



Comparative effects of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor on the growth of cultured human uterine leiomyoma cells and myometrial cells

王, 佳茵

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2006-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲3498

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1003498>

※ 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。



【 82 】

氏 名・（本 籍） 王 佳 茵 （ 中国 ）

博士の専攻分野の名称 博士（医学）

学 位 記 番 号 博い第1704号

学位授与の 要 件 学位規則第5条第1項該当

学位授与の 日 付 平成18年3月25日

【 学位論文題目 】

Comparative effects of heparin-binding epidermal growth
factor-like growth factor on the growth of cultured human uterine
leiomyoma cells and myometrial cells
(培養ヒト子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の増殖能ならびに
アポトーシスに及ぼす Heparin-binding epidermal growth
factor-like growth factor の影響)

審 査 委 員

主 査 教 授 東 健
教 授 熊谷 俊一
教 授 久野 高義

子宮筋腫は性成熟期婦人に好発する良性腫瘍であり、その発育には性ステロイドホルモンと局所成長因子の補完・協調的作用が関与していることが推測されている。我々の教室では epidermal growth factor (EGF), insulin-like growth factor-I や transforming growth factor- β 3 等の局所成長因子が子宮筋腫発育を促進することを認めている。Heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) は EGF family に属する 22KDa の蛋白であり、EGF 受容体である HER1 と結合して線維芽細胞、平滑筋細胞、角化細胞等の増殖や平滑筋細胞の chemotaxis を促進することが知られている。子宮筋腫と正常子宮平滑筋に HB-EGF mRNA と *HER1* mRNA が存在するが、HB-EGF の子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞発育を制御する生物学的機序に関する報告は皆無である。今回、我々は無血清培養系を用いて、HB-EGF が培養子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の増殖能、アポトーシス誘導ならびに HER1 蛋白発現に及ぼす影響について比較検討した。

患者の同意を得て手術時に子宮筋腫組織と近接する正常子宮平滑筋組織を採取し、コラゼナーゼ処理後に浮遊細胞を回収した。細胞は phenol red-free DMEM 培地で培養した後に無血清培地に替え、HB-EGF 添加 (0.1、1、10、100 ng/ml) あるいは非添加下に細胞培養を 48 時間継続した。HB-EGF の細胞増殖能に及ぼす影響に関して、Ki67 を免疫細胞染色により、PCNA 蛋白発現をウェスタンブロット法により、また HB-EGF のアポトーシス誘導に及ぼす影響に関してはアポトーシス細胞を TUNEL 法により検出し、さらに HER1 蛋白発現をウェスタンブロット法により検討した。

無血清培地系において、1 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 24 時間と 48 時間後に培養子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の Ki67 陽性細胞率

は対照群と比べて有意に増加した。HB-EGF 添加後の Ki67 陽性細胞率を両細胞群で比較すると、10 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 24 時間後に培養正常子宮平滑筋細胞の Ki67 陽性細胞率は培養子宮筋腫細胞のそれと比べて有意の高値であり、48 時間後には 1 ng/mL 以上の HB-EGF 添加により有意の高値となった。1 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 24 時間後に培養正常子宮平滑筋細胞の PCNA 蛋白発現は対照群と比べて有意に増加したが、培養子宮筋腫細胞の PCNA 蛋白発現は 10 ng/mL 以上の HB-EGF 添加により有意に増加した。培養正常子宮平滑筋細胞の HER1 蛋白発現は培養子宮筋腫細胞と比べて有意に高値であった。10 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 24 時間後に培養正常子宮平滑筋細胞の HER1 蛋白発現は有意に増加したが、培養子宮筋腫細胞の HER1 蛋白発現は 100 ng/mL 以上の HB-EGF 添加により有意に増加した。1 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 48 時間後に両細胞群の TUNEL 陽性細胞率は対照群と比べて有意に減少したが、HB-EGF 添加 24 時間と 48 時間後の TUNEL 陽性細胞率は両細胞群間で差はなかった。

以上より、HB-EGF は培養子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の Ki67 陽性細胞率、PCNA 蛋白発現および HER1 蛋白発現を増加させるが、これらの HB-EGF に対する反応性は培養子宮筋腫細胞と比べて正常子宮平滑筋細胞で亢進しており、その原因として両細胞群の HER1 蛋白発現の差が関与している可能性が示唆された。一方、HB-EGF は両細胞群のアポトーシスを抑制するが、その作用は両細胞群間で差がないことが示された。

神戸大学大学院医学系研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 1705 号	氏 名	王 佳茵
論文題目 Title of Dissertation	Comparative effects of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor on the growth of cultured human uterine leiomyoma cells and myometrial cells 培養ヒト子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の増殖能ならびにアポトーシスに及ぼす Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor の影響		
審査委員 Examiner	主 査 東 健 Chief Examiner 副 査 熊 谷 俊 Vice-examiner 副 査 久野高義 Vice-examiner		
審査終了日	平成 18 年 1 月 25 日		

（要旨は1,000字～2,000字程度）

子宮筋腫は性成熟期婦人に好発する良性腫瘍であり、その発育には性ステロイドホルモンと局所成長因子の補完・協調的作用が関与していることが推測されている。我々の教室では epidermal growth factor (EGF), insulin-like growth factor-I や transforming growth factor- β 3 等の局所成長因子が子宮筋腫発育を促進することを認めている。Heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) は EGF family に属する 22KDa の蛋白であり、EGF 受容体である HER1 と結合して線維芽細胞、平滑筋細胞、角化細胞等の増殖や平滑筋細胞の chemotaxis を促進することが知られている。子宮筋腫と正常子宮平滑筋に HB-EGF mRNA と HER1 mRNA が存在するが、HB-EGF の子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞発育を制御する生物学的機序に関する報告は皆無である。今回、我々は無血清培養系を用いて、HB-EGF が培養子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の増殖能、アポトーシス誘導ならびに HER1 蛋白発現に及ぼす影響について比較検討した。

患者の同意を得て手術時に子宮筋腫組織と近接する正常子宮平滑筋組織を採取し、コラゼナーゼ処理後に浮遊細胞を回収した。細胞は phenol red-free DMEM 培地で培養した後に無血清培地に替え、HB-EGF 添加 (0.1、1、10、100 ng/ml) あるいは非添加下に細胞培養を 48 時間継続した。HB-EGF の細胞増殖能に及ぼす影響に関して、Ki67 を免疫細胞染色により、PCNA 蛋白発現をウェスタンブロット法により、また HB-EGF のアポトーシス誘導に及ぼす影響に関してはアポトーシス細胞を TUNEL 法により検出し、さらに HER1 蛋白発現をウェスタンブロット法により検討した。

無血清培地系において、1 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 24 時間と 48 時間後に培養子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の Ki67 陽性細胞率

は対照群と比べて有意に増加した。HB-EGF 添加後の Ki67 陽性細胞率を両細胞群で比較すると、10 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 24 時間後に培養正常子宮平滑筋細胞の Ki67 陽性細胞率は培養子宮筋腫細胞のそれと比べて有意の高値であり、48 時間後には 1 ng/mL 以上の HB-EGF 添加により有意の高値となった。1 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 24 時間後に培養正常子宮平滑筋細胞の PCNA 蛋白発現は対照群と比べて有意に増加したが、培養子宮筋腫細胞の PCNA 蛋白発現は 10 ng/mL 以上の HB-EGF 添加により有意に増加した。培養正常子宮平滑筋細胞の HER1 蛋白発現は培養子宮筋腫細胞と比べて有意に高値であった。10 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 24 時間後に培養正常子宮平滑筋細胞の HER1 蛋白発現は有意に増加したが、培養子宮筋腫細胞の HER1 蛋白発現は 100 ng/mL 以上の HB-EGF 添加により有意に増加した。1 ng/mL 以上の HB-EGF 添加 48 時間後に両細胞群の TUNEL 陽性細胞率は対照群と比べて有意に減少したが、HB-EGF 添加 24 時間と 48 時間後の TUNEL 陽性細胞率は両細胞群間で差はなかった。

以上より、HB-EGF は培養子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の Ki67 陽性細胞率、PCNA 蛋白発現および HER1 蛋白発現を増加させるが、これらの HB-EGF に対する反応性は培養子宮筋腫細胞と比べて正常子宮平滑筋細胞で亢進しており、その原因として両細胞群の HER1 蛋白発現の差が関与している可能性が示唆された。一方、HB-EGF は両細胞群のアポトーシスを抑制するが、その作用は両細胞群間で差がないことが示された。

本研究は、HB-EGF の培養子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の増殖能とアポトーシス誘導に及ぼす影響を in vitro で検討したものであり、HB-EGF は HER1 蛋白発現の亢進を介して培養子宮筋腫細胞と正

常子宮平滑筋細胞の増殖能を促進し、一方アポトーシスを抑制するが、HB-EGF は子宮筋腫細胞よりも正常子宮平滑筋細胞の増殖に対して、より重要な役割を果たしていることを国際的に初めて明らかにしたものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。