

Title	ウシ胎児軟骨より分離した細胞増殖・分化促進因子に関する研究 Ⅰ. 作用機作 : ソマトメジン様作用 Ⅱ. 精製法の開発
Author(s)	野村, 慶雄
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33065
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	野 村 慶 雄
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 5 3 4 8 号
学位授与の日付	昭和 56 年 5 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	ウシ胎児軟骨より分離した細胞増殖・分化促進因子に関する 研究 I. 作用機作：ソマトメジン様作用 II. 精製法の開発
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 宏 (副査) 教授 鈴木不二男 教授 常光 旭 助教授 岩壺 克哉 助教授 中川 皓文

論 文 内 容 の 要 旨

軟骨細胞は、プロテオグリカンを大量に合成・分泌する高度に分化した細胞である。ラットあるいはウサギ軟骨細胞のプロテオグリカン合成は、副甲状腺ホルモン、カルシトニン、ソマトメジンの一種である Multiplication-Stimulating Activity (MSA) および甲状腺ホルモンなどにより、著しく亢進することが知られている。ところで、上述のホルモン以外に、軟骨の細胞外基質成分そのものが、軟骨細胞のプロテオグリカン合成調節機構に関与しているのではないかと古くから考えられてきた。

そこで著者は、軟骨細胞のプロテオグリカン合成を調節する未知の因子を、ウシ胎児軟骨を試料として、部分精製し、さらにその生物学のおよび化学的性状の一部を明らかにした。

ウシ胎児軟骨より、1 M グアニジン塩酸で抽出し、アセトン分画 (45~65%) した軟骨抽出物を Bio-Gel A 0.5m カラムに展開した。とくにウサギ軟骨培養細胞のグリコサミノグリカン (以下 GAG と略す) 合成を促進する画分を、軟骨由来因子 Cartilage-derived factor (以下 CDF と略す) と名付けた。再ゲル濾過を行った CDF をさらに CM-Sephadex C50 カラムに展開し精製した。このようにして精製した CDF の GAG 合成促進作用は、ウシ胎児血清と比較すると、蛋白質当りで少くとも 5,000 倍以上の強い比活性を示した。さらに部分精製した CDF は、GAG の硫酸化促進ばかりか、コア蛋白の合成、GAG 鎖の伸長を促進し、すなわちプロテオグリカン分子全体の合成を促進することが判明した。精製した CDF は、また軟骨細胞の DNA 合成、RNA 合成、蛋白質合成を細胞分裂をも促進した。このように精製した CDF は、成長ホルモンの成長促進作用を仲介するソマトメジンと同様の作用を有することが明らかとなった。そして、CDF のソマトメジン様作用は、ソマトメジンの一

種であるMSAと同等またはそれ以上に強力であり、しかも、軟骨細胞の代謝と増殖を促進する経時的な変動パターンが両者間で区別出来ないほど類似していた。また、CDFのソマトメジン様作用が、トリプシンとプロナーゼEによってのみ阻害され、コンドロイチナーゼACおよびコラーゲナーゼで阻害されないことから、CDFは、プロテオグリカンおよびコラーゲンとは異なるペプチドであることが判明した。

次に、CDFのGAG合成促進作用と細胞増殖促進作用が同一の物質に起因するか否かをCDFを高度に精製して検討した。すなわち、アセトン分画したCDFを限外濾過により分子量約30万から1万までの画分を得、次いで、Toyopearl HW55Fゲル濾過で、GAG、DNA双方の合成を促進するCDF画分（分子量19,000～9,000）を得た。これを平板型等電点電気泳動により、同活性を示す中性CDF画分と塩基性のCDF画分に分離した。これらの画分をさらにToyopearl HW55Fカラムに展開し精製を進め、分画された五つのピークのうち、ピークII（分子量17,800～13,700）とピークIV（分子量約10,000）にGAG、DNA合成を促進する活性を認めた。ピークIIは、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で3～4本のバンドを示したが、ピークIVは、分子量11,000に相当する部分に単一バンドとして現われた。ピークIVのウサギ軟骨培養細胞のDNA合成促進作用の強さは、インスリンの約100倍、ウシ胎児血清の約5,000倍であった。一方、GAG合成促進作用は、インスリンの約1,000倍、ウシ胎児血清の約100万倍という強い活性を示した。

以上の実験結果より、ウシ胎児軟骨より抽出・精製したCDFは、ウサギ軟骨培養細胞の分化機能発現と増殖をともに促進するソマトメジン作用をもち、かつ軟骨細胞より合成・分泌される一種のlocal mitogenであると考えられる。

論文の審査結果の要旨

成長ホルモンは骨格の成長に不可欠な役割を果たしている。従来の研究では、成長ホルモンはまず肝臓に作用して、ここで数種のソマトメジン・ペプチドが産生され、体内各組織に運ばれ、とくに軟骨細胞の増殖とプロテオグリカン合成を促進し、骨の成長をもたらすと考えられてきた。

ところが、本研究により、ウシ胎児の軟骨組織には、軟骨細胞の増殖ばかりではなく、分化機能をも同時に促進する一群のソマトメジン様因子（Cartilage-derived factor; CDF）が存在することが証明された。さらに精製法の改良を重ね、その中の一つの画分を電気泳動的に均一にまで精製することに成功した。

このような野村君の研究は、ソマトメジン様因子を血清以外から初めて単離したものであり、また、このCDFがlocal mitogenとして、軟骨・骨形成に重要な役割を果たしていることを示唆している。したがって、この業績は、今後の骨形成機構の解明に大きく寄与するものであり、歯学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。