



Title	A role of heparan sulfate for androgen-induced DNA synthesis of mouse mammary carcinoma (Shionogi Carcinoma 115) -derived SC-3 cells.
Author(s)	住谷, 哲
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38145
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

氏 名	住 谷 哲
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 6 5 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 5 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	A role of heparan sulfate for androgen-induced DNA synthesis of mouse mammary carcinoma (Shionogi Carcinoma 115) -derived SC-3 cells. (マウス乳癌 SC-115 由来樹立細胞株 SC-3 のアンドロゲン誘導性 DNA 合成におけるヘパラン硫酸の役割)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岸 本 忠 三 (副査) 教 授 谷 口 直 之 教 授 北 村 幸 彦

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

これまでヘパリン様分子と高い親和性を示す増殖因子の存在が報告されている。しかしこの結合の生物学的意義には不明の点が多い。特にこれらの増殖因子産生細胞から受容体結合にいたる過程でのヘパリン様分子の役割は未解決のままである。一方シオノギ癌由来樹立細胞株 SC-3 はアンドロゲン刺激によりヘパリン結合性増殖因子を誘導し、細胞表面に発現している FGF 受容体に結合することにより増殖が促進されることが明らかとなっている。そこで本研究においては、この細胞を用いてアンドロゲン誘導性増殖因子 (AIGF) による細胞増殖におけるヘパラン硫酸の役割を検討した。

(方 法)

1) 細胞培養および DNA 合成測定

SC-3 細胞は 10^{-8} M テストステロン (T) を含む 2 % FBS-MEM を用いて継代した。DNA 合成は、SC-3 細胞を無血清培地下に種々の試薬を添加して培養し、24 時間後の $[^3\text{H}]$ thymidine の取り込みを指標として測定した。

2) AIGF の抽出と測定

SC-3 細胞を T 単独又は T + 25mM chlorate 添加にて培養した。一定時間後に Conditioned Medium (CM), 細胞表面及び細胞外基質 (ECM) より 2 M-NaCl を含む buffer で抽出した分画 (Total Extract), 細胞を 0.5 % Triton X-100 を含む buffer で除去した後に残存する ECM より抽出した分画に分け、各分画中に含まれる増殖因子を SC-3 細胞の DNA 合成を指標として測定した。

3) グリコサミノグリカン (GAGs) の測定

10^{-8} MT の刺激下で、SC-3 細胞を $[^{35}\text{S}]$ sulfate を用いて標識した。細胞表面及び ECM に存在する GAGs を Tryptsin-Pronase 法にて抽出し、DEAE-Sephacel カラムによって分画した後、CPC-Ethanol 法にて沈澱可能な放射可能な放射性を測定した。

(成 績)

1) アンドロゲン誘導性増殖因子の分布

T 添加後の DNA 合成開始時 (12-24 時間) において、大部分の AIGF は Total Extract 中に存在していた。

2) heparitinase 及び chlorate の T 誘導性 DNA 合成に及ぼす影響。

ヘパラン硫酸分解酵素である heparitinase 及び GAGs への sulfate の取り込みを阻害する chlorate の T 誘導性 DNA 合成に対する影響を検討した。heparitinase は濃度依存性に T 誘導性 DNA 合成を抑制した。しかしコンドロイチン硫酸分解酵素である chondroitinase では有意な抑制効果はみられなかった。次に chlorate について検討した所、chlorate は T 誘導性 DNA 合成を濃度依存性に抑制し、この抑制は過剰の sulfate を加えることにより、抑制の解除が観察された。以上の結果は T 依存性細胞増殖においてヘパラン硫酸が重要な役割を果たしていることを示唆している。

3) ヘパラン硫酸の作用機構の検討

SC-3 細胞を [^{35}S] sulfate で標識して検討した所、T は GAGs の合成に影響を及ぼさなかった。さらに chlorate を用いてヘパラン硫酸の合成を阻害しても、AIGF の合成ならびに細胞内外における分布に有意な変化はみられなかった。しかし、chlorate を用いてヘパラン硫酸の合成を阻害すると、外因性に加えた AIGF による DNA 合成は著明に低下した。以上の結果は T はヘパラン硫酸の合成には影響を与えなかったが、AIGF の作用発現にヘパラン硫酸が必須であることを示唆している。

(総括)

SC-3 細胞の T 誘導性 DNA 合成において、ヘパラン硫酸の存在が重要であり、その役割は細胞近傍に増殖因子を濃縮し、かつその作用を増強する点にあると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、アンドロゲン刺激によりヘパリン結合性増殖因子を分泌し、この因子を介して自己増殖するシオノギ癌由来樹立細胞株 SC-3 を用いて、ヘパリン結合性増殖因子を介する細胞増殖におけるヘパラン硫酸の役割を検討したものである。その結果ヘパラン硫酸には、ヘパリン結合性増殖因子を細胞近傍に濃縮し、かつその作用を増強することが明らかとなった。

これらの成果は、ヘパラン硫酸の細胞増殖調節機構の解明に寄与し、博士論文に値するものである。