



Title	Roles of Transforming Growth Factor β 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	https://hdl.handle.net/11094/37694
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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 の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 9920 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 β in Inhibition of Androgen-induced Growth of Shionogi Carcinoma Cells in Serum-free Medium (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 に対する Transforming Growth Factor β の抑制機構)
論文審査委員	(主査) 教授 松本 圭史 (副査) 教授 松田 暉 教授 北村 幸彦

論文内容の要旨

〔目的〕

Transforming Growth Factor β 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 β 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 β 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 β (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 にかき、0.3 ~ 2.3 MのNaClを含む10mM 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 β 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 β 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 β (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 β 非存在下のCMに比べ約18%に減少していた。
3. TGF β 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 β 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 β 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 β 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 β 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 β 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ヶ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 β (TGF β) は、アンドロゲン依存性癌であるシオノギ癌 SC 115 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 β 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 β 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 β 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 β 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。