

(18)

氏名(生年月日)	西岡眞理子
本籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第1746号
学位授与の日付	平成9年4月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	<b>Effects of transforming growth factor <math>\alpha</math> (TGF-<math>\alpha</math>) on DNA synthesis and thyrotropin-induced iodine metabolism in cultured porcine thyroid cells</b> (培養ブタ甲状腺細胞における DNA 合成と, TSH 依存性ヨード代謝に対する TGF- $\alpha$ の効果)
論文審査委員	(主査) 教授 出村 博 (副査) 教授 高桑 雄一, 村木 篁

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

Transforming growth factor (TGF)- $\alpha$  は epidermal growth factor (EGF) と類似した構造をもつ成長因子である。TGF- $\alpha$  は当初腫瘍細胞に特異的に発現することが考えられたが、その後正常細胞にも発現し、細胞増殖におけるオートクリン、パラクリン因子として作用することが報告された。しかし甲状腺細胞における存在や作用については報告はない。そこで培養ブタ甲状腺細胞を用いて、甲状腺細胞の増殖と TSH によるヨード代謝に対する TGF- $\alpha$  の作用、および甲状腺細胞における TGF- $\alpha$  発現の有無を明らかにする目的で以下の検討をおこなった。

#### 〔材料および方法〕

甲状腺組織をディスペーゼで処理して得られたブタ甲状腺細胞を5%胎児ウシ血清を含む F-12 培地で培養した。培地にヒト TGF- $\alpha$  あるいはマウス EGF を加え、DNA 合成を [ $^3$ H] サイミジンの取りこみにより測定した。甲状腺細胞の TGF- $\alpha$  受容体解析には  $^{125}$ I-TGF- $\alpha$  を用いるラジオリセプターアッセイを用いた。ヨード取り込みは TSH と共に72時間培養した細胞の Na [ $^{125}$ I] 取り込みを指標に測定した。甲状腺細胞の TGF- $\alpha$  mRNA 発現はノーザンブロットで検討した。

#### 〔結果〕

ヒト TGF- $\alpha$ 、マウス EGF は共にブタ甲状腺細胞の DNA 合成および細胞増殖を濃度依存性に促進した。また  $^{125}$ I-TGF- $\alpha$  を用いた結合実験により甲状腺細胞に TGF- $\alpha$ /EGF 受容体の存在が確認された。また

TGF- $\alpha$  あるいは EGF の存在下で72時間培養した細胞においては TSH によるヨード取り込みは濃度依存性に抑制された。しかし TGF- $\alpha$  処理した細胞における TSH による cAMP 産生量は対照細胞と差はなかった。更に TGF- $\alpha$  はフォルスコリンや8-bromo cAMP によるヨード取り込みも抑制した。甲状腺細胞の培養上清には RRA により TGF- $\alpha$ /EGF 様活性が検出され、またノーザンブロットでヒト、ブタ甲状腺細胞に4.8kb の TGF- $\alpha$  mRNA 発現が認められた。

#### 〔考察〕

TGF- $\alpha$  は EGF と同様に甲状腺細胞に対して強い増殖作用を示し、また TSH によるヨード取り込みに抑制的に作用した。RRA における TGF- $\alpha$ 、EGF の力価と上記の作用における力価は相関しており、両者とも共通の受容体を介して作用を発現すると思われる。TSH は cAMP を介してヨード代謝を促進するが、TGF- $\alpha$  は cAMP 産生には影響を与えず、その作用部位は cAMP 産生以降と考えられる。甲状腺細胞には TGF- $\alpha$  mRNA が発現しており甲状腺細胞自体も TGF- $\alpha$  を産生することが示唆される。

#### 〔結論〕

1. TGF- $\alpha$  は甲状腺細胞に対して強力な増殖促進因子であり、また TSH によるヨード代謝促進を抑制する。その作用は EGF 受容体を介して発現する。
2. TGF- $\alpha$  は cAMP 産生以降のステップでヨード代謝を抑制する。
3. 甲状腺細胞には TGF- $\alpha$  mRNA が発現し、TGF- $\alpha$  はオートクリン/パラリン因子として甲状腺細胞増

殖や機能を修飾する可能性が示唆される。

## 論文審査の要旨

甲状腺機能の主要な制御因子は下垂体 TSH である。しかし多数のサイトカインや成長因子が甲状腺細胞の増殖や機能を修飾することが明らかになりつつある。transforming growth factor (TGF)- $\alpha$  は強力な成長促進因子であるが甲状腺における役割については不明な点が多かった。今回の研究で、TGF- $\alpha$  が epidermal growth factor (EGF) 受容体を介して甲状腺細胞増殖を促進すること、また TSH によるヨード代謝を TGF- $\alpha$  が強く抑制すること、この抑制作用は TSH のサイクリック AMP 産生抑制によるものではなく、それ以降の部位を抑制することが明らかとなった。更に重要なことは、甲状腺細胞に TGF- $\alpha$  mRNA が発現していること、また実際に TGF- $\alpha$  が分泌されることが示唆された。これらの研究成果は TGF- $\alpha$  がパラクリン、オートクリン因子の一つとして甲状腺細胞の増殖や機能を修飾し得ることを初めて明らかにしたものであり、学術的価値が高い研究と評価される。

### 主論文公表誌

Effects of transforming growth factor  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) on DNA synthesis and thyrotropin-induced iodine metabolism in cultured porcine thyroid cells (培養ブタ甲状腺細胞における DNA 合成と、TSH 依存性ヨード代謝に対する TGF- $\alpha$  の効果) European Journal of Endocrinology Vol 132 No 2 242-248頁 (1995年2月発行) 新井眞理子, 對馬敏夫, 磯崎 収, 出村 博, 鎮目和夫, 江本直也, 宮川めぐみ, 野添康子, 村上ひとみ, 大村栄治

### 副論文公表誌

- 1) Effect of retinoids on iodine metabolism, thyroid peroxidase gene expression, and deoxyribonucleic acid synthesis in porcine thyroid cell in culture (培養ブタ甲状腺細胞におけるヨード代謝と甲状腺ペルオキシダーゼ遺伝子発現または DNA 合成に対するレチノイドの効果). Endocrinology 129(6): 2827-2833 (1991) 新井眞理子, 對馬敏夫, 磯崎 収, 鎮目和夫, 江本直也, 出村 博, 宮川めぐみ, 小野田教高
- 2) Biological activities of human growth hormone and its derivatives estimated by measuring DNA synthesis in Nb2 node rat lymphoma cells (Nb2細胞の DNA 合成に及ぼすヒト成長ホルモンとその誘導体の生物活性). Acta Endocrinol (Copenh) 114: 283-291 (1987) 江本直也, 對馬敏夫, 鎮目和夫, 田中敏章, 佐治元康, 大庭義人, 若井加恵, 新井眞理子, 大村栄治
- 3) Interaction of insulin-like growth factor I with porcine thyroid cell culture in monolayer (単層培養ブタ甲状腺細胞に対するインスリン様成長因子-1 [IGF-I] の相互作用). Endocrinology 121(2): 749-756 (1987) 佐治元康, 對馬敏夫, 磯崎 収, 村上ひとみ, 大庭義人, 佐藤幹二, 新井眞理子, 鎮目和夫
- 4) Effect of transforming growth factor- $\beta$  on deoxyribonucleic acid synthesis and iodine metabolism in porcine thyroid cell culture (トランスフォーミンググロースファクター- $\beta$  [TGF- $\beta$ ] によるブタ甲状腺細胞における DNA 合成とヨード代謝に対する作用). Endocrinology 123(2): 1187-1194(1988) 對馬敏夫, 新井眞理子, 佐治元康, 大庭義人, 村上ひとみ, 大村栄治, 佐藤幹二, 鎮目和夫
- 5) Endothelin-1 stimulates c-fos mRNA expression and acts as a modulator on cell proliferation of rat FRTL thyroid cells (ラット FRTL 甲状腺細胞における c-fos mRNA 発現と細胞増殖に対するエンドセリン-1の作用). Biochem Biophys Res Commun 184(1): 231-238 (1992) 宮川めぐみ, 對馬敏夫, 磯崎 収, 出村 博, 鎮目和夫, 新井眞理子
- 6) Iodine regulation of endothelin-1 gene expression in cultured porcine thyroid cells: possible involvement in autoregulation of the thyroid (ヨードによる培養ブタ甲状腺細胞中のエンドセリン-1遺伝子発現調節: 甲状腺における自己調節の可能性). Thyroid 3(3): 239-244 (1993) 磯崎 収, 對馬敏夫, 宮川めぐみ, 江本直也, 出村 博, 佐藤康子, 鎮目和夫, 新井眞理子
- 7) Increased activity of insulin-like growth factor-binding protein in human thyroid papillary cancer tissue (ヒト甲状腺乳頭癌細胞における IGF-I 結合蛋白活性の増加). Jpn J Cancer Res 85(1): 46-52 (1994) 八代 享, 新井眞理子, 鎮目和夫, 小原孝男, 村上ひとみ, 肥塚直美, 江本直也, 宮川めぐみ, 伊藤国彦, 對馬敏夫
- 8) Interaction of endothelin-1 with porcine thyroid cells in culture: a possible autocrine factor regulation iodine metabolism (培養ブタ甲状腺細胞におけるエンドセリン-1の相互作用: ヨード代謝調節のオートクリン因子としての可能性). J Endocrinol 142: 463-470 (1994) 對馬敏夫, 新井眞理子, 磯崎 収, 野添康子, 鎮目和夫, 村上ひとみ, 江本直也, 宮川めぐみ, 出村 博