Osaka University Knowledge Archive

Title	Estrogen Induces Epidermal Growth Factor Receptor and Its Ligands in Human Fallopian Tube : Involvement of EGF but not Transforming Growth Factor－α in Estrogen-Induced Tubal Cell Growth in Vitro
Author(s)	足立, 和繁
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39574
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 39 】

氏　　名	足立和繁（あだち かずしげ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　12099　号
学位授与年月日	平成7年10月4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	Estrogen Induces Epidermal Growth Factor Receptor and Its Ligands in Human Fallopian Tube : Involvement of EGF but not Transforming Growth Factor－α in Estrogen－Induced Tubal Cell Growth *in Vitro* （ヒト卵管における上皮成長因子（EGF）受容体とそのリガンドのエストロゲンによる誘導：ヒト卵管上皮細胞のエストロゲンによる増殖へのEGFの関与について）
論文審査委員	（主査） 教授　遠山　正彌 （副査） 教授　松沢　佑次　　教授　青笹　克之

論文内容の要旨

【目　的】

子宮内膜はエストロゲン（E）によって増殖するが，発生学的に同じ由来の卵管上皮でも線毛細胞と分泌細胞はEによりその活動性を増す。最近Eによる子宮内膜の増殖作用は，Eにより誘導される局所の上皮成長因子（EGF），transforming growth factor（TGF）－αと両者の共通の受容体であるEGF受容体によるオートクリン・パラクリン機構によって媒介されることがマウスで明らかとなった。

我々はヒト卵管上皮でEGFとTGFαの発現がみられ，これらは血中エストラジオール（E2）の上昇と関連して増加すること，さらにこれらが初期胚の発育を促進する重要な因子であることを明らかにしてきた。今回はヒト卵管のEGF，TGFαとEGF受容体の発現をE2が直接的に促進するのか否かを in vivo 及び in vitro で検討した。更に，E2によるヒト卵管上皮細胞の増殖にこの局所のオートクリン機構が関与するのか否かについても検討した。

【方法ならびに成績】

6例の閉経後女性から，患者の承諾のもとに婦人科手術の際に卵管を採取した。うち3例は術前に1.25mg／dayの結合型エストロゲンを1週間投与した。EGF，TGFα，EGF受容体mRNA量を定量するため，それぞれの mutant cDNAを作成し，competitive PCR法を確立した。採取した卵管からRNAを抽出し，competitive PCRを用いてEGF，TGFα，EGF受容体のmRNA量を定量し，それぞれエストロゲン投与群と非投与群との間で比較した。また卵管上皮細胞の初代培養を行ない，10％FCSを含むDMEM培養液下で24時間培養しplatingを確認後，1％FCSを含むDMEM培養液とし，10^{-8}MのE2投与群と非投与群とに分けて，更に24時間の培養後RNAを抽出した。両群のRNAでcompetitive PCR法を用いてEGF，TGFα，EGF受容体のmRNA量を定量した。次に培養した卵管上皮細胞への^{3}H－thymidineの取り込みがE2により濃度と時間依存的に促進されることを確認したのち，この促進効果へのEGFあるいはTGFαの関与を検討した。細胞のplatingを確認したのち1％FCS存在下で10^{-8}MのE2とともに，抗EGF,抗TGFαまたは抗EGF受容体中和抗体を加え，24時間の培養後^{3}H－thymidineの取り込み実験を行った。さらにこの抗体実験ではEGFとTGFαによる回復実験も行った。

Competitive PCRを用いて卵管のEGF, TGF α, EGF受容体mRNA量を定量したところ, in vivo 及び in vitro いずれにおいてもこれらのmRNA量はエストロゲン投与群で非投与群に比べて有意に増加した。卵管上皮細胞の初代培養系において, 細胞への^{3}H－thymidineの取り込みは10^{-9}M以上のE2により有意に増加した。このE2による卵管上皮細胞の増殖促進効果は0.5, 1.0, 5.0 μg／mlの抗EGF及び抗EGF受容体抗体の添加により有意に抑制されたが, 抗TGF α抗体では5 μg／mlでも抑制されなかった。しかも, この抗EGF抗体による抑制は10^{-8}MのEGFにより有意に回復した。しかしながら, この抑制はTGF αでは10^{-6}Mでも回復しなかった。またE2による増殖促進効果はtyrosine kinase inhibitior によっても有意に抑制された。

【総　括】

1. ヒト卵管においてエストロゲンはEGF, TGF α, EGF受容体の発現を in vivo 及び in vitro で直接的に促進する。
2. エストロゲンによるヒト卵管上皮細胞の増殖はTGF αでなくEGF／EGF受容体オートクリン機構によって媒介されることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文はヒト卵管においてエストロゲンがEGF, TGF α, EGF受容体の発現をmRNAレベルで誘導し, さらに同じEGF受容体に結合するEGF, TGF αのうち, EGFが主にエストロゲンの卵管上皮細胞の増殖作用をmediateすることを明らかにしたものである。

Competitive RT－PCR法を用いて, EGF, TGF α, EGF受容体のmRNA量がエストロゲン投与群が対照群と比べ有意に増加していることを *in vivo* 及び *in vitro* で定量的に明らかにした。また, 卵管上皮細胞の初代培養系を用いて, 卵管上皮の増殖がエストロゲンによって促進されることを^{3}H－thymidineのuptake実験で確認した。さらに, このエストロゲンの増殖作用にEGFあるいはTGF αが関与するのか否かをそれぞれの抗体を用いた抑制実験を行って検討し, EGFがこの増殖に主に関与し, TGF αの関与が少ないことを明らかにした。次いで抗EGF抗体による抑制がEGFで回復することを確認した。

EGFとTGF αは同じEGF受容体に結合して, 同一のシグナル伝達を行うと考えられており, 多くの場合 biological な作用も類似していて, 本論文の如く biological activity に相違の見られる例は他にラットの骨吸収, ハムスターのangiogenesisでの報告があるにすぎない。本論文はEGFとTGF αという同一の受容体に結合する2つのリガンドの存在意義を解明していくうえで, 重要な意義をもつものと考えられ, 学位の授与に値すると考えられる。