



Expression of fibroblast growth factor receptors in naevus-cell naevus and malignant melanoma

Ahmed, Nazim Uddin

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1998-00-00

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1955

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001955>

※ 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。



氏名・（本籍）	アハメド AHAMED	ナジム NAZIM	ウッティン UDDIN	（バングラディシュ）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）			
学位記番号	博い第1198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11年3月31日			
学位論文題目	Expression of fibroblast growth factor receptors in naevus-cell naevus and melanoma （母斑細胞性母斑と悪性黒色腫における線維芽細胞成長因子受容体の発現）			
審査委員	主査 教授 市 橋 正 光 教授 山 村 博 平 教授 前 田 盛			

論文内容の要旨

Background : Melanoma is important humancancer, the etiology of which has been the subject of much study,since until recently, no critical gene alterations of this tumour has been elucidated. Basic and acidic fibroblast growth factors (FGF) are mitogens, as well as differentiation and angiogenic factors. The suggestion that FGFs are involved in neoplastic growth is based on evidence that certain cells acquire transformed phenotyper after transfection of the basic FGF gene. As constitutive interaction of cellular growth factors with their surface receptors has been proposed to initiate a major molecular signalling cascade in autonomous cell growth and tumorigenesis, elucidation of the role of basic FGF (bFGF) and its receptors in naevus cell, normal melanocytes and melanoma cell proliferation would be important for understanding the mechanism of this cancer genesis.

Aim : In a previous sutdy, we showed by immunohistochemical analysis that bFGF is expressed strongly and homogeneously in naevus-cell naevus (NCN), while that in malignant melanoma (MM) is heterogeneous andsometimes inexistent. In order to elucidate the role of bFGF in these pigmented tumours, the expression of its receptors must determined.

Materials and Methods : In this study, we performed a immunohistochemical and western blot analysis of FGF receptors- 1 , - 2 and - 3 (FGFR- 1 , FGFR- 2 and FGFR- 3 respectively) in surgical specimen of NCN and MM,and in their cultured cell lines, respectively. Formalin-fixed paraffin-embedded sections were deparaffinized and subjectedto incubation with primary antibodies :a mouse monoclonal antibody that recognizes human FGFR- 1 [FGF (R), VBS 6], or two rabbit polyclonal antibodies that recognize human FGFR- 2 [bek (c-17)] or FGFR- 3 [FGFR- 3 (c-15)] and followed by sequential 15- min incubation with biotinylated link antibody and steptavidin-biotin-preoxidase.The reaction products were visualized by incubation with 3 - animo - 9 ethylcarbazole,which produces a violet-red color product easily distinguishable from brown color of melanin. For western blot analysis, cultured junctional naevus cells,normal meranocytes and melanoma cell lines (A101D, MeWo, p22 and G361 for FGF ; SK-mel24, MeWo, p22 and G361 for FGFR

— 1, FGFR— 2, and FGFR— 3) were used. Cells were lysed, total protein was quantified and the samples were analysed by SDS—PAGE.

Results : None of 10 NCN that showed strong, homogeneous staining for bFGF expressed FGFR— 1 or FGFR— 3 proteins ; six weakly expressed FGFR— 2 protein. Ten primary and 10 metastatic MM showed heterogeneous expression for the three receptors, with larger populations of FGFR—negative cells in primary than in metastatic tumours. Western blot analysis showed homogeneous expression of bFGF proteins had a heterogeneous distribution in the different cell lines. Cultured naevus cells and normal melanocytes showed no immunoreactive band for FGFR— 1 protein, the only protein tested.

Conclusion : Our results suggest that tumour—derived bFGF is involved through an autocrine mechanism in melanoma formation but mostly through a paracrine or other mechanism in NCN. Techniques that involve blocking the autocrine loop, such as the use of neutralizing antibodies against bFGF, will be important therapeutic tools in the future.

論文審査の結果の要旨

〔研究の背景〕悪性黒色腫の発癌機構に塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) が重要な役割を果たす可能性が示唆されてきた。すなわち、黒色腫細胞が産生する bFGF が血管新生に働くと同時にオートクライン機構により黒色腫自身の増殖を促進するという仮説である。すでに我々は bFGF に対する抗体を用いた免疫染色法により良性病変である母斑細胞性母斑では bFGF が均一に強く発現しているのに対し、黒色腫ではむしろその発現は不均一で時には発現が見られないことを見出し、bFGF の発現のみが色素細胞の悪性化を決定するものではないことを報告した。

〔研究目的〕色素細胞由来の腫瘍における bFGF レセプターの発現を検討することにより bFGF の黒色腫発癌における意義を明らかにする。

〔材料と方法〕母斑細胞性母斑および黒色腫のパラフィン包埋切片を用い、FGF に対するレセプターである FGFR— 1, — 2 および — 3 の発現を免疫組織化学的に検討するとともに、黒色腫細胞株、培養母斑細胞、培養メラノサイトを用いウエスタンブロット法にて発現を検討した。

〔結果〕10例の母斑細胞性母斑では全てに FGFR— 1 と — 3 の発現は認められ 6例で FGFR— 2 の弱い発現が見られたのみであった。一方、黒色腫については10例の原発巣、10例の転移巣の計20例につき検討したが、FGFR— 1, — 2, — 3 の発現は20例中それぞれ19例、19例、16例と高率に認められた。発現する細胞の割合はいずれの receptor 共、原発巣に比し転移巣で多い傾向を示した。ウエスタンブロットによる解析では正常メラノサイト、母斑細胞ともに FGFR— 1 の発現は見られなかったが、黒色腫細胞株、4例の検討では FGFR— 1, — 2, — 3 の発現はそれぞれ 3 / 4, 4 / 4, 3 / 4 にみられた。

〔結論〕今回の研究により黒色腫は bFGF および FGF—receptor をともに発現し、bFGF がオートクライン増殖因子として黒色腫発癌に重要な役割を果たしている可能性が強く示唆された。一方、母斑細胞性母斑においては bFGF が発現するにもかかわらずその receptor の発現はほとんど見られないことより bFGF はオートクライン増殖因子としてではなく、何らかのパラクライン的な作用を有するものと推察した。以上より、bFGF とそのレセプターを介する系を制御する薬剤、あるいは中和抗体が黒色腫の治療に応用できる可能性が示唆された。

本論分は悪性黒色腫の増殖特性を bFGF とそのレセプターの関係から明らかにし、今後黒色腫の増

殖制御に一つの方法を提示したものであり，価値ある実績と認める。よって本研究者は白衣（医学）の学位を得る資格があると認める