



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Roles of Transforming Growth Factor $\beta$ in Inhibition of Androgen-induced Growth of Shionogi Carcinoma Cells in Serum-free Medium                                                                                                                                |
| Author(s)    | 山西, 博司                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Citation     | 大阪大学, 1991, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37694">https://hdl.handle.net/11094/37694</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              | 山 西 博 司                                                                                                                                                                                                                         |
| 博士の専攻分野<br>の 名 称 | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                                       |
| 学 位 記 番 号        | 第 9 9 2 0 号                                                                                                                                                                                                                     |
| 学位授与年月日          | 平成 3 年 10 月 14 日                                                                                                                                                                                                                |
| 学位授与の要件          | 学位規則第 4 条第 2 項該当                                                                                                                                                                                                                |
| 学 位 論 文 名        | Roles of Transforming Growth Factor $\beta$ in Inhibition of<br>Androgen-induced Growth of Shionogi Carcinoma Cells in<br>Serum-free Medium<br>(無血清培養系におけるシオノギ癌細胞のアンドロゲン依存性増殖<br>に対する Transforming Growth Factor $\beta$ の抑制機構) |
| 論文審査委員           | (主査)<br>教 授 松本 圭史<br>(副査)<br>教 授 松田 暉 教 授 北村 幸彦                                                                                                                                                                                 |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

Transforming Growth Factor  $\beta$  は多くの癌細胞や正常細胞によって産生される増殖因子で、種々の細胞に対して分化や増殖の促進、抑制などの作用を有することが知られている。なかでも増殖抑制作用について最近多くの研究がなされているが、その機構については未だ不明の点が多い。一方、我々の教室でアンドロゲン依存性マウス乳癌であるシオノギ癌 (SC115) より樹立したクローン株 SC-3 細胞は、無血清培地にてアンドロゲン刺激下に自らが分泌するヘパリン親和性増殖因子 (Heparin-binding growth factor: HBGF) を介して増殖することが判明しているが、SC-3 細胞のアンドロゲン依存性増殖もまた、TGF  $\beta$  によってほぼ完全に抑制される。そこで今回、この SC-3 細胞の無血清培養系を用いて TGF  $\beta$  による細胞増殖抑制の機構について検討した。

### 〔方 法〕

#### 1. 細胞増殖促進効果の評価

無血清培養液 [Ham's F-12: MEM=1:1 (v/v)] 中における SC-3 細胞への [ $^3$ H] thymidine の取り込み、及び SC-3 細胞の細胞数の変化にて評価した。

#### 2. 無血清培養上清 [Conditioned Medium (CM)] の採取及びアンドロゲン誘導性増殖因子 (HBGF) の精製

SC-3 細胞を Dextran-coated charcoal で処理した fetal calf serum (DCC-FCS) 2% を含む Eagle's minimum essential medium (MEM) で plating し、24 時間後に 0.1% の bovine ser-

um albumin (BSA) を含む無血清培養液に交換。さらに24時間後、 $10^{-8}$  M testosterone (T) 単独または T+TGF  $\beta$  (1 ng/ml) を添加した無血清培養液に交換し、2日後、4日後にその培養上清 (CM) を回収した。回収したCMは限外濾過にて約20倍に濃縮した後、heparin-Sepharose (H-S) affinity column にかけて、0.3 ~ 2.3 M の NaCl を含む 10 mM Tris buffer にて溶出した。溶出した各分画は無血清培養液で透析した後、増殖促進効果を [ $^3$ H] thymidine の SC-3 細胞への取り込みにて評価し、peak fraction を部分精製した HBGF として用いた。

### 3. アンドロゲンおよび FGF リセプターアッセイ

アンドロゲンリセプターは [ $^3$ H] testosterone を用い suspension 系で、FGF リセプターは  $^{125}$  I -bFGF を用い monolayer 系にて binding assay を行った。

### 〔結果〕

1. 無血清培養条件下で、 $10^{-8}$  M testosterone の刺激による SC-3 細胞の増殖は 1 ng/ml の TGF  $\beta$  によってほぼ完全に抑制された。一方、アンドロゲン刺激下の CM から得られたヘパリン親和性の増殖因子 (HBGF) による SC-3 細胞の増殖は 10 ng/ml の TGF  $\beta$  によっても約 45% しか抑制されなかった。
2. アンドロゲン刺激下の SC-3 細胞から得られた CM 中には、H-S column により NaCl 濃度 1.3 M で溶出される強い増殖促進活性が認められた。これに対し TGF  $\beta$  (1 ng/ml) 共存下に得られた CM では、同 NaCl 濃度で溶出される増殖促進活性は弱く、TGF  $\beta$  非存在下の CM に比べ約 18% に減少していた。
3. TGF  $\beta$  による SC-3 細胞の増殖抑制は細胞障害性のものではなく、TGF  $\beta$  を除去することによって SC-3 細胞は可逆的に増殖した。
4. SC-3 細胞のアンドロゲンリセプターは、TGF  $\beta$  を 24 時間作用させた後も Kd, リセプター数共に有意な変化を示さなかった。また、HBGF は SC-3 細胞の FGF リセプターを介して作用すると考えられているが、FGF リセプターの Kd 及びリセプター数にも、TGF  $\beta$  による影響はみられなかった。

### 〔総括〕

SC-3 細胞はアンドロゲン刺激によってヘパリン親和性の自己増殖因子を無血清培養上清中に分泌して増殖する。一方、TGF  $\beta$  は SC-3 細胞のアンドロゲン依存性増殖に対し著明な抑制効果を示す。この TGF  $\beta$  による増殖抑制機構は 1) アンドロゲンで刺激された SC-3 細胞によるヘパリン親和性自己増殖因子の産生あるいは分泌、および 2) 自己増殖因子が SC-3 細胞のリセプターに結合した後の増殖機構の 2 ケ所に作用していると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) は、アンドロゲン依存性癌であるシオノキ癌 SC115 由来のクローン株 SC-3 細胞に対して、著しい増殖抑制作用を示す。本研究はこの TGF  $\beta$  による増殖抑制の機構について研究したものである。SC-3 細胞はアンドロゲン誘導性に自らが分泌する増殖因子を介して増殖することが判明しているが、本研究では TGF  $\beta$  がこの SC-3 細胞による自己増殖因子の分泌を強く抑制していることが明らかにされた。現在まで、外因性の増殖因子の作用に対する TGF  $\beta$  の抑制機構については多くの研究がなされているが、autocrine mechanism で増殖する系に対してどの様に増殖抑制作用を発揮するのかについては全く解明されていない。本研究は、SC-3 細胞の無血清培養系を用いることによってこれを明らかにしており、TGF  $\beta$  による増殖抑制の一つの作用経路を示したものとして注目される。故に、学位を授与するに値すると考える。