Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

Autocrine Loop Through Cholecystokinin-B/Gastrin Receptors Involved in Growth of Human Leukemia Cells

岩田, 暢子

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
1997-03-31
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲1622
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001622

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

[49]

氏名・（本籍）	岩田暢子（いわたのぶこ）　（和歌山県）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	博い第1077号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与の日付	平成9年3月31日
学位論文題目	Autocrine Loop Through Cholecystokinin-B／Gastrin Receptors Involved in Growth of Human Leukemia Cells （血液細胞におけるコレシストキニン－B／ガストリン受容体発現と腫瘍細胞増殖の分子機構）
審査委員	主査　教授　千原和夫 教授　片岡　徹　教授　春日雅人

論文内容の要旨

［目的］

代表的な脳腸管ホルモンであるコレシストキン（CCK）およびガストリンは，単一のG蛋白共役型受容体を介し細胞増殖を促進する（J. Biol. Chem. 268; 18300, 1993）。私達は，ヒトCCK-B／ガストリン遺伝子のクローニングを行い，同受容体には2種のアイソフォームが存在し，両者のcDNA発現ベクターを導入したマウスNIH3T3細胞でリガンド用量依存性に細胞増殖が促進されることを示した（Cell Growth & Diff. 5; 1127, 1994）。最近私達は，個体においても本受容体が生理的な細胞増殖に大変重要な役割を果たしていることを遺伝子ノックアウトマウスの作製により証明した。（Proc. Natl. Acad. Sci. USA93; 11825, 1996）。また，同受容体mRNAが正常胃，膵，脳のみならず肺小細胞癌に異所性発現していることが示された（Cancer Res. 55;276, 1995）。正常胃粘膜では粘膜固有層の免疫担当細胞に強く発現していることも示唆されている（Science 258, 1662; 1992）。今回，正常ヒト白血球および造血器腫瘍細胞株における本受容体の発現と同受容体を介する細胞増殖の分子機構を解析した。

［方法と結果］

RT-PCR法を用いて正常人末梢血白血球（リンパ球，単球，顆粒球分画）におけるCCK-B／ガストリン受容体mRNAの発現を調べたところ，顆粒球にのみ発現がみられた。lineage特異性の検討も含め白血球細胞株18株（HL-60, U-937, THP-1, ML-1, MOLM-1, NALM-6, NALM-26, Daudi, Hair-M, Jurkat, HPB-MLT, MOLT-16, MOLT-3, HPB-ALL, DND-41, MOLT-14, CCRF-CEM, RPMI-8412）における同受容体mRNAの発現を解析した結果，骨髄性（巨核芽球性を含めて4／5株），B細胞性（4／4株），T細胞性（6／9株）腫瘍細胞株に発現がみられた。

9例の培養腫瘍細胞株につきCCK-8による細胞増殖効果を調べたところ，HL-60, THP-1, Jurkat, MOLT-3, MOLT-14およびCCRF-CEM細胞株では，［^{3}H］チミジンのとりこみ促進がみられた。また，そのうちTHP-1, MOLT-14, CCRF-CEM細胞株およびペプチドリガンドによりDN

A合成促進能のみられなかったMOLT-16細胞株は，無血清培地においてヒトCCK-B／ガストリン受容体特異的拮抗薬（YM022）によりDNA合成が抑制された。

リガンドであるガストリン遺伝子は，正常顆粒球および培養腫瘍細胞株（17／18株）に発現していた。

［考察］

コレシストキニン（CCK）およびガストリンは，主要な脳腸管ホルモンである。今までにVIPやソマトスタチン等種々のneuropeptide受容体が血液細胞に存在することが報告されている。Jurkat T細胞株では特異的に^{125}I-CCK-8を結合させることが報告されてきた。今回CCK-B／ガストリン受容体遺伝子が末梢血正常顆粒球のみならず数種類の造血器腫瘍細胞株に存在することが示され，これら造血器細胞における神経ペプチドの生理的および病的意義の解明が重要と考えられた。

同受容体遺伝子が正常リンパ球には存在せず，リンパ系を含む造血器腫瘍細胞株に明らかに発現していること，一部の細胞株でペプチドリガンドによる細胞増殖促進効果が示されたことにより，同受容体が腫瘍細胞増殖に関与している可能性がある。さらに，THP-1，MOLT-16，MOLT-14およびCCRF-CEM細胞株で細胞増殖が受容体特異的拮抗薬により抑制されたこと，ほぼ全例の腫瘍細胞株がリガンドであるガストリン遺伝子も発現していることより，オートクリン機構を介する白血病細胞増殖への関与が示唆された。同受容体を介するオートクリン機構の可能性については，近年大腸，胃，膵腫瘍細胞株やWilms腫瘍細胞株にて報告されている。癌細胞株の細胞増殖に未知のガストリン前駆体に特異的な受容体の存在も示唆されている（Science265; 410, 1994)。今回造血器腫瘍細胞株においても，受容体遺伝子の発現様式，細胞増殖促進能，受容体特異的拮抗薬による増殖抑制能が多岐にわたっていることから，ガストリン前駆体とその受容体が種々の程度に白血病増殖に関与している可能性もある。以上より，造血器腫瘍のCCK-B／ガストリン受容体を介する細胞増殖促進には多様な調節機構が働いていると考えられる。

［結語］

1）CCK-B／ガストリン受容体は，正常人では末梢血液細胞のうち顆粒球分画にのみ明らかな発現がみられた。

2）同受容体mRNA発現は，骨髄性，B細胞性，T細胞性いずれの造血器腫瘍細胞株にもみられた。

3）THP-1，MOLT-16，MOLT-14，CCRF-CEM細胞株等の白血病細胞株では，同受容体を介するオートクリン機構が細胞増殖に関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

近年，血液細胞に種々のペプチド受容体が発現していることが明らかにされている。申請者達は，コレシストキニン（CCK）－B／ガストリン受容体をクローニングし，この受容体cDNA発現ベクターを導入したマウスNIH3T3細胞でリガンド用量依存性に細胞増殖が促進されることを，さらに，本受容体遺伝子ノックアウトマウスの解析により本受容体が胃粘膜細胞の増殖に生理的な役割を果していることを明らかにしてきた。今回，正常ヒト白血球および造血器腫瘍細胞株における本受容体の発現と同受容体を介する細胞増殖の分子機構を解析した。RT-PCR法を用いて正常人末梢血白血球（リンパ球，単球，顆粒球分画）におけるCCK-B／ガストリン受容体mRNAの発現を調べたところ，

顆粒球にのみ発現がみられた。lineage特異性の検討も含め白血病細胞株18株における同受容体mRNAの発現を解析した結果，骨髄性（巨核芽球性を含めて4／5株），B細胞性（4／4株），T細胞性（6／9株）腫瘍細胞株に発現がみられた。9例の培養腫瘍細胞株につきCCK-8による細胞増殖効果を調べたところ，6細胞株では，［^{3}H］チミジンのとりこみ促進がみられた。また，そのうち4細胞株は，無血清培地においてヒトCCK-B／ガストリン受容体特異的拮抗薬（YM022）によりDNA合成が抑制された。リガンドであるガストリン遺伝子は，正常顆粒球および培養腫瘍細胞株（17／18株）に発現していた。同受容体遺伝子が正常リンパ球には存在せず，リンパ系を含む造血器腫瘍細胞株に明らかに発現していること，一部の細胞株でペプチドリガンドによる細胞増殖促進効果が示されたことにより，同受容体が腫瘍細胞増殖に関与している可能性がある。さらに，4細胞株で細胞増殖が受容体特異的拮抗薬により抑制されたこと，ほぼ全例の腫瘍細胞株がリガンドであるガストリン遺伝子も発現していることより，オートクリン機構を介する白血病細胞増殖への関与が示唆された。同受容体を介するオートクリン機構の可能性については，近年大腸，胃，膵腫瘍細胞株やWilms腫瘍細胞株にて報告されている。癌細胞株の細胞増殖に未知のガストリン前駆体に特異的な受容体の存在も示唆されている。今回造血器腫瘍細胞株においても，受容体遺伝子の発現様式，細胞増殖促進能，受容体特異的拮抗薬による増殖抑制能が多岐にわたっていることから，ガストリン前駆体とその受容体が種々の程度に白血病細胞増殖に関与している可能性もある。すなわち，造血器腫瘍のCCK-B／ガストリン受容体を介する細胞増殖促進には多様な調節機構が働いていると考えられる。以上，本研究は，正常ヒト白血球および造血器腫瘍細胞株におけるCCK-B／ガストリン受容体の役割について，その発現様式と同受容体を介する細胞増殖の分子機構を研究したものであるが，従来知られていなかった同受容体発現の特異性ならびにオートクリン機構について重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。よって，本研究者は，博士（医学）の学位を得る資格があると認める。