

氏名(本籍) 越田 繁樹 (京都府)
学位の種類 博士(医学)
学位記番号 博士第435号
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日 平成15年3月27日
学位論文題目 Estrogen Receptor Expression and Estrogen Receptor-Independent Cytotoxic Effects of Tamoxifen on Malignant Rhabdoid Tumor Cells in vitro
(悪性横紋筋様腫瘍におけるエストロゲン受容体の発現およびタモキシフェンによるエストロゲン受容体非依存性細胞障害)

審査委員 主査 教授 野田 洋一
副査 教授 岡部 英俊
副査 教授 木村 博

論文内容要旨

【目的】

Malignant rhabdoid tumor (MRT) は非常に強い増殖性を持つ悪性新生物であり、小児期、特に1歳未満に好発する極めて予後不良の腫瘍性疾患である。MRTに対する確立された治療法の無い現時点でその細胞由来を明らかにし、増殖に関するメカニズムを解明することは極めて高い意義があり、今後の新たな治療法の開発に結びつく可能性がある。Estrogen (E2) は生殖臓器だけではなく心臓血管系、神経、骨などの非生殖臓器においてもその発達を調節している。乳癌においてはestrogen receptor (ER) に関してこれまでに多くの研究がなされており、抗エストロゲン剤であるtamoxifen (TAM) の投与を含めたホルモン療法が臨床応用されるに至った。乳癌以外の腫瘍、大腸癌、髄膜腫、前立腺癌、骨髄腫などにおいてもERと腫瘍増殖性との関連を検討した研究も最近行われつつある。

現在までMRTとERの関係を論じた報告はほとんどみられず、今回我々は、MRTにおけるERの発現とその意義を検討したので報告する。

【方法】

6つのMRT細胞株を用いRT-PCR法、Western blot法を用いてERの発現を検討した。また、細胞内におけるER蛋白の発現を免疫組織化学的手法により検索した。さらにE2及び抗エストロゲン剤 (TAM, 4-hydroxytamoxifenあるいはICI182, 780) 投与が腫瘍細胞増殖へ及ぼす影響についても観察した。さらに細胞増殖抑制を示したMRT細胞株については、細胞障害性の有無をアポトーシス誘導の観点から検討した。

【結果】

3株のMRT細胞株においてER mRNA、蛋白の発現を認めた。また細胞内においてERの核内局在を認めた。しかし、E2投与ではER陽性、陰性群とも有意な細胞増殖の変化はみられなかった。次に4-hydroxytamoxifen (4-OHT) を投与したところ、全ての細胞において用量依存性に細胞増殖抑制がみられた。他の抗エストロゲン剤であるTAMでも同様に抑制が見られたが、ICI 182, 780投与では有意な細胞数の減少は見られなかった。次に4-OHTによる細胞増殖抑制効果が単なる細胞増殖停止によるものか、あるいは細胞死によるものかを検討したところ、アポトーシスが誘導されている事実が判明した。さらにER陽性のMRT細胞株にE2存在下で4-OHT投与を行ったところ、

細胞増殖抑制効果は4-OHT単独の場合に見られたそれと同様であり、アポトーシスが誘導されていた。

【考 察】

我々は6種類のMRT細胞株を用いて、ERの発現を有するものが存在する事を発見した。E2は生殖臓器の機能に影響を及ぼすのと同時に、中枢神経系にも影響を及ぼすことが知られている。MRTの腫瘍起源がおそらく神経起源であると考えられていることから、ERがMRTに発現していることは妥当であると考えられる。

次に我々は、抗エストロゲン剤TAMの誘導体である4-OHTの投与実験を行った。4-OHTがER発現に関係なく全てのMRT細胞株においてその増殖を抑制し、ER陽性のMRT細胞株においてE2を投与しても増殖抑制を来さないことを認めた。以上の結果から4-OHTによるMRTの細胞増殖抑制効果はERを介さない経路による事が示唆された。Pure antiestrogenであるICI 182, 780投与によって有意な細胞増殖抑制が認められなかったことからこの説が裏付けられた。

抗エストロゲン剤であるTAMは一般的に乳癌や卵巣癌などの治療に使用される抗腫瘍剤として知られているが、最近ではERを発現していない他の悪性腫瘍に対する治療目的にも使用されつつある。我々はこれらの実験結果からTAMがMRTに対しても抗腫瘍効果を有すると考えた。

【結 論】

我々はERがMRT発現していることを示したが、4-OHTはERの発現にかかわらずMRTの細胞増殖をアポトーシスの誘導により抑制した。これらの結果より、非常に悪性度の高いMRTの治療に対してTAMが臨床応用され得る可能性を示唆するものである。

学 位 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は悪性横紋筋様腫瘍（MRT）におけるestrogen receptor（ER）の発現と、抗エストロゲン剤による細胞増殖抑制効果を検討した。

6つのMRT細胞株を用いRT-PCR法、Western blot法、免疫組織化学的手法を用いてERの発現を検討した。さらに抗エストロゲン剤（4-hydroxytamoxifen<4-OHT>, tamoxifen）による細胞増殖とアポトーシス誘導の有無について検討した。

その結果3株のMRT細胞株においてERmRNA、蛋白の発現を認めた。4-OHT投与により全ての細胞で用量依存性に細胞増殖抑制がみられた。また、4-OHT投与によってアポトーシスが誘導されており、さらにE2存在下においても4-OHTによるアポトーシス誘導は阻害されなかった。

以上の結果から4-OHTによるMRTの細胞増殖抑制はアポトーシスの誘導によるものであり、かつERを介さない経路による事が示された。

本研究はtamoxifenがMRTに対して抗腫瘍効果を有すると考察し、MRTに対する治療応用の可能性を示したもので、博士（医学）授与に値するものと認める。