株においてもその発現にはアンドロジェン依存性が保持されていた。

[総括]

先に行った我々の実験では、SC2G細胞の培養上清中にはテストステロン存在下で培養したときのみヘパリン結合性のSC2G細胞に対する増殖因子活性が検出された。SC2G細胞においてSDGF mRNAがアンドロジェンによる誘導特異的に発現され、SDGF蛋白がSC2G細胞に対して増殖因子活性を有するという今回得られた知見は、SC2G細胞のテストステロン存在下における培養上清中に存在すると考えられる増殖因子分画にSDGFが含まれることを強く示唆するものである。SC2G細胞において分泌されたSDGFはオートクライン増殖因子として機能するものと考えられる一方、COS-7細胞でSDGF前駆体蛋白の細胞外領域を強制発現させた場合に高い増殖因子活性が得られた事実は、EGFやTGF α 同様細胞膜に結合したSDGF前駆体が存在することを示唆し、この前駆体が細胞間の接触により隣接した細胞に増殖刺激を与えるという可能性も考えられる。また、SC1G細胞において、MMTVの発現がアンドロジェン依存性を保持しているのに対しSDGFの発現が構築的に行われていることから、int癌遺伝子などの発現とは異なり、SDGFの発現はMMTVの発現とは独立していること、また、SC1G細胞においてはアンドロジェン誘導特異的遺伝子発現機構はまだ機能していることが推察される。以上より、SC115がアンドロジェン依存性癌から非依存性癌に進行する際に、SDGF遺伝子のアンドロジェン依存性から非依存性への発現の変化が重要なステップとなっている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

シオノギ癌SC115はアンドロジェン依存的に増殖するマウスの乳癌であるが、雄マウスにおいてアンドロジェン依存的に増殖しているSC115固形癌はアンドロジェンの供給が断たれると縮退するが、数週間後にアンドロジェン非依存的に増殖し始め、最終的には宿主を死に至らしめるという性質を持ち、前立腺癌などヒトにおける性ホルモン依存性癌のよいモデルと考えられる。本研究はSC115由来のアンドロジェン依存性および非依存性細胞株を用いて行われ、アンドロジェン依存性細胞株においてシュワノーマ由来増殖因子の遺伝子発現がアンドロジェンによって誘導され、その遺伝子産物はその細胞株自身に対し増殖因子活性を有することが明らかになった。さらに、アンドロジェン非依存性細胞株においては、この増殖因子遺伝子は構築的に発現されていることがわかり、性ホルモン依存性癌の増殖および非依存性能獲得に対して自己増殖因子遺伝子の発現が強く関与していることが示された。以上の研究は性ホルモン依存性癌細胞の増殖機序の解明に重要な貢献をするものであり、博士(医学)の学位論文に充分値するものである。