

(52)

氏名(生年月日)	加 園 恵 三
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第1216号
学位授与の日付	平成3年10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	ヒト癌細胞における副甲状腺ホルモン関連蛋白の産生とその調節
論文審査委員	(主査)教授 出村 博 (副査)教授 藤田 昌雄, 香川 順

論 文 内 容 の 要 旨

目的

悪性腫瘍に伴う高Ca血症(malignancy associated hypercalcemia; MAH)の原因は主として副甲状腺ホルモン関連蛋白(parathyroidhormone-related protein; PTHrP)である。そこで、MAHを合併した患者より樹立したPTHrP産生細胞を用いて、主として高Ca血症の治療薬が、PTHrPの遺伝子発現および産生にどのような影響を及ぼすかを検討した。

方法

EC-GIおよびT3M-1細胞を種々の濃度の薬剤を添加した培養液で2日間培養したのち、total RNA、またはpoly(A)⁺RNAを精製した。プローブとして、PTHrPをencodeする537-basepairのcDNAクローンより³²P-cRNAを作製した。抽出したRNAをアガロース-ホルムアルデヒドゲル上で電気泳動し、ナイロンフィルターに転写した後、ハイブリダイゼーションを行った。培養液中のPTHrP活性は、アデニレートサイクラーゼ刺激性を指標としたバイオアッセイおよびPTHrPのN端に対するラジオイムノアッセイで測定した。

結果

1. T3M-1およびEC-GI細胞は、対数増殖期においてPTHrPのmRNAを強く発現した。
2. EC-GI細胞ではPTHrPの培養液中への分泌が認められ、その生物活性と免疫活性は平行した。他方、T3M-1細胞におけるPTHrPの分泌はわずかであった。
3. ハイドロコチゾンは 10^{-8} M以上の濃度で

PTHrPのmRNAレベルを抑制した。また、EC-GI細胞のPTHrPの産生をも濃度依存性に抑制し、その最小有効濃度は 10^{-8} Mであった。

4. カルシトニン単独ではPTHrP産生に影響しなかった。また、ハイドロコチゾンとの同時添加においても両者の協調作用は認めなかった。

考察

以上より、EC-GIおよびT3M-1細胞がPTHrPの遺伝子を発現し、PTHrPを産生することが判明した。また、PTHrP遺伝子は細胞の対数増殖期に強く発現していた。MAHの患者にカルシトニンとグルココルチコイドが併用投与されることがある。これはカルシトニンの骨吸収抑制をグルココルチコイドが増強し、またエスケープ現象を抑止するためと考えられているが、今回のin vitroの検討によりグルココルチコイドが癌細胞に直接作用してPTHrPの産生分泌を抑制する可能性が示唆された。PTHrPの産生およびその調節機序について検討することは、PTHrPの産生分泌を抑制することによるMAHの治療を検討する上で有用と考えられる。

結語

グルココルチコイドはPTHrP産生ヒト癌細胞株(EC-GIおよびT3M-1細胞)に直接作用して、PTHrPの産生を抑制する。

論文審査の要旨

悪性腫瘍に伴う高カルシウム血症 (malignancy associated hypercalcemia: MAH) の原因となる液性因子は主に副甲状腺ホルモン関連蛋白 (parathyroidhormone-related protein: PTHrP) である。本論文では PTHrP 産生ヒト癌細胞株を用いて、MAH の治療薬が PTHrP の遺伝子発現と産生にどのような影響を及ぼすかを検討した。その結果、グルココルチコイドは PTHrP 産生細胞に直接作用して、PTHrP の産生を濃度依存性に抑制した。また、カルシトニンは単独でもグルココルチコイドとの同時添加でも影響を与えなかった。以上より、グルココルチコイドは骨吸収の抑制以外に PTHrP 産生癌細胞に対する直接作用をも持つことを明らかにした。

学術上価値のある論文と認める。

主論文公表誌

ヒト癌細胞における副甲状腺ホルモン関連蛋白の産生とその調節

東京女子医科大学雑誌 第61巻 第8号

611-618頁 (平成3年8月25日発行)

副論文公表誌

- 1) Stimulation of alkaline phosphatase activity by thyroid hormone in mouse osteoblast-like cells (MC3T3-E1): a possible mechanism of hyperalkaline phosphatasia in hyperthyroidism (マウス骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) における甲状腺ホルモンによるアルカリホスファターゼ活性刺激作用: 甲状腺機能亢進症に

おける高アルカリホスファターゼ血症のメカニズム). Bone and Mineral 4: 353-363 (1988)
Kasono K, Sato K, Han DC, Fujii Y, Tsushima T, Shizume K

- 2) Falsely elevated serum parathyroid hormone levels due to immunoglobulin G in a patient with idiopathic hypoparathyroidism (特発性副甲状腺機能低下症患者にみられた IgG による見かけ上の血清副甲状腺ホルモン値の上昇). J Clin Endocrinol Metab 72: 217-222 (1991)
Kasono K, Sato K, Suzuki T, Ohmura E, Demura R, Shizume K, Tsushima T, Demura H