Osaka University Knowledge Archive

Title	Prostaglandin production in mouse mammary tumour cells confers invasive growth potential by inducing hepatocyte growth factor in stromal fibroblasts
Author(s)	谷浦, 直子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/42725
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【46】

氏　　名	谷浦直子（たにうら なおこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　15653　号
学位授与年月日	平成12年6月30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	Prostaglandin production in mouse mammary tumour cells confers invasive growth potential by inducing hepatocyte growth factor in stromal fibroblasts （マウス乳癌細胞由来プロスタグランジンによる間質HGF産生誘導を介した乳癌悪性化機構の解明）
論文審査委員	（主査） 教　授　中村　敏一 （副査） 教　授　高井　義美　　教　授　谷口　直之

論文内容の要旨

【目的】

癌細胞の浸潤・転移能といった悪性度は癌-宿主間質相互作用によって大きく影響されるが、その分子機構については不明な点が多い。私達はhepatocyte growth factor（HGF）を肝細胞に対する増殖因子として発見・単離・クローニングしたが、HGFは細胞の増殖促進活性に加え細胞の遊走促進活性や血管新生促進活性を有し、癌の浸潤・転移といった悪性化に関与することが示唆された。そこで、これまで癌－間質相互作用をHGFを中心に解析した結果、多くの癌細胞がIL-1, bFGF, TGF-α, PDGFをHGF誘導因子として産生・分泌し宿主間質のHGF産生を高める一方、間質由来のHGFが様々な癌細胞の浸潤能を強力に高める宿主由来の因子であることを明らかにした。すなわち、HGF誘導因子-HGFループからなる癌細胞と間質細胞の相互作用が、癌－間質相互作用の分子機構の一つであると考えられる。一方、今回各種癌細胞由来のHGF誘導因子の実体を明らかにする過程で、マウス乳癌細胞株（MMT細胞）が上記因子とは異なるHGF誘導因子を産生・分泌することを見い出した。本研究はマウス乳癌細胞由来HGF誘導因子の実体を明らかにするとともに、乳癌の浸潤性増殖（悪性化）におけるHGF誘導因子－HGFループを介した癌－間質相互作用の意義を明らかにすることを目的とした。

【方法ならびに成績】

ヒト皮膚ならびに乳腺由来線維芽細胞の培養系にMMT乳癌細胞の培養上清を加えると、線維芽細胞のHGF産生は用量依存的に増加し、MMT細胞は何らかのHGF誘導因子を産生・分泌していることがわかった。一方、MMT細胞由来HGF誘導活性はIL-1アンタゴニスト、抗bFGF抗体、抗EGFレセプター抗体、抗PDGF抗体のいずれでも中和されないことから本因子はIL-1, bFGF, TGF-α, PDGFとは異なることが明らかになった。そこで、MMT細胞の培養上清からHGF誘導因子をSephadex G-25カラムを用いた分子篩クロマトグラフィーならびにC_{18}逆相クロマトグラフィーで分離した。逆相クロマトグラフィー後のHGF誘導因子の活性ならびに溶出ピークは同条件でのプロスタグランジン（PG）E_2のピークと完全に一致した。更に、PG合成阻害剤であるインドメタシンはMMT細胞のHGF誘導活性ならびにPGE_2の産生・分泌をほぼ完全に阻害したことから、MMT細胞由来HGF誘導因子はPGE_2であることが明らかになった。次に、MMT細胞がHGF誘導因子としてPGE_2を分泌するという結果に基づきMMT細胞に対するHGFの生物活性を調べたところ、HGFはMMT細胞の増殖を促進するとともに基底膜細胞外基質を介した浸潤を強力に促進した。またHGFは、癌の浸潤に関与するプラスミノーゲンアクチベーター

を濃度依存的に活性化した。以上の結果は、MMT 細胞由来の PGE_2 ならびに間質線維芽細胞由来の HGF をメディエーターとする MMT 乳癌細胞と間質線維芽細胞との相互作用が MMT 細胞の悪性化をもたらすことを示唆している。そこで、基底膜細胞外基質をコートしたフィルターをはさんで MMT 細胞と線維芽細胞を共培養し、これを癌－間質相互作用を反映する *in vitro* の培養系とした。線維芽細胞単独での HGF 産生は 0.4ng/ml であったが、MMT 細胞との共培養により HGF レベルは約 3 倍に増加し、これと一致して、MMT 細胞の浸潤能は MMT 細胞単独に比べ共培養により3.9倍に増加した。この共培養系での HGF レベルの増加ならびに MMT 細胞の浸潤はインドメタシンにより強く阻害され、また HGF に対する中和抗体によってもほぼ完全に抑制された。

【総括】

MMT 細胞は自らは HGF を産生・分泌しないが、PGE_2 を分泌して、間質線維芽細胞の HGF 産生を促進する一方、間質由来の HGF は MMT マウス乳癌細胞の増殖、浸潤能を高めていることが明らかになった。これまで各種ヒト乳癌細胞が PGE_2 を産生・分泌することや、乳癌組織で PGE_2 レベルが高まっていることなどが報告されているが、その意義はほとんど不明であった。本研究は乳癌細胞における PG 産生は宿主間質における HGF 産生を誘導し乳癌の悪性化に関与することを示唆している。実際に乳癌組織での HGF レベルは乳癌の悪性度とよく一致することも報告されている。以上、本研究は乳癌細胞由来 PG ならびに間質線維芽細胞由来 HGF をメディエーターとするループ機構が癌－間質相互作用を介した乳癌悪性化の分子機構のひとつであることを示すものであり、これに基づき PG-HGF ループを阻害する、非ステロイド系抗炎症剤（NSAIDs）に代表される PG 合成阻害剤あるいは HGF アンタゴニストは有効な乳癌治療薬となることが予想される。

論文審査の結果の要旨

癌遺伝子や癌抑制遺伝子に生じる複数の変異が発癌に至る遺伝的背景であることが確立される一方、癌の浸潤・転移といった癌特有の悪性形質は、癌細胞とそれをとり囲む宿主間質細胞とその相互作用によって付与されることが癌－間質相互作用として古くから知られていたが、癌－間質相互作用の分子機構は最近まで不明であった。学位申請者の主論文において、乳癌細胞が間質線維芽細胞に対して HGF（hepatocyte growth factor）の発現を誘導する液性因子を分泌し、本因子がプロスタグランジン E_2（PGE_2）であることを解明するとともに、間質線維芽細胞に由来する HGF が乳癌細胞の増殖・浸潤を高め、乳癌の悪性化に関与することを明らかにした。すなわち、乳癌細胞と間質線維芽細胞の間には、PGE_2（HGF 誘導因子）-HGF をメディエーターとするループ機構が存在し、このループ機構が乳癌の悪性化に関与する癌－間質相互作用の分子機構であることを解明したものである。本研究は学位申請者によって初めてなされた研究であり、オリジナリティーの高い研究成果であるとともに、本研究から PGE_2（HGF 誘導因子）-HGF ループを断ち切ることが乳癌の悪性化阻止につながる制癌戦略であることが示唆された。

また、申請者は主論文ならびに副論文に加え、すでに多数の論文を国際誌に報告している（共著論文を含め計 7 編、総説 1 編、その中で第 1 著者の論文が 4 編）。これらは客観的にも申請者が医学博士の学位を取得するにふさわしい十分な業績である。以上の理由により谷浦直子氏の論文は博士（医学）の学位授与に値するものである。