



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Analysis of Growth Inhibitory Action of Type $\beta$ Transforming Growth Factor (TGF- $\beta$ ) on Buffalo Rat Liver-derived Epithelial (BRL) Cells                                                                                                                  |
| Author(s)    | 黄, 偉達                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Citation     | 大阪大学, 1990, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37072">https://hdl.handle.net/11094/37072</a>                                                                                                                                                                                  |
| 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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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

|         |                                                                                                                                                                                                      |         |   |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|---|
| 氏名・（本籍） | 黄                                                                                                                                                                                                    | 偉       | 達 |
| 学位の種類   | 理                                                                                                                                                                                                    | 学       | 博 |
| 学位記番号   | 第                                                                                                                                                                                                    | 9 0 5 6 | 号 |
| 学位授与の日付 | 平成 2 年 3 月 24 日                                                                                                                                                                                      |         |   |
| 学位授与の要件 | 理学研究科生物化学専攻<br>学位規則第 5 条第 1 項該当                                                                                                                                                                      |         |   |
| 学位論文題目  | Analysis of Growth Inhibitory Action of Type $\beta$<br>Transforming Growth Factor (TGF- $\beta$ ) on Buffalo Rat<br>Liver-derived Epithelial (BRL) Cells<br>BRL 細胞に対する TGF- $\beta$ の増殖阻害作用機構に関する研究 |         |   |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 中川 八郎                                                                                                                                                                                     |         |   |
|         | (副査)<br>教授 畠中 寛 教授 浅野 朗 助教授 角野富三郎                                                                                                                                                                    |         |   |

## 論文内容の要旨

ベータ型トランスフォーミング増殖因子 (TGF- $\beta$ ) は、分子量 25,000 のタンパク質で、Murine sarcoma 細胞の酸・エタノール抽出物から、上皮増殖因子 EGF の存在下で繊維芽細胞 NRK の軟寒天中での増殖を促進する因子として発見された。しかし、その後の研究で TGF- $\beta$  は単層培養で多くの細胞の増殖を強く阻害し、強力な増殖阻害因子であることが分かった。しかし TGF- $\beta$  には、EGF などの増殖因子のようなチロシンキナーゼ活性を有するレセプターによる情報伝達系が存在せず、その作用機構はほとんど分かっていない。

本研究では、TGF- $\beta$  によって強く増殖阻害されるラット肝臓由来の上皮性細胞 BRL を用いて、TGF- $\beta$  の細胞増殖阻害作用機構に関する研究を行い、以下の結果を得た。

1. TGF- $\beta$  は BRL 細胞の細胞周期を G<sub>1</sub> 期において著しく延ばした。また、DNA 合成に関与している c-myc 遺伝子の発現を顕著に抑えた。
2. TGF- $\beta$  は BRL 細胞において、フィブロネクチンおよび PAI-I (Type I plasminogen activator inhibitor) の合成を著しく促進した。しかし、フィブロネクチンと PAI-I そのものの BRL 細胞の増殖に及ぼす影響は見られなかった。
3. TGF- $\beta$  は BRL 細胞の細胞骨格アクチン遺伝子の発現およびマイクロフィラメントの形成を著しく促進した。二次元電気泳動では、5 種類の等電点の異なるアクチン分子が TGF- $\beta$  によって誘導されることが認められた。また、十数種の細胞にわたって細胞骨格に取り込まれたアクチンを定量分析した結果、アクチンフィラメントの増加と細胞増殖阻害に密接な関係が見られた。さらに、アクチンフィラメントのプラス末端に結合し、同フィラメントの成長を阻害する物質であるサイトカラシン B を添加

することで、 $TGF-\beta$ によって阻害されたBRL細胞の増殖の回復が見られた。この事実は、マイクロフィラメントが細胞増殖の制御に重要な役割を持っていることを強く示唆している。

4. 百日咳毒素は濃度依存的に $TGF-\beta$ によって阻害されたBRLの増殖を回復させた。また、サイクリックAMPの誘導体である $Bt_2cAMP$ や、サイクリックAMPホスホジエステラーゼの阻害剤であるカフェインを用いても、BRL細胞の増殖を回復させることができた。実際に細胞内のサイクリックAMPを測定したところ、 $TGF-\beta$ の作用でサイクリックAMPの濃度の低下が認められた。従って、 $TGF-\beta$ はアデニル酸シクラーゼの活性を制御している $G_1$ タンパクを通じて、細胞内のサイクリックAMPの濃度を下げることによって細胞増殖を阻害すると考えられる。

しかし、アデニル酸シクラーゼの活性をアデノシンで阻害したところ、細胞の増殖は阻害されたものの、 $TGF-\beta$ によって阻害された時の形態と大きく異なり、アクチンやPAI-Iの発現も見られなかった。従って、 $TGF-\beta$ がBRL細胞の増殖を阻害する経路は少なくとも二つあると考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

動物細胞の増殖は正および負の調節を受けている。細胞増殖を促進する蛋白質についてはかなり研究が進んでいるけれども、これとは逆に、増殖を阻害する蛋白質については未知な点が多い。

黄偉達君はヒト血小板から上皮性細胞の増殖を阻害する蛋白質を精製し、アミノ酸配列を解析した結果、 $TGF-\beta$ と同じであることを見出した。その後、ラット肝臓由来の培養細胞に対する $TGF-\beta$ の作用を研究し、以下の知見を得た。

- 1) 細胞骨格のアクチンフィラメントの形成を促進する
- 2) フィブロネクチンおよびプラスミノゲン活性化阻害因子の合成を促進する。
- 3) サイクリックAMPの濃度を低下させる
- 4) 細胞周期中の $G_1$ 期を延長させる

以上の研究結果は、細胞増殖における負の調節機構を解明する上で重要な発見であり、理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認める。