The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	癌細胞由来の細胞増殖促進因子に関する研究
Author(s)	中村, 秀次
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33303
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【26】

氏名・(本籍)	中村秀次（なかむらひでじ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5999 号
学位授与の日付	昭和58年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**癌細胞由来の細胞増殖促進因子に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 藤井 節郎 (副査) 教授 坂本 幸哉　教授 中川 八郎

論文内容の要旨

〔目　的〕

担癌生体において，肝・脾重量の増加，肝カタラーゼ活性低下，肝トリプトファンピロラーゼ活性低下，血清鉄低下，胸腺退縮等の現象の生じることが知られていた。中原・福岡は，これら種々の変化が癌細胞由来の何らかの因子によりもたらされていることを示し，これらをトキソホルモンと名付けた。

当教室では，担癌肝・脾のＤＮＡ合成系酵素について検討し，担癌肝・脾においてＤＮＡ合成系酵素であるdThd kinase, TMP kinase, DNA polymerase活性が著明に上昇していることを見い出しその出現機構を明らかにしてきた。そこで，我々はラット腹水癌細胞より正常動物の肝ＤＮＡ合成系酵素活性を促進する因子について精製を試みてきた。つまり，この細胞増殖促進因子を細胞培養系を用いて精製し，その性質及び作用機構について検討した。

〔方法ならびに成績〕

AH-130癌細胞の粗抽出液から得られた細胞増殖促進因子は，BHK (Baby hamster kidney)細胞，HEL (Human embryonic lung) 細胞，Swiss 3T3細胞について検討したところ，いずれに対しても増殖促進効果が認められたが，Swiss 3T3細胞に対して一番感受性が著明であった。そこで，細胞増殖促進因子のassay法としてSwiss 3T3細胞を用い，〔^{3}H〕-dThdのDNAへの取り込み及び細胞数の上昇率で測定した。

精製方法として，AH-130腹水癌をhomogenizationし，105,000×g，60分間遠心後，硫安分画（0—60%）を行ない，Heparin-Sepharose, DEAE-Sephacel, Hydroxylapatite chromatography

を行ない，更に等電点電気泳動及びSephacryl S-300によるゲルろ過を行ない精製した。最終標品は硫安分画の画分に比較して約6,900倍に精製され，回収率は約8.1%であった。本因子は100℃，5′及びtrypsin処理で失活することより蛋白質様物質である事が推測された。又，6 M urea，2 M塩酸グアニジンでほとんど失活しなかった。分子量は約60,000で，等電点pI 5.5の酸性蛋白であった。

正常肝及び再生肝から部分精製した画分においてはＡH-130癌細胞に見られるような細胞増殖促進効果は認められなかった。この事より本因子は正常組織には存在せず癌組織に存在する物質である事が示唆された。又，本因子はAH-130癌細胞自身の増殖促進効果をも示した。この事は癌細胞の自己増殖能を示唆する成績である。

又，精製過程のHeparin-Sepharose chromatographyの段階で，本因子と血清鉄低下因子が異なった画分に溶出されることが明らかになり，山村・藤井により呈称されたtoxohormone complex th theoryが裏付された。

次に，本因子とEGFの作用機構について比較検討した。EGFはreceptorと結合し。receptor のリン酸化を行ない，clustering及びinternalizationを受け，更にlysosomeでの分解という一連の過程が考えられているが，どの段階で細胞増殖の引金となっているかは今だ不明な点が多い。

そこで，膜表面を修飾するものとしてphospholipase C及びtrypsin，clustering～internalization或はlysosomal degradationを阻害すると言われているalkylamine，lysosome内の種々cathepsinを阻害するleupeptin等についてEGFと比較したところ差異は認められなかった。最近，calmodulinと細胞増殖との関連性について報告されている。そこでcalmodulin antagonist（TFP，W-7）を細胞に作用させたところ，EGFと同様に本因子の細胞増殖促進効果が阻害された。

最近，EGFによるreceptorのリン酸化が報告され細胞増殖の初期段階の反応として注目されている。そこで，AH-130癌細胞由来の細胞増殖促進因子を用いて膜蛋白のリン酸化について検討した。３Ｔ３細胞膜はThom，D.の方法により，肝細胞膜はHendrickson，H.らの方法により調整し，リン酸化反応は〔r-^{32}P〕ATPを用いCohen，S.及びGallis，B.らの方法で行なった。EGFはそのreceptorと考えられる分子量160Kの膜蛋白及び130Kの膜蛋白のリン酸化が認められた。しかし，本因子は分子量130Kのリン酸化は認められたが，分子量160Kの膜蛋白のリン酸化は認められず，又，本因子に特異的なリン酸化も認められなかった。以上の事より，ＥＧＦと本因子の反応の初期段階において異なる作用機構の存在する事が明らかとなった。

〔総　　括〕

AH-130癌細胞より癌組織に存在する細胞増殖促進因子を見い出し，精製を行ないその作用機構について検討した。

細胞増殖促進因子を粗抽出液より約6,900倍に精製した。本因子は等電点pI 5.5，分子量約60,000の蛋白質様物質であった。又，本因子は自己増殖促進効果を示すことが認められた。

従来より作用機構の良く調べられているEGFと比較すると，receptor binding～lysosomal degradationについては著明な差異を認めなかったが，膜蛋白のリン酸化に関して，EGFは分子量160Kの膜蛋白のリン酸化を促進するが本因子では認められず，ＥＧＦと本因子との間には反応の初期

段階において明らかな差異が認められた。

論文の審査結果の要旨

担癌生体における変動をもたらす因子について生化学的に究明することは，癌宿主相関を調べる上で非常に重要である。本論文は癌細胞から逸脱し担癌肝に作用しＤＮＡ合成系酵素を上昇させる因子について，細胞培養系を用いて，癌細胞由来の細胞増殖促進因子として精製し，その性質及び作用機構について他の既知の増殖因子，特にＥＧＦと比較し検討している。このことは担癌状態での作用機構と同様に，細胞の増殖機構を解明する上で非常に有意義な論文であると思われる。