



甲状腺腫瘍細胞増殖における情報伝達機構の研究

(課題番号 01480295)

平成 1-3 年度科学研究費補助金 (一般研究B) 研究成果報告書

平成 4 年 2 月

研究代表者 對馬敏夫

(東京女子医科大学医学部内科)



目次

はしがき	p.1
研究組織、研究経費	p.2
研究発表	
(1) 学会誌等	p.3
(2) 口頭発表	p.5
研究概要	p.11
(1) ヒト甲状腺腫瘍におけるIGF-I受容体に関する研究	
(2) インターロイキン1の甲状腺細胞機能に対する効果	
(3) 甲状腺細胞と機能に対するリチウムの効果	
(4) 甲状腺組織に存在するFGFについての研究	
(5) サイログロブリン合成とその遺伝子発現に対するメルカゾール	
(6) 甲状腺腫瘍組織におけるIGF-II受容体の研究	
(7) 甲状腺細胞の増殖と機能に対するレチノイドの作用	
(8) その他の研究	
論文別冊	p.14

[はしがき]

バセドウ病、橋本病など甲状腺疾患の多くは甲状腺組織の肥大、すなわち甲状腺腫が認められる。甲状腺腫の原因としては甲状腺組織へのリンパ球の浸潤、線維芽細胞の増殖、血管新生、コロイドの増加、血液の貯留、アミロイド沈着などが考えられるが最も重要なものは甲状腺上皮細胞自体の増殖である。甲状腺細胞の増殖促進機構についてはなお不明な点が少ない。臨床的あるいはインビボにおける動物実験では下垂体 TSH が甲状腺腫大の大きな要素であることは疑いがない。しかしながら培養甲状腺細胞を用いた検討では TSH の増殖作用は一部の系以外には証明されない。従ってインビボでは TSH に連結した他の因子、あるいは TSH と共に働く因子の存在が示唆された。実際に上皮成長因子である epidermal growth factor (EGF) が甲状腺細胞に対して強力な増殖因子であることが既に報告されており、また我々もインスリン様成長因子 (insulin-like growth factor) が同様に増殖促進因子であること、一方 transforming growth factor (TGF)- β が増殖抑制因子であることを見出した。そこで我々は各種の成長因子、ホルモンその他の因子につき甲状腺細胞の増殖やその機能に対する作用を系統的に検討することを計画し、文部省科学研究費の援助によりこの研究をおこなった。今回の研究では主として培養ブタ甲状腺細胞を用い、この増殖とヨード代謝に対する FGF, 抗甲状腺剤、レチノイド、サイトカインなどの作用について検討した。また臨床的には甲状腺腫瘍細胞の増殖機構の解明も重要な課題である。この点に関しては手術時に得られたヒト甲状腺腫瘍組織を用い、成長因子受容体の発現や成長因子の遺伝子について検討を行なった。これらの研究の結果、予想以上に多数の因子が甲状腺細胞の増殖や機能に影響を与えることが判明した。これらの観察結果の生理的意義についてはなお研究が必要であるが、甲状腺細胞の増殖機構に関する多くの手掛りを与えるものと考えられる。

[研究組織]

研究代表者：	對馬敏夫	東京女子医大内科 2 教授
研究分担者：	大村栄治	東京女子医大内科 2 助手
研究分担者：	磯崎 収夫	東京女子医大内科 2 助手
研究分担者：	江本直也	東京女子医大内科 2 助手

[研究経費]

平成	1 年度	3400 千円
	2 年度	1800 千円
	3 年度	1500 千円
計		6700 千円

[研究発表]

(1) 学会誌等

1. Yashiro T, Ohba Y, Murakami H, Obara T, Tsushima T, Fujimoto Y, Shizume K, Ito K: Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptors in primary human thyroid neoplasms. Acta Endocrinol. 121:112-120,1989
2. Fujii T, Sato K, Ozawa M, Kasono K, Imamura H, Kanaji Y, Tsushima T, Shizume K: Effect of interleukin 1 on thyroid hormone metabolism in mice: Stimulation by IL-1 of type I iodothyronine-5'-deiodinase in the liver. Endocrinology 124:2172-2180, 1989
3. Tsuchiya Y, Saji M, Isozaki O, Arai M, Tsushima T, Shizume K: Effect of lithium on deoxyribonucleic acid synthesis and iodine uptake in porcine thyroid in culture. Endocrinology 126:460-465, 1990
4. Sato K, Satoh T, Shizume K, Ozawa M, Han DC, Imamura H, Tsushima T, Demura H, Kanaji Y, Ito Y, Obara T, Fujimoto Y, Kanaji Y: Inhibition of ¹²⁵I-I organification and thyroid hormone release by interleukin-1, tumor necrosis factor- α and interferon- γ in human thyrocytes in suspension culture. J Clin Endocrinol Metab 70:1735-1746,1990
5. Emoto N, Isozaki O, Arai M, Murakami H, Shizume K, Baird A, Tsushima T, Demura H: Identification and characterization of basic fibroblast growth factor in porcine thyroids. Endocrinology 128:58-64, 1991
6. Yashiro T, Tsushima T, Murakami H, Obara T, Fujimoto Y, Shizume K, Ito K: Insulin-like growth factor (IGF)-II/mannose-6-phosphate receptors are increased in primary human thyroid neoplasms. Eur J Cancer 27:699-703, 1991
7. Emoto N, Ohmura E, Tsushima T, Isozaki O, Shizume K, Demura H: Phorbol ester, not growth hormone-releasing factor, consistently stimulates growth hormone release from somatotroph adenomas in culture. Clinical Endocrinol 34:377-382, 1991
8. Isozaki O, Tsushima T, Emoto N, Saji M, Tsuchiya, Demura H, Sato Y, Shizume K, Kimura S, Kohn LD: Methimazole regulation of thyroglobulin biosynthesis and gene transcription in rat FRTL-5 thyroid cells.

Endocrinology 128:3113-3121, 1991

9. Arai M, Tsushima T, Isozaki O, Shizume K, Emoto N, Demura H, Miyakawa M, Onoda N: Effects of retinoids on iodine metabolism, thyroid peroxidase gene expression, and deoxyribonucleic acid synthesis in porcine thyroid cells in culture. Endocrinology 129:2827-2833,1991

10. Emoto N, Isozaki O, Arai M, Murakami H, Shizume K, Tsushima T, Demurea H : An immunoneutralizing anti-basic FGF antibody potentiates the effect of bFGF in the growth of FRTL-5 thyroid cells. Ann NY Acad Sci in press.

(2) 口頭発表

[第6回甲状腺病態生理研究会]

1. 江本直也、新井真理子、磯崎 収、對馬敏夫
ブタ甲状腺における Angiogenic Factor の検討
抄録集 p7, 1989
2. 佐藤幹二、小沢 稔、對馬敏夫、出村 博、藤本吉秀、佐藤智子、
鎮目和夫、金地嘉夫
インターロイキン2のヒト甲状腺細胞における甲状腺ホルモン産生
抑制作用
抄録集：p 9, 1989

[第62回日本内分泌学会学術総会]

3. 小野田教高、大村栄治、岡田政喜、磯崎 収、大庭義人、神谷吉宣
對馬敏夫、鎮目和夫
ヒト甲状腺癌細胞株における IGF-I 様物質及び TGF- α の産生と
その増殖に及ぼす影響
日本内分泌学会雑誌 65:227,1989
4. 宮川めぐみ、土屋由美、新井真理子、佐治元康、對馬敏夫、鎮目和
夫
FRTL-5 細胞の増殖における Ca-Calmodulin 系の役割
日本内分泌学会雑誌 65:227,1989
5. 磯崎 収、土屋由美、對馬敏夫、鎮目和夫、L.D.Kohn, 木村芝生子
培養ラット甲状腺細胞 (FRTL-5) 甲状腺ペルオキシダーゼ(TPO)の
cDNA クローニング及びその調節機構
日本内分泌学会雑誌 65:306,1989
6. 土屋由美、佐治元康、新井真理子、磯崎 収、對馬敏夫、鎮目和夫
培養ブタ甲状腺のヨード取込及び DNA 合成に及ぼすリチウムの効
果
日本内分泌学会雑誌 65:309,1989

[第62回日本内分泌学会秋期学術大会]

7. 宮崎 康、佐藤文彦、成瀬光荣、對馬敏夫、川瀬典夫
血中抗 T3、T4 自己抗体により血中 T3、T4 が高値を示した原発

性甲状腺機能低下症の一例
日本内分泌学会誌 65:951,1989

[第32回日本内分泌学会甲状腺分科会]

8. 新井真理子、岡田政喜、宮川めぐみ、小野田教高、村上ひとみ、對馬敏夫
培養ブタ甲状腺の DNA 合成とヨード取込みに対するビタミン A の作用
日本内分泌学会誌 65:1078,1989
9. 磯崎 収、佐藤康子、新井真理子、増田明継、對馬敏夫、佐治元康、木村芝生子、L.D.Kohn
ヨード化合物を介する甲状腺細胞遺伝子発現調節機構：MMI によるTg mRNA の増加
日本内分泌学会誌 65:1070,1989

[第71回米国内分泌学会]

10. Isozaki O, Tsuchiya Y, Kohn LD, Kimura S: Thyroid peroxidase mRNA is positively regulated by a TSH-induced cAMP signal without increase in transcription and is negatively regulated by a cAMP independent pathway. Program and Abstracts of the Meeting: p117 (Abst 377), 1989
11. Tsuchiya Y, Saji M, Tsushima T, Isozaki O Effect of lithium on DNA synthesis and iodide uptake in porcine thyroid cells in culture. Program and Abstracts of the Meeting: p285 (Abst 1051), 1989

[第63回日本内分泌学会総会]

12. 江本直也、新井真理子、鎮目和夫、磯崎 収、對馬敏夫、出村 博
ブタ甲状腺における血管新生因子の検討
日本内分泌学会雑誌 66 (4):294, 1990
13. 磯崎 収、對馬敏夫、江本直也、佐藤康子、新井真理子、鎮目和夫、出村 博、Kohn LD
メチマゾール (MMI) の甲状腺細胞に対する直接作用
日本内分泌学会雑誌 66:295,1990
14. 八代 亨、村上ひとみ、對馬敏夫、鎮目和夫

日本内分泌学会雑誌 66:302,1990
ヒト甲状腺腫瘍におけるインスリン様成長因子 (IGFs) の研究

[第33回甲状腺分科会]

15. 小野田教高、江本直也、磯崎 収、佐藤康子、新井真理子、鎮目
和夫、對馬敏夫、出村 博
ヒト甲状腺乳頭癌 (TC cell) の増殖に対する basic FGF の役割
についての検討
日本内分泌学会雑誌 66:1049, 1990
16. 磯崎 収、江本直也、宮川めぐみ、對馬敏夫、出村 博、
佐藤康子、新井真理子、鎮目和夫
ラット甲状腺細胞 FRTL-5 における甲状腺特異遺伝子発現及び機能
に対する basic FGF の作用
日本内分泌学会雑誌 66:1037, 1990
17. 新井真理子、鎮目和夫、對馬敏夫、磯崎 収、小野田教高、村上ひ
とみ、出村 博
ブタ甲状腺細胞の IGF-II 受容体の性質と作用
日本内分泌学会雑誌 66:1045, 1990

[第63回日本内分泌学会秋季学術大会]

18. 宮川めぐみ、小野田教高、江藤美幸、對馬敏夫、新井真理子、鎮目
和夫、出村 博
無痛性甲状腺炎甲状腺炎とバセドウ病の鑑別点：超音波所見及び
TSH 受容体抗体との関連
日本内分泌学会雑誌 66(9):934, 1990

[第72回米国内分泌学会]

19. Emoto N, Arai M, Murakami H, Tsushima T Identification of basic
fibroblast growth factor (FGF) from adult porcine thyroid (# 732).
Program and Abstracts of the Meeting: p207 (Abst 732), 1990
20. Isozaki O, Tsushima T, Sato Y, Arai M, Kimura S, Saji M, Kohn L D Effects
of methimazole of thyroglobulin gene induction, DNA synthesis, and cyclic
AMP production in rat thyroid FRTL-5 cells (#1243).
Program and Abstracts of the Meeting: p 207 (Abst 1243), p207, 1990

[第64回日本内分泌学会総会]

21. 小野田教高、大村栄治、磯崎 収、佐藤康子、新井真理子、鎮目和夫、對馬敏夫、出村 博
ヒト甲状腺乳頭癌株細胞の増殖における TGF- α の役割についての検討
日本内分泌学会雑誌 67:353, 1991
22. 村上ひとみ、對馬敏夫、肥塚直美、新井真理子、鎮目和夫、佐藤憲生、坂野勝一、出村 博
IGF-II 誘導体 (第4報) : 甲状腺細胞におけるチロシンキナーゼ活性に対する作用の検討
日本内分泌学会雑誌 67:373, 1991
23. 磯崎 収、江本直也、對馬敏夫、出村 博、佐藤康子、新井真理子、鎮目和夫、Kohn LD
培養甲状腺細胞 FRTL-5におけるTSH 受容体、Tg, TPO 遺伝子発現に対する Basic FGF の影響
日本内分泌学会雑誌 67:411, 1991
24. 江本直也、村上ひとみ、新井真理子、鎮目和夫、磯崎 収、對馬敏夫、出村 博
FRTL-5 細胞における basic FGF のレセプターについての検討
日本内分泌学会雑誌 66:487, 1991

[第64回日本内分泌学会秋季学術大会]

25. 宮川めぐみ、對馬敏夫、磯崎 収、新井真理子、鎮目和夫、出村 博
FRTL-5 細胞の増殖に対する endothelin の作用
日本内分泌学会雑誌 67:908, 1991

[第34回内分泌学会甲状腺分科会]

27. 村上ひとみ、對馬敏夫、磯崎 収、小野田教高、出村 博、新井真理子、鎮目和夫、八代 亨、伊藤国彦
ヒト甲状腺癌の細胞質チロシンキナーゼ活性の増加
日本内分泌学会雑誌 67:1105, 1991
28. 江本直也、磯崎 収、對馬敏夫、出村 博、新井真理子、鎮目和夫

Basic FGF の甲状腺増殖作用に対するヘパリンの影響
日本内分泌学会雑誌 67:1120, 1991

29. 磯崎 収、對馬敏夫、江本直也、小野田教高、出村 博、佐藤康子
鎮目和夫、木村芝生子
自己免疫性甲状腺疾患における甲状腺自己抗体 (TPO,Tg,TSH-R) 遺
伝子の RFLPs 解析
日本内分泌学会雑誌 67:1109, 1991
30. 佐藤康子、新井真理子、鎮目和夫、磯崎 収、江本直也、小野田教
高、宮川めぐみ、對馬敏夫、出村 博
培養甲状腺細胞 FRTL-5 における Baci Fibroblast growth factor の 細
胞内情報伝達機構
日本内分泌学会雑誌 67:1110, 1991
31. 新井真理子、鎮目和夫、佐藤康子、對馬敏夫、宮川めぐみ、磯崎
収、小野田教高、出村 博
ブタ甲状腺細胞機能に対するエンドセリンの作用
日本内分泌学会雑誌 67:1111, 1991

[第18回日本内分泌学会神経内分科会]

32. シンポジウム 神経内分泌と免疫系の接点
對馬敏夫
T S H・甲状腺系に対するサイトジカインの作用
日本内分泌学会雑誌 67:1059, 1991

[第3回レチノイドシンポジウム]

33. 新井真理子、磯崎 収、佐藤康子、村上ひとみ、對馬敏夫
培養ブタ甲状腺細胞のヨード代謝に及ぼすレチノイドの作用につい
て
抄録集 p27,1991

[第73回米国内分泌学会]

34. Isozaki O, Emoto N, Arai M, Akamizu O, Tsushima T
Effect of basic FGF on TSH receptor, thyroglobulin and thyroid peroxidase
gene expression ad cell function in FRTL-5 thyroid cells.

Program and Abstracts of the Meeting: p128, 1991

35. Tsushima T, Arai M, Isozaki O, Sato Y, Murakami H, Onoda N
Effect of retinoids on functions of porcine thyroid cells in culture.
Program and Abstracts of the Meeting: p130, 1991

[第65回米国甲状腺学会]

36. Tsushima T, Murakami H, Isozaki O, Shizume K, Onoda N, Demura H, Ysshiro T
Enhanced cytosolic tyrosine kinase activity in human thyroid cancer tissue.
Thyroid 1 (suppl):S-67, 1991
37. Isozaki O, Arai M, Miyakawa M, Emoto N, Shizume K, Sato Y, Demura H, Tsushima T
Effects of endothelin on iodine metabolism and cell proliferation of thyroid cells.
Thyroid 1 (suppl):S-70, 1991

研究概要

(1) ヒト甲状腺腫瘍における IGF-I 受容体に関する研究

ヒト甲状腺乳頭癌組織と周囲の正常組織においてインスリン様成長因子 (IGF)-I 受容体を比較した。125I-IGF-I 結合実験によると腫瘍組織の膜分画単位あたりの IGF-I受容体数は正常組織に比して有意に高値を示した。その親和性には変化が認められなかった。この結果、及び甲状腺組織内には IGF-I mRNA の発現が認められることから IGF-Iは腫瘍増殖に関与することが示唆された (Acta Endocrinol. 121:112-120,1989)

(2) インターロイキン 1 の甲状腺細胞機能に対する効果

サイトカインの一つであるインターロイキン 1 (IL-1) をインビトロでマウスに投与すると血中甲状腺ホルモンの可逆的な低下と TSH に対する反応性の低下が認められた。ブタ甲状腺を用いたインビトロの系でも IL-1 は TSH によるヨード代謝を濃度依存性に抑制し、その作用部位は cAMP 以降と考えられた (Endocrinology 124:2172-2180,1989; 日本内分泌学会雑誌 67:1059, 1991)

(3) 甲状腺細胞と機能に対するリチウムの作用に関する研究

リチウムは精神疾患にしばしば用いられる薬剤であるが甲状腺腫や甲状腺機能異常をおこすことが知られている。そこで培養ブタ甲状腺細胞を用いてその作用を検討した。その結果リチウムは IGF-I, EGF による細胞増殖に促進的に作用し、またTSH によるヨード代謝に対しては抑制的に作用することが判明した。リチウムの作用は治療中の患者血中に見られる濃度でも十分に認められた。この研究でリチウムの直接作用を証明することが出来た (Endocrinology 126:460-465, 1990)

(4) 甲状腺組織に存在する FGF についての研究

甲状腺組織には種々の成長促進物質が存在する。我々は FGF が存在するか否か、また FGF は甲状腺細胞に対して如何なる作用を示すかを検討した。ブタ甲状腺細胞を抽出し、ヘパリンセファロースカラムで分画し、これをインムノブロットで検討したところ basic FGF の存在が確認されまた mRNA の発現も認められた。FGF培養細胞に対してはその増殖を促進し TSH の作用を抑制した。これらの結果より FGFも甲状腺細胞の増殖や機能を調節する局所因子であることが示唆された

(Endocrinology 128:58-64, 1991)

(5) サイログロブリン合成とその遺伝子発現に対するメルカゾールの作用

抗甲状腺剤であるメルカゾールはヨードの有機化抑制を介して甲状腺ホルモンの合成を抑制し、甲状腺機能亢進症の治療にひろく使用されているがインビトロでも細胞増殖の抑制など他の作用も知られている。われわれはラット FRTL-5 細胞ではメルカゾールでサイログロブリンの合成、mRNA 発現に対して促進的に作用するという予想外の所見を得た。プロピールサイオユラシルにはこの作用はなく、逆にメルカゾールの作用を抑制した。サイログロブリンの合成には何等かのヨード化蛋白が抑制的に関与しており、メルカゾールはこの作用を解除すると考えられる (Endo-crinology 128:3113-3121, 1991)

(6) 甲状腺腫瘍組織における IGF-II 受容体の研究

甲状腺細胞の増殖には IGF-I のみならず IGF-II も促進的に作用することから甲状腺腫瘍細胞増殖に関与することが予想された。そこでヒト甲状腺乳頭癌患者の腫瘍組織と周囲の正常組織の膜分画を作成し、単位蛋白あたりの ^{125}I -IGF-II 結合を検討した。この結果、腫瘍組織においては IGF-II 受容体濃度が正常組織に比して数倍高いことが判明した。affinity cross-linking 及び SDS-PAGE による解析では IGF-II 受容体は 230K の分子として泳動され、他の組織と同様であった。これらの結果から、IGF-II もヒト甲状腺細胞増殖に関与すると考えられた。(Eur J Cancer 27:699-703, 1991)

(7) 甲状腺細胞の増殖と機能に対するレチノイドの作用

ふるくからビタミン A やその誘導体などのレチノイドはインビボで血中の甲状腺ホルモンの低下や甲状腺腫を惹起することが知られていたがその作用機序の詳細は不明であった。そこで培養ブタ甲状腺細胞を用いてレチノイドの直接作用について検討した。この結果レチノイドは DNA 合成に対して促進的に作用するが、TSH によるヨード代謝に対しては生理的濃度で抑制することが判明した。レチノイドは主として cAMP 以降の部位に作用すると思われる (Endocrinology 129:2827-2833, 1991)

(8) その他の研究

その他に FRTL-5 細胞における FGF の作用や FGF 受容体の研究、ヒト甲

状腺乳頭癌細胞の増殖における IGF-I, TGF- α の関与すること、培養ブタ甲状腺細胞ではインターロイキンやエンドセリン、cAMPなど血管作動物質が培養甲状腺細胞のヨード代謝に影響を与えること、インターロイキン6もインターロイキン1と同様にヨード代謝に抑制的に作用すること、ヒト甲状腺細胞の細胞質にチロシンキナーゼ活性が存在し、乳頭癌組織では周囲の正常組織に比してその活性が高く、また細胞質中のチロシンキナーゼ含有蛋白質の含量も高いことを見いだしている。これらの結果は現在投稿中ないし投稿準備中である。