

Title	Effects of epidermal growth factor on the invasion activity of the bladder cancer cell line
Author(s)	菅野, 展史
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40695">https://hdl.handle.net/11094/40695</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	菅野展史
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13758 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Effects of epidermal growth factor on the invasion activity of the bladder cancer cell line (膀胱癌細胞株の浸潤能に対する上皮成長因子の影響)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦  (副査) 教授 西宗 義武 教授 青笹 克之

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

上皮成長因子 (EGF) は様々な細胞の増殖あるいは分化に関わるポリペプチドである。近年、泌尿器科領域において、EGF が膀胱癌の増殖を促進すること、EGF が尿中に多量に排泄されていること、EGF レセプターを強く発現する膀胱癌は予後が悪いことなどが報告されており、EGF が膀胱癌の進展に強く関わっていることが示唆されている。一方、サイトケラチン 8, 18, 19 (CK8, CK18, CK19) 単層上皮および移行上皮に特異的発現を示し、細胞の形態を維持する細胞骨格である。様々な癌で CK19 の発現が減少していること、CK8, CK18 を強制発現させると細胞の形態が変化したり浸潤能が上昇することが報告されており、サイトケラチンの発現変化が癌の浸潤に関与することが示唆されている。しかしながら、現在まで、EGF による膀胱癌の浸潤能、転移能への影響やサイトケラチンの発現変化についての知見は少ない。本研究は、EGF がこれらの点につきどのように関与するのかを知ることを目的としている。

#### 【方法ならびに成績】

膀胱癌細胞株 KU-1 に EGF (0-100ng/ml) を添加し培養したところ、細胞は EGF の濃度依存的に細胞形態および増殖様式を変化させた。次に、KU-1 細胞の形態変化が、サイトケラチンの発現変化を伴うか否かを知るため、CK8, CK18, CK19 の発現量の変化をノーザンブロットおよびウェスタンブロットにて評価した。CK8, CK18 の発現量は EGF 添加によっても変化を認めないが、CK19 はメッセンジャー RNA レベルにおいても蛋白レベルにおいても著しい減少を示した。次に EGF が KU-1 細胞の腫瘍性に影響を与えるかどうか知るため、EGF (25ng/ml) 添加軟寒天培地にて KU-1 細胞を培養した。KU-1 細胞は EGF 無添加では、軟寒天培地上でほとんどコロニーを形成しないが、EGF 添加により速やかにコロニーを形成した。更に、EGF が膀胱癌の浸潤能に影響を与えるかどうか知るため、KU-1 細胞を細胞外基質で構成されるマトリゲルチャンバー上で培養した。EGF (25ng/ml) を添加することにより、48 時間内にチャンバーを貫通する KU-1 細胞数は、約 3 倍となった。細胞外基質および基底膜を変性し癌細胞の浸潤に大きく関与すると考えられるマトリックスメタプロテアーゼ 1 および 9 (MMP1, MMP9) の EGF による発現制御を見るため以下の実験を行った。すなわち、MMP1 および MMP9 のプロモータ領域をクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ遺伝子に繋いだレポーター遺伝子を用い、EGF (25ng/ml) を添加することでこれらの遺伝

子に誘導がかかるか否か、レポーター解析を行った。EGF添加によりMMP1およびMMP9の転写活性はそれぞれ約3.11倍、4.16倍となり、EGFが転写レベルでMMP1およびMMP9を誘導することが明らかになった。

#### 【総括】

本研究では、以下の点を明らかにした。

- 1) EGFがCK19の発現の減少を伴って膀胱癌細胞の細胞形態を変化させること。
- 2) EGFが膀胱癌細胞のコロニー形成能や浸潤能を高めること。
- 3) EGFが、膀胱癌細胞におけるMMP1およびMMP9の転写を活性化すること。

以上より、EGFは膀胱癌細胞に対して細胞骨格蛋白の構成変化とMMP1やMMP9のような細胞外基質分解酵素の転写促進の両経路からその浸潤能を促進させることが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

EGF（上皮成長因子）が、尿中に多量に排泄されること、尿路上皮癌の増殖を促進すること、EGFレセプターを強く発現する尿路上皮癌症例では、予後が悪いことが示唆されている。本論文では、尿路上皮癌である膀胱癌細胞株において、EGFがコロニー形成能や浸潤能を高めること、サイトケラチン19の発現減少を伴い細胞の形態を変化させること、マトリックスメタロプロテアーゼ1および9の複写を活性化することを明らかにしている。尿路上皮癌において、EGFがその浸潤能を高めることは、未だ報告はなく、また浸潤能の獲得のメカニズムとして細胞骨格を担うサイトケラチンの構成の変化や細胞外基質分解酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ1および9の転写の活性化が関与する可能性を示したことは独創的であり興味深く、学位論文に値すると考えられる。