



Title	Expression of genes encoding connective tissue proteins in androgen-dependent SC115 tumors after androgen removal
Author(s)	名越, 淳介
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38740
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	越 淳 介
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 0 6 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 2 月 1 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	Expression of genes encoding connective tissue proteins in androgen-dependent SC115 tumors after androgen removal (アンドロゲンを除去時のシオノギ癌115における結合織蛋白遺伝子の発現)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 森 武 貞 (副査) 教 授 北 村 幸 彦 教 授 青 笹 克 之

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

シオノギ癌115 Shionogi carcinoma 115 (SC115) はマウスのアンドロゲン (Ad) 依存性乳癌である。SC115が雄マウスで Ad 存在下に継代されるとき組織学的に未分化髄様癌を示す。しかしこれを雌および去勢マウスのような Ad 非存在下におくと増殖が停止し、一部の癌細胞は線維芽細胞様の紡錘形細胞や細胞質の豊富な軟骨様の円形細胞に変化する。これらの細胞が SC115細胞由来であることは染色分析や 3-phosphoglycerate kinase (PGK) をマーカーにした電気泳動によって証明されている。発達期の骨組織にみられる紡錘形細胞や軟骨細胞には非コラーゲン性結合織蛋白の遺伝子が発現している。そこで SC115細胞が紡錘形細胞を経て円形細胞へと形態変化する過程でのオステオネクチン (OSN)、オステオポンチン (OSP) マトリックスグラブロチン (MGP)、オステオカルシン (OSC) 遺伝子の発現と局在をノーザンおよび in situ ハイブリダイゼーション法により調べた。

〔方 法〕

SC115を去勢 DS系マウスの背部に移植し、Testosterone propionate (TP) 100 μ g を16日間毎日皮下注射して増殖刺激した。TP注射を中止後、1, 3, 7, 10, 14, 20, 30日目に腫瘍を採取し、これをパラホルムアルデヒドで固定し、3 μ m のパラフィン切片を作製した。腫瘍に占める紡錘形細胞と円形細胞の割合は、腫瘍の最大断面に HE およびトルイジンブルー染色標本における面積比として示した。遺伝子発現の量的変化は採取した試料からグアニジン塩化セシウム法により RNA を抽出し、ノーザンハイブリダイゼーションにより検討した。次に発現遺伝子の局在を in situ ハイブリダイゼーション法により調べた。前処理したパラフィン切片に OSN, OSP, MGP, OSC cDNA から in vitro transcription で得られたジゴキシゲニン標識 cRNA プローブをハイブリダイズさせた。これにアルカリホスファターゼ標識抗ジゴキシゲニン抗体を反応後発色し、さらにサフラニンで後染色した。それぞれの遺伝子の発現を形態学的変化とあわせて検討し、さらに14日目の連続切片を使い隣接細胞におけるこれらの遺伝子の発現様式を調べた。

〔結果〕

SC115はTP注射により急速に増殖し、2週間後には直径1.5cm大に成長した。TP注射中止後、腫瘍は縮小して硬くなり20日目から再び増殖を開始した。TP注射中とTP注射中止後1、3日目は未分化髄様癌の形態を示し、いずれの結合繊維蛋白質の mRNA の発現も認められなかった。7日目には髄様癌のなかにいくつかの紡錘形細胞巣がみられ、OSNがその約半分で発現し、OSPは少数の紡錘形細胞で発現していた。その後、紡錘形細胞の割合は次第に増加し、その一部は渦巻状の細胞集団をつくった。14日目にはこれらの細胞巣の中にトリジンブルー染色陽性のマトリックスをもつ細胞質の豊富な軟骨様の円形細胞がみられ、MGPの発現がみられた。20日目には紡錘形細胞と円形細胞の割合はそれぞれ63、10%を示し、大きな類円形細胞集団に成長した。OSNはその周囲の紡錘形細胞に、OSPはこれらの内部に隣接した一部の円形細胞に強く発現し、円形細胞にはMGPが強く発現していた。しかし観察期間を通じて骨形成は認められずOSCはどの時期にも発現しなかった。以上の遺伝子の量的変化はノーザンハイブリダイゼーションによっても確かめられた。結局円形細胞にはOSN、OSP、MGPのmRNAが発現していたが、14日目の連続切片の結果から、隣接する円形細胞にみられるシグナルの発現様式は必ずしも同一ではなかった。

〔総括〕

SC115からアンドロゲンを除いた後SC115細胞から由来した紡錘形の繊維芽細胞様細胞や円形の軟骨細胞様細胞で結合繊維蛋白OSN、OSP、MFPのmRNAが新たに発現していた。この結果は上皮細胞由来の腫瘍が結合組織細胞への分化経路を進み得るということを分子生物学的に示唆した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、マウスのアンドロゲン依存性乳癌がアンドロゲン除去後に未分化髄様癌細胞から紡錘形細胞を経て軟骨細胞様の円形細胞へと変化する過程において、結合組織基質蛋白であるオステオネクチン、オステオポンチン、マトリックスグラブロチン、オステオカルシンの遺伝子が発現しているかどうかをノーザンプロットとin situハイブリダイゼーションにより解析したものである。

本来の髄様癌細胞ではいずれの蛋白も全く発現していなかったが、アンドロゲン非存在下でみられる紡錘形の線維芽細胞様細胞と円形の軟骨細胞様細胞でオステオカルシン以外の結合組織基質蛋白が新たに発現してきた。アンドロゲン除去により胎児骨の紡錘形細胞や軟骨細胞の場合と類似した遺伝子の発現が髄様癌細胞中でおこったものと考えられた。

この研究はマウス乳癌での形態変化において、通常の上皮細胞には認められない遺伝子が発現していることを示しており、上皮細胞由来の腫瘍が結合組織細胞への分化経路を進み得るということを分子生物学的に示したもので、学位に値する業績と考える。