

(27)

氏名(生年月日)	スヶ 助	ガワ 川	イズミ 泉
本籍			
学位の種類	医学博士		
学位授与の番号	乙第953号		
学位授与の日付	昭和63年6月17日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)		
学位論文題目	Characterization of insulin-like growth factor I receptors on Madin-Darby canine kidney (MDCK) cell line (イヌ遠位尿細管由来の細胞株 (MDCK) に於ける Insulin-like growth factor I 受容体に関する研究)		
論文審査委員	(主査) 教授 鎮目 和夫 (副査) 教授 平田 幸正, 教授 橋本 葉子		

論文内容の要旨

目的

Insulin-like growth factor I (IGF-I) はインスリン様生物活性を有している。IGF-I の受容体もインスリン受容体と類似の構造を示し、種々の組織、細胞には両者の受容体が同時に存在していることが報告されている。一方、腎臓には IGF-I 受容体が多量に存在することが報告されている。そこで、遠位尿細管としての機能を有し、インスリン受容体が存在しないにも拘らずインスリン類似の物質にてインスリン様作用を示すことが認められているイヌ遠位尿細管由来の細胞株、MDCK (Madin-Darby canine kidney) 細胞を用いて、IGF-I 受容体及びその生物学的作用について検討した。

方法

MDCK 細胞は、10%FCS を含む D-MEM 培地で培養した。IGF-I 受容体の検討は、 ^{125}I -IGF-I との結合を指標とした。生物学的作用は 1%FCS を含む培地での細胞増殖及び ^3H -thymidine の取り込みを指標とした。 ^{125}I -IGF-I と細胞を crosslinking し SDS/PAGE 及びオートラジオグラフィにて分子量の解析をした。

結果及び考察

IGF-I は、1%FCS を含む培地内で MDCK 細胞の細胞増殖を濃度依存性に促進させ、100ng/ml の IGF-I 添加で細胞数は対照のおよそ1.6倍に増加した。又、

IGF-I, 1.0ng/ml の低濃度添加で ^3H -thymidine の取り込みは対照のおよび2.6倍に増加した。一方、インスリン添加に於いては、10 μg /ml の高濃度においてもこれらの生物学的作用は認められなかった。

^{125}I -IGF-I と MDCK 細胞との結合は、細胞数の増加とともに増加し(0.5~6.5 $\times 10^6$ cells/ml), その結合は温度、時間依存性であり最大の結合は、4 $^{\circ}\text{C}$ 、24時間(15%/6 $\times 10^6$ cells/ml)で認められた。 ^{125}I -IGF-I と細胞との結合は非標識 IGF-I により濃度依存性に抑制され、その結合の Scatchard plot は linear を示した。この細胞一個当たりおよそ5万個の IGF-I 受容体が存在し、その親和恒数は $0.95 \times 10^9 \text{M}^{-1}$ であった。 ^{125}I -IGF-I と細胞との結合は IGF-I のみならず multiplication stimulating activity, インスリンによっても抑制され、その力価はむしろ IGF-I の各々0.1, 0.01%であった。一方、 ^{125}I -インスリンと細胞との結合は僅か(1.5%/1.0 $\times 10^7$ cells/ml), この結合はインスリンだけでなく IGF-I によっても抑制されたが、IGF-I の力価はむしろインスリンの10倍と高値であった。これらの結果より、MDCK 細胞には、インスリン受容体は存在しないことが考えられた。 ^{125}I -IGF-I と細胞とを、crosslinking させると、分子量130K の位置に band が認められ、大量 IGF-I の投与にてこの band は消失した。

結論

MDCK には、インスリン受容体は存在せず、IGF-I に特異的な受容体のみが存在し、且つ、IGF-I は MDCK 細胞の増殖に関与していると考えられた。これ

らの結果より、この細胞系はインスリンと IGF-I の相互関係を研究する上で有用な系と考えられる。

論文審査の要旨

本論文は、イヌ尿管由来の細胞系 MDCK には、インスリン受容体は存在せず、IGF-I に特異的な受容体のみが存在し、且つ、IGF-I は MDCK 細胞の増殖に関与していることを示したものである。この結果により、MDCK 細胞系はインスリンと IGF-I の相互関係を研究する上で有用な系であることが示された。従ってこの論文は医学研究上大いに価値あるものと認める。

主論文公表誌

Characterization of insulin-like growth factor-I receptors on Madin-Darby canine kidney (MDCK) cell line

(イヌ遠位尿管由来の細胞株 (MDCK) に於ける insulin-like growth factor-I 受容体に関する研究)

Endocrinologia Japonica Vol. 24 No. 3
339~346頁 (1987年発行)

副論文公表誌

1) Characterization of insulin-like growth factor-I receptor on human erythrocytes (ヒト赤血球における insulin-like growth factor I 受容体の性質に関する研究)
J Clin Endocrinol Metab 61 (6) 1066~1070 (1985)

2) Effects of hGRF treatment of a patient with hGRF deficiency (GRF 欠損症児に対する GRF 治療効果について)
Endocrinol Jpn 32 (4) 511~516 (1985)

3) Plasma growth hormone (GH) and somatomedin C response to continuous growth hormone-releasing factor (GRF) infusion in patients with GH deficiency (GH 分泌低下症での GRF 持続注入に対する血中 GH 及びソマトメジン C の反応)
Acta Endocrinol 110 (1) 17~23 (1985)

4) Insulin-like growth factor I stimulates growth in normal growing rats (正常ラットでの insulin-like growth factor I の成長促進効果)
Eur J Pharmacol 125 143~146 (1986)

5) Radioimmunoassay for insulin-like growth factor I (IGF-I) using biosynthetic IGF-I (遺伝子工学にて作製された IGF-I を用いてのラジオイムノアッセイ)

Endocrinol Jpn 33 (6) 795~801 (1986)

6) Demonstration of insulin-like growth factor I in human urine (ヒト尿中 insulin-like growth factor I について)

J Clin Endocrinol Metab 64 (6) 1309~1312 (1987)

7) Decrease in IGF-I binding sites on human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) with differentiation (ヒト骨髄系白血病細胞 (HL-60) の分化に伴う IGF-I 受容体の変化)

Endocrinol Jpn 34 (3) 365~372 (1987)

8) Characterization of insulin-like growth factor-I receptors on human erythroleukemia cell line (K-562 cells) (ヒト赤白血病細胞 (K-562) に於ける IGF-I 受容体の性質に関する研究)

Endocrinol Jpn 34 (1) 81~88 (1987)

9) In vivo effects of insulin-like growth factor I in rats (ラットにおける IGF-I の in vivo 作用)

Endocrinol Jpn 34 (Suppl 1) 115~121 (1987)

10) Twenty-four hour plasma GH, FSH and LH profiles in patients with Turner's syndrome (ターナー症候群児における24時間 GH, FSH, 及び LH 分泌動態)

Endocrinol Jpn 35 (1) 71~82 (1988)