

Title	ステロイドホルモン誘導性増殖因子とその受容体
Author(s)	佐藤, 文三
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38335
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名 佐 藤 文 三

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 4 6 2 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 4 年 12 月 2 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 ステロイドホルモン誘導性増殖因子とその受容体

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 岸 本 忠 三(副査)
教 授 松 沢 佑 次 教 授 北 村 幸 彦

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

ステロイドホルモンの作用は多岐に渡り、代謝制御のみならず、標的細胞の増殖や分化にも深く関与している。又標的臓器癌の増殖をも調節している。しかし、ステロイドホルモンによる増殖制御機構には不明な点が多い。そこでアンドロゲン及びグルココルチコイドにより増殖刺激を受けるマウス乳癌細胞を用い、ステロイドホルモン依存性増殖機構について検討した。

[方法ならびに成績]

細胞培養法と Conditioned Medium の調製：マウス乳癌由来の細胞株 (SC-3) を2%牛胎児血清 (FCS) 含有培地でプレティング後、無血清培地 (HamF-12 : MEM : 0.1% Bovine Serum Albumin (HMB)) に変え、テストステロン又はデキサメサゾンにて刺激した。一定時間刺激後、Conditioned Medium (CM) を回収し、ペリコンファイバーにて分子量10000以上の分子を10倍濃縮した。ステロイドホルモン及びCM中の増殖刺激活性はSC-3細胞を標的細胞として [³H] Thymidine incorporation を指標とした。CM中の増殖因子の解析は、heparin-Sepharose affinity columnにて行った。以上の実験において、ステロイドホルモン刺激によりSC-3のDNA合成が著増するとともに、CM中に増殖刺激活性が誘導されることが判明した。この増殖刺激活性はヘパリンと結合し、1.1~1.3M NaClにより溶出されることも明らかとなった。又、SC-3細胞を既知の増殖因子で刺激すると、細胞芽細胞増殖因子 (acidic and basic FGF) のみに増殖応答が認められた。そこでステロイドホルモン誘導性増殖因子がFGF受容体と結合する可能性を検討した。

増殖因子受容体の解析：SC-3細胞には、basic FGF (bFGF) と高親和性 ($\sim 10^{-11}$ M) に結合する受容体が発現していた。そこでテストステロン刺激下で得られたCMをheparin-Sepharose affinity columnにて分画し、各分画の¹²⁵I-bFGFと受容体との結合に対する阻害活性を測定した。CM中の増殖刺激活性とbFGFの受容体への結合を阻害する活性は、同一分画に存在した。更に、この阻害活性をcross-linking法で検討した。即ち¹²⁵I-bFGFを受容体と結合させ disuccinimidyl suberate で非可逆的に結合させ電気泳動にて解析した。高親和性受容体は約150Kに泳

動された。 ^{125}I -bFGF と受容体と結合させる際に、非標識の acidic FGF,bFGF 又は heparin-Sepharose affinity column にて部分精製されたステロイドホルモン誘導性増殖因子を共存させると、この150Kのバンドは消失した。以上の結果はステロイドホルモン誘導性増殖因子は FGF 受容体と結合することを示唆している。

SC-3細胞で発現している FGF 受容体の解析：SC-3細胞から poly A rich RNA を oligo-dT column にて調製し、Gubler 法により cDNA を作製した。この cDNA を pcDLSR α 296 に組み込み、expression cDNA Library を得た。この Library を鶏 FGF 受容体 I cDNA をプローブとしてスクリーニングを行い、2つの positive clone を得たので、dideoxy 法にて塩基配列を決定した。両クローンとも同一の塩基配列であり、832個のアミノ酸をコードしていることが判明した。その構造はマウスの FGF 受容体 I と比べ細胞外領域に12ヶのアミノ酸の挿入と2ヶのアミノ酸の欠失、細胞内領域に His から Arg への転換が生じていた。この clone を CHO 細胞に導入すると、 ^{125}I -bFGF 結合能が増加することも明らかとなった。

[総括]

テストステロンやデキサメサゾンで SC-3細胞を刺激するとヘパリン結合性増殖因子を誘導すること、この増殖因子は細胞外へ分泌された後、SC-3細胞に発現している FGF 受容体 I に結合し増殖刺激を行うことが明らかとなった。即ち、ステロイドホルモンによる増殖刺激は、autocrine loop の活性化がその機構の一つである。

論文審査の結果の要旨

ステロイドホルモンの作用は多岐にわたるが、標的細胞の増殖制御も重要な作用の一つである。特に標的細胞癌においてはステロイドホルモンのアゴニストやアンタゴニストが増殖制御のために使用に用いられているが、その作用発現の分子機構は不明であった。本研究はマウス乳癌の系を用い、アンドロゲン及びグルココルチコイドが自己増殖因子を分泌すること、この自己増殖因子はヘパリン結合性であり、FGF 受容体 I に結合することを明らかにした。又癌細胞においては FGF 受容体 I に変異が存在しうることも明らかにした。以上の結果はステロイドホルモンによる細胞増殖の分子機構の一つを明らかにしたのみならず、標的細胞癌の治療を考える上でも重要な知見であると思われる。