

Title	ウサギ血清中の二種の細胞増殖阻害因子
Author(s)	木村, 敬
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36374
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)	き 木	むら 村	たかし 敬
学位の種類	理	学	博 士
学位記番号	第	8 5 5 4	号
学位授与の日付	平成元年3月24日		
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	ウサギ血清中の二種の細胞増殖阻害因子		
論文審査委員	(主査) 教授 堀尾 武一		
	(副査) 教授 中川 八郎 教授 松原 央		

論 文 内 容 の 要 旨

癌細胞の大きな特徴として生体内における異常な増殖性があげられる。最近、正常細胞および癌細胞の増殖制御機構の内、増殖促進因子 (Growth factor) による正の制御機構に関する多くの知見が報告されているのに対して、負の制御機構に関する知見は非常に少ない。そこで本研究では、正常細胞と癌細胞の負の制御機構に深く関与すると思われる種々の増殖阻害因子 (Growth inhibitor) を調べた。まず最初に、正常細胞と癌細胞の増殖を比較するための培養細胞系を確立した。培養細胞系として、軟寒天培地中および宿主であるラットの皮下で増殖できないラットの肝臓細胞由来の BRL細胞を正常細胞として、この細胞をラウス肉腫ウイルス (RSV) で形質転換させ癌化させた。その結果、癌化の指標である軟寒天中およびラットの皮下での増殖能を持った細胞株 (RSV-BRL) を得ることができた。そこで、BRL細胞と RSV-BRL細胞を、それぞれ、正常細胞と癌細胞として以後の実験を行った。

まず、BRL細胞と RSV-BRL細胞の増殖におよぼす種々の動物の血清の影響を調べた。その結果ラットとマウスの血清は、RSV-BRL細胞よりもBRL細胞の増殖を強く阻害し、逆に、ウサギの血清は、BRL細胞よりもRSV-BRL細胞の増殖を強く阻害することを見出した。ラットの血清中のBRL細胞に特異的な増殖阻害因子についてはすでに精製されその性質も調べられているので、本研究では主としてウサギの血清中に存在する細胞増殖阻害因子について調べた。まず最初にウサギ血清の細胞増殖阻害活性に対する酸処理による影響について調べたところ、BRL細胞に対する増殖阻害活性は酸処理により著しく活性化され未処理の血清とは逆にRSV-BRL細胞よりもBRL細胞の増殖が強く阻害された。この結果から、ウサギの血清中には生理的条件下で活性のあるものと酸処理により活性化されるものの2種の細胞増殖阻害因子の存在が考えられた。そこで、ウサギ血清中からこれらの細胞増殖阻害因子の精製を行なった。

生理的条件下で活性のある細胞増殖阻害因子はイオン交換クロマトグラフィ、水素結合クロマトグラフィ、アフィニティクロマトグラフィ、分子篩HPLCにより精製された。この増殖阻害因子は酸に不安定であり、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分子量70kの位置に単一バンドを示した。この因子のRSV-BRL細胞とBRL細胞に対する増殖阻害活性は血清の場合とよく一致した。RSV-BRL細胞以外にも数種の癌細胞の増殖を阻害するけれども、BRL細胞などの正常細胞の増殖はそれほど阻害しなかった。この増殖阻害因子のアミノ酸組成とN末端付近のアミノ酸配列を決定したところヒトのトランスフェリンとの類似性が認められた。

一方、酸処理で活性化される増殖阻害因子はイオン交換クロマトグラフィ、分子篩クロマトグラフィ、アフィニティクロマトグラフィ、イオン交換HPLC、逆相HPLCにより精製できた。この増殖阻害因子はSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によると分子量13kのところに単一のバンドを示し、RSV-BRL細胞に比べBRL細胞の増殖を強く阻害した。

以上のように、正常のウサギ血清中には生理的条件下あるいは酸性条件下で活性のある複数の細胞増殖阻害因子が存在していることがわかった。これらのうちBRL細胞に特異的な増殖阻害因子、および、RSV-BRL細胞に特異的な増殖阻害因子は生体内および培養細胞系において正常細胞と癌細胞の負の制御に関与している可能性があると思われる。

論文の審査結果の要旨

細胞の増殖はポジティブおよびネガティブな制御を受け、正常な細胞ではこれらの調和が取れている。細胞が癌化するとこれらの調和が乱れる。ポジティブな制御を行う因子についてはよく研究されており、種々の細胞から精製されている。しかし、ネガティブな制御を行う増殖阻害因子については、未知な点が多く残されている。

木村敬君は、ラットの正常な培養細胞(BRL)と、それを癌化させた培養細胞(RSV-BRL)の増殖に対して種々の動物の血清の効果を調べた結果、ウサギの血清は正常細胞よりも癌細胞を強く阻害したことに着目し、ウサギ血清中に癌細胞の増殖を特異的に阻害する因子の存在を予想した。

まず、ウサギ血清を酸処理したものおよび未処理のものについて、細胞増殖阻害活性を調べたところ、酸処理したものは、正常細胞に対してより高い活性を示し、一方、未処理のものは癌細胞に対してより高い活性を示すことを見いだした。この結果は、ウサギ血清中に細胞特異性を異にする2種の増殖阻害因子の存在を示唆した。予想通り、酸処理したものは正常細胞に対してより特異的な増殖阻害因子(GI-B)、未処理のものからは癌細胞に対してより特異的な増殖阻害因子(GI-A)を見だし精製することに成功した。後者はトランスフェリンに似たN-末端アミノ酸配列をもっていたけれども、界面活性剤を用いないと抽出効率が非常に低いなどトランスフェリンと異なる性質も持っていること、および、トランスフェリンは増殖阻害活性を示さなかったことを考え合せ、互いに別種のものとして結論した。

上記の成果は、細胞癌化の分子機構を解明する上で高く評価されると思われ、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。