



| | |
|--------------|--|
| Title | Induction of Hepatocyte Growth Factor in Fibroblasts by Tumor-derived Factors Affects Invasive Growth of Tumor Cells : In Vitro Analysis of Tumor-Stromal Interactions |
| Author(s) | 中村, 孝夫 |
| Citation | 大阪大学, 1998, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/40697 |
| 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。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | |
|---------------|--|
| 氏 名 | なかむら たかお |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 13757 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 | Induction of Hepatocyte Growth Factor in Fibroblasts by Tumor-derived Factors Affects Invasive Growth of Tumor Cells: <i>In Vitro</i> Analysis of Tumor-Stromal Interactions (HGF-HGF誘導因子ループ機構は癌の悪性化に関与する癌-宿主間質相互作用の分子機構の一つである) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 田野 保雄 |
| | (副査) 教 授 中村 敏一 教 授 門田 守人 |

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

癌細胞の増殖、浸潤・転移能といった悪性形質が癌細胞とそれをとり囲む宿主間質との相互作用により賦与されることが癌-間質相互作用 (Tumor-stromal interaction)として知られている。HGF は上皮-間葉相互作用のメディエーターとして器官形成・器官再生を担っており、間質に由来する因子として増殖促進、形態形成誘導活性、血管新生活性などに加えとりわけ細胞の運動性を高める活性を有することから、HGF は癌に於いては癌-間質相互作用のメディエーターとしてその増殖能ならびに浸潤・転移能などの癌悪性化に関与している可能性が考えられた。本研究はヒト上皮系癌細胞を用いて癌-間質相互作用による癌悪性化の分子機構を HGF と HGF 発現誘導因子を中心に解明することを目的とした。

【方法ならびに成績】

ヒト上皮系癌細胞 A431 (類上皮癌), A549 (肺腺癌), HuCC-T1 (胆管細胞癌), SBC-3(肺小細胞癌) の培養上清をヒト皮膚線維芽細胞の培養系に添加すると線維芽細胞の HGF 産生は著しく促進され、これら癌細胞は何らかの HGF 誘導因子を産生・分泌していた。抗体やアンタゴニストを用いた中和実験からこれら癌細胞由来の HGF 誘導因子は IL-1, bFGF ならびに PDGF であることを明らかにした。一方、これら癌細胞は c-Met/HGF レセプターを発現しており HGF の標的細胞と考えられたが、実際に HGF は *In vitro* で癌細胞の増殖、遊走を促進するとともに基底膜浸潤モデルにおいてもこれら癌細胞の浸潤を強く促進した。さらに、これら癌細胞と間質細胞の相互作用を反映する癌細胞と線維芽細胞の Coculture の系において、癌細胞の浸潤は線維芽細胞由来の液性因子によって強く誘導促進され、しかも Coculture 系での浸潤は抗 HGF 抗体によってほぼ完全に抑制され、同様に HGF 誘導因子に対する抗体またはアンタゴニストによって阻害された。また、線維芽細胞の HGF 産生は癌細胞との Coculture により強く促進され、Coculture 系での HGF レベルは癌細胞の浸潤能とよく相関した。すなわち、癌細胞由来 HGF 誘導因子により線維芽細胞での HGF 産生が高まり、線維芽細胞由来 HGF は癌細胞の浸潤を促進したものと考えられる。

【総括】

癌-間質相互作用は多くの癌 (Carcinoma)の悪性化に関与する細胞間相互作用として古くから知られていたが、

その分子機構はほとんど不明であった。その分子機構の解明は癌の浸潤・転移阻止を目指す新しい制癌戦略の上からも、近年特に注目されている。

今回、癌細胞由来の IL-1, bFGF ならびに PDGF などの HGF 誘導因子は間質細胞の HGF 産生を顕著に高める一方、間質に由来する HGF は癌細胞の浸潤・転移といった癌細胞の悪性化に関与することを初めて明らかにした。すなわち、HGF-HGF 誘導因子ループ機構こそ長らく不明であった癌の悪性化に関与する癌-宿主間質相互作用の分子機構の一つであり、HGF-HGF 誘導因子ループを断ち切ることは癌の浸潤・転移阻止を可能にする新しい制癌法の確立につながるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

癌-間質相互作用は多くの癌の悪性化に関与する細胞間相互作用として古くから知られていたが、その分子機構はほとんど不明であった。この分子機構の解明は癌の浸潤・転移阻止を目指す新しい制癌戦略の上からも、近年特に注目されている。

本研究はヒト上皮系癌細胞を用いて癌-間質相互作用による癌悪性化の分子機構を HGF と HGF 誘導因子を中心に解明することを目的としたものである。その結果、癌由来の IL-1, bFGF ならびに PDGF などの HGF 誘導因子が間質の HGF 産生を顕著に高める一方、間質に由来する HGF は癌の浸潤・転移といった癌の悪性化に関与することを初めて明らかにした。すなわち、癌細胞が IL-1, bFGF ならびに PDGF などの HGF 誘導因子を分泌し間質の HGF 産生を著しく誘導促進することを ELISA 法により、さらに間質の HGF 誘導促進は転写レベルでの誘導促進であることをノザン解析より明らかにした。またこれら癌細胞は高親和性 c-Met/HGF レセプターを発現する HGF の標的細胞であることをウエスタンプロットやクロラミン-T 法を用いた Scatchard 解析より明らかにした。さらに、間質由来の HGF の癌細胞に対する活性を調べたところ、HGF はこれら癌細胞の細胞増殖や分散活性ならびに浸潤を促す Invasion factor として機能することも明らかになった。すなわち、これら癌細胞は HGF の標的細胞であり、HGF と HGF 誘導因子は癌と宿主間質の間でこのようなループを形成し、癌の増殖や浸潤を促進することが考えられた。そこで、この癌と間質の相互作用を反映する *In vitro* のモデルとして、癌細胞と線維芽細胞を Matrigel invasion chamber を用いて Coculture し、癌細胞の浸潤に対する影響を調べた結果、癌細胞を単独に培養した時に比べ Coculture 系での浸潤は著しく誘導促進され、しかも Coculture 系での HGF レベルは癌細胞の浸潤能とよく相関していること、さらに Coculture 系での浸潤は抗 HGF 抗体ならびに HGF 誘導因子の抗体やアンタゴニストによりほぼ完全に阻害されることも明らかになった。

すなわち、これら HGF-HGF 誘導因子ループ機構を解明した本研究は、長らく不明であった癌の悪性化に関与する癌-宿主間質相互作用の分子機構を解明し、癌の浸潤・転移阻止を目指す新しい治療法を確立していく上で重要な足掛かりとなるものである。このように HGF-HGF 誘導因子ループ機構を解明した成果は高く評価され、本論文は学位論文に値する。