

氏 名（本籍） 志 田 直 樹

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 博 第 1 5 5 0 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 1 年 3 月 2 5 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科
（博士課程）外科学系専攻

学 位 論 文 題 目 マウス下垂体腫瘍の形成における Transforming
Growth Factor Beta Receptor Type II 遺伝子
の関与

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 吉 本 高 志 教 授 名 倉 宏

教 授 笹 野 公 伸

論文内容要旨

【研究目的】

Transforming growth factor- β (TGF- β) およびそのシグナル伝達系が細胞増殖抑制作用を持ち、その効果がサイクリン依存性キナーゼなど、細胞周期に関連した物質の相互作用に基づくものであるということが近年明らかとなってきた。また、これらの物質の相互作用がヒト下垂体腫瘍組織でもその進展に何らかの役割を果たしていることが示唆されており、これまで我々はヒト下垂体腺腫形成において TGF- β シグナル伝達系が関与している可能性があることを報告してきた。一方、実験動物モデルとして、齧歯類にエストロゲンを負荷することで下垂体腫瘍を形成できることが古くから知られており、その下垂体組織では TGF- β 1 および TGF- β receptor type II (TGF- β R II) の発現が低下することも近年明らかとなった。今回我々は近年発表された TGF- β R II のヘテロ接合ノックアウトマウス (Tgfr2+/-) を用いてエストロゲン負荷による下垂体腫瘍の形成を試み、その組織反応について病理学的、分子生物学的に検討した。

【研究方法および結果】

実験 [1] : 1.5mg の 17 β -エストラジオール (E2) を 90 日かけて徐放するペレットと 15mg の E2 を 60 日かけて徐放するペレットを、6 週齢のメス C57BL/6J (WT) およびメス Tgfr2+/- の背部皮下に投与し、A 群=1.5mg 投与 WT, B 群=15mg 投与 WT, C 群=1.5mg 投与 Tgfr2+/-, D 群=15mg 投与 Tgfr2+/-, E 群=E2 非投与 WT と群分けした。A~D 各群 19~26 例に E2 を投与し、8 週以上生存した症例を検討対象とした。剖検下垂体を摘出し、ホルマリン固定後、3 μ m のパラフィン包埋連続切片を作製し、HE 染色及び 8 種の下垂体ホルモンの免疫染色を行った。症例数は A 群 10, B 群 3, C 群 14, D 群 7, 平均生存期間 (週) は A 群 18.1, B 群 14, C 群 17.1, D 群 17.1 で、各群の平均生存期間に統計学的有意差はなかった。観察した症例の多くは 25 週間以上生きられず、死因は E2 の副作用に起因する尿閉、腎不全、尿路感染症であった。組織学的検索により、A 群には 1 例に合計 1 個、B 群には 1 例に合計 2 個の下垂体腫瘍の発生を確認した。これに対し C 群には 13 例に合計 38 個、D 群には 4 例の合計 6 個の下垂体腫瘍の発生を確認した。47 腫瘍中 44 個は PRL 産生腫瘍であった。また中間葉由来の腫瘍が 3 個発生していた。実験 [2] : 1.5mg の E2 ペレットを投与し、投与期間を 16 週および 25 週の長短 2 群に分け、投与期間と下垂体組織の反応を、下垂体重量、前葉、中間葉の細胞面積を計測して比較した。また剖検直前に、Bromodeoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与して、得られた組織の BrdU labeling index (L.I.) を細胞増殖能の指標として評価した。さらに E2 投

与前後の下垂体組織における細胞周期関連遺伝子産物 p27, CyclinD, Cdk4, c-myc の量的変化についても検討した。BrdU L.I. は E2 投与 25 週と比較すると WT より Tgfbr2+/- が有意に高かった。E2 投与したマウスの下垂体組織では CyclinD1, Cdk4, c-myc タンパクの量が E2 投与前に比べ増加していた。p27 タンパクは WT で減少, Tgfbr2+/- で増加していた。

【結 論】

(1) Tgfbr2+/- には WT に比較して E2 誘発下垂体腫瘍が高頻度で発生し, TGF- β R II 遺伝子の量が腫瘍形成に関与している可能性が示唆された。(2) 下垂体前葉細胞の BrdU L.I. は E2 投与 25 週では WT より Tgfbr2+/- が有意に高く, TGF- β R II 遺伝子の多寡は E2 投与 25 週における下垂体細胞増殖能に影響を及ぼしていることが考えられた。

審査結果の要旨

本研究では TGF- β Receptor Type II 遺伝子が欠損したマウスと、同遺伝子に異常のない野生型マウスにエストロゲン投与により下垂体腫瘍を誘発し、その腫瘍形成の特徴を組織学的、分子生物学的に比較することで TGF- β シグナル伝達系が下垂体腫瘍の形成に関与していることを *in vivo* で検討している。各種ヒト腫瘍組織において TGF- β シグナル伝達系の分子レベルで異常を生じていることが判明し、腫瘍の発生、進展に関与していることが推察されている。これまで TGF- β シグナル伝達系について遺伝子レベルで異常を生じた動物モデルを用いて腫瘍形成に関する検討は行われていなかった。

本研究の特徴は、第一にはヒトの腫瘍組織での検討から推察されている TGF- β シグナル伝達系の異常をマウスにあらかじめ負荷し、かつエストロゲン負荷で腫瘍を誘発した場合に組織の腫瘍形成が野生型マウスに比較して促進されることを前向きに証明し得た点である。第二には、これまで報告されてきた動物実験の下垂体腫瘍の組織学的検索で不十分であった細胞面積や細胞増殖能に関する検討を加え、組織学的検索を幅広く行っている点である。

本研究において明らかにされた TGF- β Receptor Type II 遺伝子異常と下垂体腫瘍形成の促進という知見は、下垂体を含むヒト組織の腫瘍形成における TGF- β Receptor Type II 遺伝子異常の関与を裏付ける一つの事実を提示しており、TGF- β シグナル伝達系の基礎的研究を進展させることに寄与するものと考えられる。以上、本研究は学位に十分値するものと考えられる。