

学位授与番号	医博甲第1357号		
学位授与年月日	平成11年3月31日		
氏名	木下敬弘		
学位論文題目	Growth stimulation and induction of epidermal growth factor receptor by overexpression of cyclooxygenases 1 and 2 in human colon carcinoma cells		
論文審査委員	主査	教授	渡邊洋宇
	副査	教授	三輪晃一
		教授	磨伊正義

内容の要旨及び審査の結果の要旨

シクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase, COX) はアラキドン酸を基質として、強力な生理活性を持つプロスタグランジン (prostaglandin, PG) やトロンボキサンを生成する酵素であり、COX-1とCOX-2の二つのアイソフォームが知られている。これらCOXが大腸癌の発生、増殖に深く関与していることが近年の疫学的、細胞生物学的研究によって示されており、興味を持たれている。本研究は、大腸癌細胞の増殖における二つのアイソフォームが果たす役割と分子機構の解明を目的とした。

伸張因子1- α の強力なプロモーターを有する発現ベクター、pEF-BOSにネオマイシン耐性遺伝子とCOX-1cDNAおよびCOX-2cDNAを組み込み、ヒト大腸癌由来細胞株COLO320 DM細胞に遺伝子導入し、安定形質発現株を得た。細胞増殖速度はMTTアッセイを用いて、DNA合成量は³H-チミジン取り込み試験を用いて測定した。上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor-receptor, EGFR) mRNAの発現は半定量的RT-PCR法を用いて調べた。得られた結果は以下の通りである。

1. COX-1, COX-2発現細胞はともにアラキドン酸からPGD₂, PGE₂, PGF₂ α を生成しており、COXの比活性は8~10nmol/10min/mg蛋白を示し、両者でほとんど差がなかった。
2. COX-1, COX-2発現細胞の増殖速度は、培養7日目でベクターのみを遺伝子導入した細胞のそれぞれ約2倍、約2.2倍を示した。COX-1, COX-2の間では有意な増殖速度の差は認めなかった。この細胞増殖速度の促進は、COX阻害剤のインドメタシンにより濃度依存的に抑制された。
3. COX発現細胞におけるDNA合成量は、ベクターのみを遺伝子導入した細胞の約3倍以上を示した。
4. COX発現細胞では、ベクターのみを遺伝子導入した細胞と比較して、明らかなEGFRのmRNA発現量の上昇が認められた。
5. DNA合成およびEGFRのmRNAの発現亢進も、インドメタシン処理によって完全に抑制された。

以上の研究結果から、ヒト大腸癌細胞株COLO320 DM細胞にCOX-1, COX-2を過剰発現させると、その増殖速度とDNA合成能が促進され、その少なくとも一つの機構として、EGFRの発現上昇を介していることが示された。これらの実験結果は、COXとEGFRの相互間での活性制御機構が、大腸癌細胞の増殖に深く関与していることを示唆するものであり、臨床的にも大腸癌の治療や予防において重要な知見であると考えられる。

以上、本研究は大腸癌の増殖機構を解明したものであり、消化器病領域に貢献する価値ある論文と評価された。