

## Growth Factor の基礎と臨床

Recent Advances in Research on the Cell Growth Factors

第 434 回新潟医学会

日 時 昭和62年12月12日(土) 午後2時から  
会 場 新潟大学医学部研究棟第Ⅱ講義室

司 会 柴田 昭(第一内科)

演 者 鈴木利光(福島医大第二病理), 三井宏美(理学部), 渡部久実(医動物学), 森 和博(理学部), 鳥羽 健  
(第一内科), 平沢由平(信楽園病院)

### 1) NGF (nerve growth factor)

福島県立医大第二病理 鈴木 利 光

Toshimitsu SUZUKI

*Second Department of Pathology, Fukushima Medical College*

Nerve growth factor (NGF), of which activity had been found 40 years ago, is a typical and classical growth factor, and has been extensively studied by Rita Levi-Montalcini and her co-workers. In this symposium, we reviewed briefly tissue distribution and physiological action of NGF, and NGF-sensitive cell populations.

We also described the experiments with use of PC12h, a rat pheochromocytoma cell line which responds to not only NGF but also dbcAMP. Comparative study revealed that both agents induced morphological differentiation of PC12h by different ways which included rapid (dbcAMP) and delayed (NGF) induction of neurite outgrowth, and difference in frequency of differentiated cells induced. Moreover, NGF did dramatically increase in the immunoreactivity of insulin-like growth factor (IGF)-II in

---

Reprint requests to: Toshimitsu SUZUKI,  
Second Department of Pathology, Fukushima  
Medical College 1-Hikariga-oka, Fukushima-shi,  
960-12, JAPAN.

別刷請求先: 〒960-12 福島市光が丘 1  
福島県立医大病理学第2 鈴木 利 光

PC12h, whereas dbcAMP did not. This result indicated that NGF might induce morphological differentiation of PC12h through the IGF-II produced by PC12h under NGF-stimulation, since the IGF-II but not the NGF has been reported to augment the level of tubulin mRNAs in a human neuroblastoma cell line prior to occurrence of neurite outgrowth.

Key words: nerve growth factor, PC12h, differentiation, IGF-II.

神経成長因子, PC12h, 分化, IGF-II

## は じ め に

成長因子の老舗, NGF は全く偶然に発見された. 丁度40年前の1948年, Bueker はニワトリ胚の体壁にマウス肉腫 (sarcoma 180) の組織片を移植する実験を行っていた. その時, 移植部位を支配する後根神経節が著明に肥大することに気付いた<sup>1)</sup>. これが NGF 発見の端緒となる. しかし, 彼自身はこの事実の示す異常さに淡白であった. が, 同じ研究室にいた Rita Levi-Montalcini は強い興味を示し, 彼女自身のことばによれば, NGF 捕物帖 (detective story)<sup>2)</sup> が開始されることになる. そして, この効果は肉腫細胞の産生する液性因子によってもたらされること, マウス顎下腺にも同様の効力をもつ物質が多量に存在すること<sup>3)</sup>, その単離・精製による性状の特徴<sup>4)6)</sup>, 生理作用<sup>2)</sup> などが次々に明らかにされた.

成長因子の研究は目下開花期を迎えた観があるが, その基礎を築いた彼女の業績に対して, 1986年, ノーベル医学生理学賞が与えられた. NGF の研究は, しかし, 終わった訳ではない. ヒトとマウスの prepro NGF の構造もすでに明らかにされた<sup>7,8)</sup> が, その作用機序, 中枢神経における働き, 唾液腺・前立腺 NGF の役割など, まだ多くの課題が残されている. したがって, NGF は今後も成長因子研究のメインロードを歩むことと思われる.

本シンポジウムでは NGF の分布, 主な生理作用, NGF 感受性細胞を用いた実験的研究について述べる. その他の点は解説書に譲りたい<sup>9,12)</sup>.

### 1. 組織分布

NGF は雄マウス顎下腺に多量に存在するが, その他にジャコウネズミ (suncus) の唾液腺にも多く含まれる. また, モルモット, ウサギ, ウシの前立腺にも大量に含まれている. 唾液腺の NGF は顆粒管細胞 (ネズミに特有の外分泌顆粒をもつ導管部分) に局在<sup>13,15)</sup> し,

その成熟分泌顆粒に含まれる<sup>16)</sup>. しかしこれらの NGF がどのような生理学的な役割を果たしているのかは不明のままである. 中枢神経の発達の盛んな胎児期に唾液腺 NGF は存在しないこと<sup>3)</sup>, 種族差の存在, 同じマウスでも性差が顕著であることなどから, 神経細胞の分化・成熟に直接関与している可能性は否定的である.

神経組織では末梢交感神経節と中枢神経のラット海馬<sup>17)</sup> に, ついで前脳基底野大型コリナージックニューロン系に NGF と NGF mRNA とが特異的に存在することが明らかにされた<sup>18,21)</sup>. また, 培養された神経膠細胞も in vitro で NGF を産生・放出することが報告されている<sup>22,23)</sup>.

一般に神経組織の発達, 生存はその標的臓器 (細胞) の産生する物質 (trophic substance) に依存している<sup>24)</sup>. NGF の場合にもこの現象がみられる. 虹彩は通常は NGF を全く産生しないが, 培養あるいは前眼房への移植によって神経支配を断ち切った状態にすると, NGF を産生するようになる<sup>25)</sup>.

### 2. 感受性細胞

いずれにしろ神経組織の NGF の含有量は低く, 鋭敏な方法でも検出できない<sup>26)</sup>. 恒常的に産生・放出されていないのか, ごく微量が局所的に働いている物質なのかもしれない. しかし, その効果は絶大で, ニワトリ胚後根神経節を培養皿におき, NGF を加えると著明に神経線維が伸びることは良く知られている. その他に, ニワトリ胚の交感神経細胞, 新生仔ラットの副腎髄質細胞<sup>27,28)</sup> および副交感神経細胞<sup>29)</sup> などが NGF 感受性を示す. また, 株細胞としてはラット褐色細胞腫 PC12<sup>30)</sup> およびその亜株が有名である. ヒト神経芽腫培養細胞株の中にも NGF に反応し, 分化を遂げるものもあるが<sup>31,33)</sup>, その数は少ない.

### 3. 生理作用

NGF はリセプターを介して胞体内にとりこまれ, 軸索の終末から逆行輸送により胞体の深部, 核周囲領域に

到達する。これは、 $[^{125}\text{I}]$  NGF を用いた実験によって交感神経細胞や知覚神経細胞で確認されている<sup>34,35)</sup>。NGF は一つには神経細胞の機能を亢進させる作用がある。つまり、NGF をとりこんだ細胞が交感神経細胞であればカテコールアミン<sup>36)</sup>、知覚神経細胞であればP物質<sup>37)</sup>の合成が、また、コリナージックニューロンであればアセチルコリン合成酵素の活性が上昇する<sup>38~41)</sup>。一方、前述の PC12 細胞でもカテコールアミン<sup>30)</sup>、ニューロテンシン<sup>42)</sup>の合成が亢進する。その他に知覚神経ではソマトスタチン、CCK、VIP の増量することが報告されている<sup>43,44)</sup>。一方、NGF には神経細胞の存在を維持する作用（神経栄養効果）がある。これは Kromer の次のような実験で *in vivo* でも確認されている。彼は、ラット大脳の一部を破壊した後、片方の側脳室は無処理にし、一方の側脳室に NGF を持続注入すると、注入側ではニューロンの変性・壊死がおこらないばかりかコリンアセチルトランスフェラーズの活性も高いことを示した<sup>45)</sup>。NGF がニューロンの生存と機能を維持した訳である。それにとどまらず、NGF は加齢により萎縮し、機能の低下した神経細胞をほぼ正常の状態に戻す作用もあるらしい<sup>46)</sup>。それに伴い、行動様式の改善もみられる<sup>46)</sup>。

ごく最近、津久井らは、ラット脳中枢野神経細胞に NGF を添加して培養すると、胎仔から生後数日までの未熟ニューロンは NGF によって分化・成熟し、アセチルコリン合成能が高まるが、2 週令前後のラットのニューロンではもはや分化はみられず、その生存が支えられるにすぎないと述べている<sup>47)</sup>。このことは、NGF の二つの作用が標的ニューロンの成熟度によって規定されていることを物語る。

#### 4. PC12 細胞に対する NGF の作用：dbcAMP との比較を中心に

PC12 細胞の亜株 PC12h は晶中によってクローニングされた株である<sup>48)</sup>。NGF 処理により tyrosine hydroxylase 活性が上昇するという特性をもつ<sup>48)</sup>。通常の培養条件下では全く突起を伸ばさない。が、NGF あるいは dbcAMP で処理すると、神経突起を著明に伸ばす（図 1）。胞体も大きくなる。セルベレット切片で胞体の直径を測定すると、無処理群； $8.0 \pm 1.6 \mu\text{m}$ 、NGF 群； $11.8 \pm 3.9 \mu\text{m}$ 、dbcAMP 群； $16.8 \pm 4.4 \mu\text{m}$  である。また、突起の伸長を示す細胞の比率は、dbcAMP では2日で30%、6日で40%。その後は増加しない。一方、NGF では反応が遅く、4日でようやく25%、6日で50%、12日で90%である。NGF は効果の発現に手間

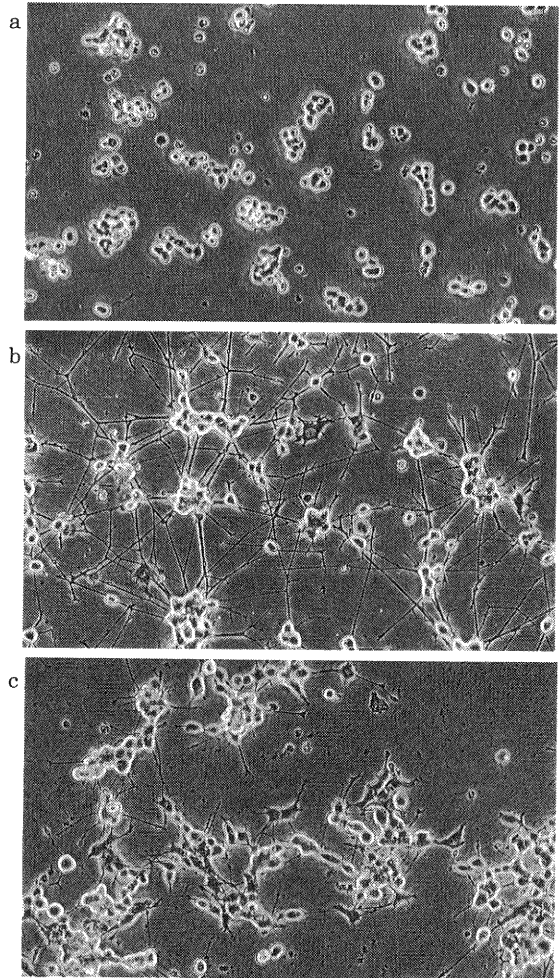


図 1 無処置 (a) と NGF (100ng/ml) および 1mM dbc AMP を加えてそれぞれ12日間、3日間培養した PC 12h 細胞 (b) と (c)。NGF 処理によって、dbc AMP 処理よりも高度に細胞の突起が伸びる。

取るが、dbcAMP より多くの細胞により高度の形態変化を誘導する。

PC12h は多数の神経分泌顆粒をもつ。NGF 処理群ではノルアドレナリン顆粒と円形のペプチド含有顆粒（図 2）とが増加する。それに対応し、免疫細胞化学による陽性細胞が増加する（表 1）。特に methionine-enkephalin, serotonin, neuropeptide Y, calcitonin-related peptide, VIP, PHI 陽性細胞の増加が目立つ。就中、insulin-like growth factor-II (IGF-II) の免疫活性の上昇が著しい。他方、dbcAMP では tyro-

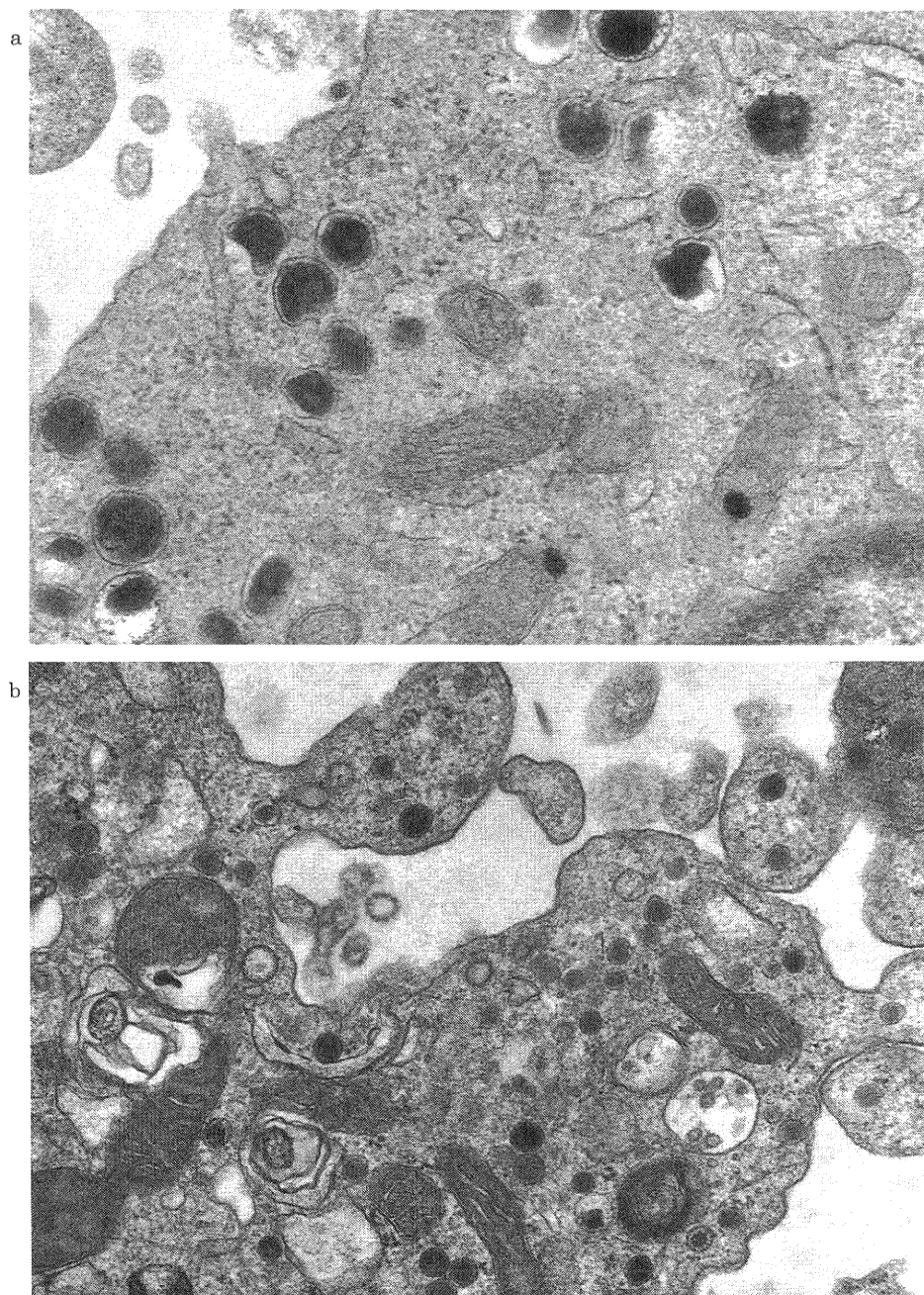


図 2 NGF を加えて 4 日間培養した PC12h 細胞の透過型電子顕微鏡像.  
ノルアドレナリン顆粒 (a) と有芯性円形顆粒 (b) が増加する  
(a, b:  $\times 20,000$ ).

**Table 1** Frequency of Immunoreactive Cells in PC12h\*

	Treated with		
	none	dbcAMP	NGF
Tyrosine hydroxylase	7.73	22.04	7.80
Met.-enkephalin	2.78	25.06	19.18
Chromogranin A	7.73	9.14	7.81
Serotonin	0.86	0	6.37
Neuropeptide Y	0.22	1.04	3.21
Calcitonin gene related peptide	0.26	0	3.90
Insulin-like growth factor-II	0	0	58.31
Vasoactive intestinal peptide	0	0	1.75
Peptide histidine isoleucine	0	0	1.29

\*The frequency was expressed as the positive cell number per  $10^4$  cells.

sine hydroxylase, methionine-enkephalin, chromogranin A などの陽性細胞が増える。が、IGF-II 陽性細胞はほとんど誘導されない。PC12h は、このように、カテコールアミンの産生能のみでなく、すでに副腎髄質細胞にその存在が認められている物質<sup>49)</sup> のほとんど全てを産生する能力をもっている。特に NGF が IGF-II の産生を亢進させることは興味深い。IGF-II がヒト神経芽腫細胞株の tubulin mRNA の発現を高め、神経突起を伸長することがすでに報告されている<sup>50)</sup>。NGF そのものは、しかし、68KDa の神経細線維蛋白の合成能は亢進する<sup>51)</sup> が、tubulin mRNA を増加させえない<sup>50)</sup>。したがって、NGF ではなく、NGF によって誘導される IGF-II が神経突起伸長の主役を演ずるものと推測される。NGF は dbcAMP に比べ、突起の伸長により時間をとるが、これも突起誘導に必要な量の IGF-II 合成に手間どるためと考えれば説明がつく。また、NGF には priming effect という特異な現象がみられる<sup>52)</sup>。低濃度 NGF で前処理された PC12 は誘導濃度の NGF にうつすと、間髪をおかず、すみやかに分化を遂げる。この前処理を priming と呼ぶ。これも、priming によって IGF-II 産生の準備が整えられていたので、速やかに分化がおこったものと解釈することができる。

NGF あるいは dbcAMP によって誘導された形態学的分化は、通常の培地にもどすと完全に消失する。つま

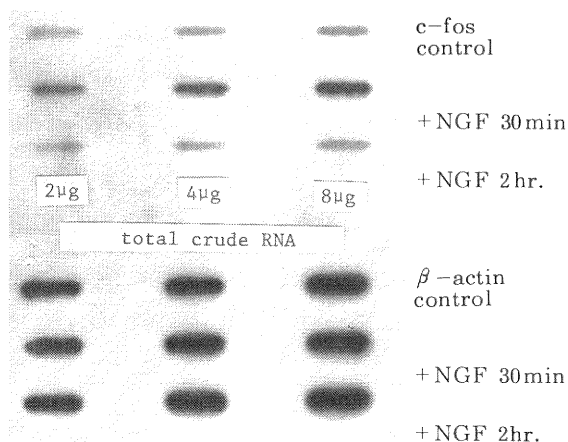


図 3 c-fos RNA は NGF 処理30分で数倍に増量するが、2時間的にはもとのレベルに戻る(上段)。下段は RNA 量の目安として示してある  $\beta$ -アクトチン RNA。

**Table 2** Effect of dbcAMP or NGF on PC12 Cells

	dbcAMP	NGF
Responsiveness	rapid	delayed
Reversibility	yes	yes
Priming	no	yes
Intracellular cAMP level	increased	stationary
IGF-II production	no	yes
Reduction of EGF-receptor	unknown	yes
c-fos mRNA	increased	increased

り、最終分化を遂げるまでには至っていない。

NGF の神経栄養効果は PC12h でも確認される。NGF を添加した培地では牛胎児血清を含まないにもかかわらず、培養7日目でも80%の細胞生存率を示す。が、NGF、血清とも含まない培地では、同日の生存率は50%にすぎない。

NGF は、癌遺伝子 c-fos を一過性に増幅させる<sup>53)</sup>。dbcAMP にも同様の作用があり<sup>53)</sup>、この点では両者に差はない。NGF-PC12h の系でもこの現象がみられる。NGF 処理後30分で c-fos mRNA が増量するが、2時間後にはもとのレベルに戻る(図 3)。fos 蛋白は myc 蛋白と同様細胞核に局在する。しかし、何故このように一過性に増加するのか、また、その生物学的役割、分化

との関連性などについては不明のままである。

PC12 細胞は NGF リセプターの他に上皮生長因子 (EGF) のリセプターを大量にもっている。NGF 処理によりこのリセプターの量は高度に減少する<sup>54)</sup>。分化しつつある細胞が分裂刺激 (EGF) に対する反応性をもたなくなるための合目的な仕組みではないかと推測されている。dbcAMP にもこのような作用があるか否かはまだ調べられていない。

これまで述べてきた NGF と dbcAMP の PC12h に対する作用を一括して表 2 に示す。両者にはかなりの差があり、その作用機序の異なることが明瞭である。

### おわりに

NGF はこの他に多くの作用を発揮する (文献 2, 11, 12を参照)。が基本的にはニューロンの分化とその生存

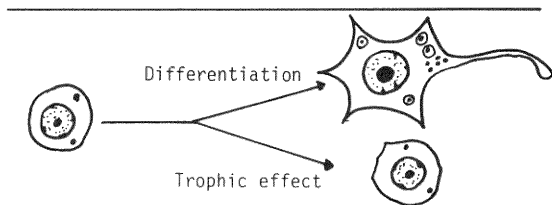


図 4 Biological Effect of NGF on PC12h Cell

維持という二つの役割にまとめることができる (図 4)。

NGF を中心とした神経栄養因子 (neurotrophic factors) の研究は月に 500以上の報告が出る程盛んである。特にここ 2～3 年は神経組織の修復、機能維持、老化と NGF の関わりについて、前脳基底野の大型コリナージュクニューロンに焦点がしばられてきている。

発見から 40 年。恥ずかしがり屋の NGF もようやく中枢神経において、本来の役割を我々の眼前に演じ始めようとしている。detective story が終り、新しい物語の始まる秋が到来したようである。

(謝辞: PC12h 細胞を御分与いただきました大阪大学蛋白質研究所畠中寛博士, 各種抗血清を御恵与いただきました県立静岡大学矢内原昇教授, 新潟大学脳研究所熊西敏郎教授, 新潟大学医学部第 1 内科伊藤正毅博士に深謝致します。また, c-fos mRNA の検索を快くひきうけて下さいました日本獣医畜産大学分子腫瘍学教室野村信夫博士に厚く御礼申し上げます。

なお, 本研究の一部は厚生省がん研究助成金によって行なわれたことを付記致します。)

### 参考文献

- 1) Bueker, E.D.: Implantation of tumors in the hind limb field of the embryonic chick and the developmental response of the lumbosacral nervous system. *Anat. Rec.*, **102**: 369～389, 1948.
- 2) Levi-Montalcini, R.: Developmental neurobiology and the natural history of nerve growth factor. *Ann. Rev. Neurosci.*, **5**: 341～362, 1982.
- 3) Levi-Montalcini, R. and Cohen, S.: Effects of the extract of the mouse submaxillary salivary glands on the sympathetic system of mammals. *Ann. NY. Acad. Sci.*, **85**: 324～341, 1960.
- 4) Bocchiani, V. and Angeletti, P.U.: The nerve growth factor: Purification as a 30,000-molecular-weight protein. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **64**: 787～794, 1969.
- 5) Cohen, S.: Purification of a nerve growth promoting protein from the mouse salivary gland and its neurocytotoxic antiserum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **46**: 302～311, 1960.
- 6) Varon, S., NOMura, J. and Shooter, E.M.: The isolation of the mouse nerve growth factor protein in a high molecular weight form. *Biochemistry*, **6**: 2202～2209, 1967.
- 7) Ullrich, A., Gray, A., Berman, D. and Dull, T.J.: Human  $\beta$ -nerve growth factor gene sequence highly homologous to that of mouse. *Nature*, **303**: 821～825, 1983.
- 8) Scott, J., Selby, M., Urdea, M., Quiroga, M., Bell, G.I. and Rutter, W.: Isolation and nucleotide sequence of a cDNA encoding the precursor of mouse nerve growth factor. *Nature*, **302**: 538～540, 1983.
- 9) 細胞成長因子 (日本組織培養学会編), pp. 8～20, 朝倉書店 (東京), 1984.
- 10) 細胞成長因子, Part II (日本組織培養学会編), pp. 5～10, 朝倉書店 (東京), 1987.
- 11) 畠中 寛: 神経成長因子 (NGF), 蛋白質核酸酵素, **29**: 1937～1954, 1984.

- 12) Greene, L.A.: The nerve growth factor: Biochemistry, synthesis, and mechanism of action. *Ann. Rev. Neurosci.*, **3**: 353~402, 1980.
- 13) Hazen-Martin, D.J. and Simson, J.A.V.: Immunocytochemical localization of nerve growth factor: Effects of fixation. *J. Histochem. Cytochem.*, **32**: 30~36, 1984.
- 14) Hazen-Martin, D.J., Landreth, G., and Simson, J.A.V.: Immuno-cytochemical localization of nerve growth factor in mouse salivary glands. *Histochem. J.*, **19**: 210~216, 1987.
- 15) Olson, L., Ayer-LeLievre, Ebendal, T. and Seiger, Å.: Nerve growth factor-like immunoreactivities in rodent salivary glands and testis. *Cell Tissue Res.*, **248**: 248~286, 1987.
- 16) Watson, A.Y., Anderson, J.K., Siminoski, K., Mole, J.E. and Murphy, R.A.: Cellular and subcellular colocalization of nerve growth factor and epidermal growth factor in mouse submandibular glands. *Anat. Rec.*, **213**: 365~376, 1985.
- 17) Crutcher, K.A. and Collins, F.: In vitro evidence for two distinct hippocampal growth factors: Basis of neuronal plasticity. *Science*, **217**: 67~68, 1982.
- 18) Korsching, S., Auburger, G., Heumann, R., Scott, J. and Thoenen, H.: Levels of nerve growth factor and its mRNA in the central nervous system of the rat correlate with cholinergic innervation. *EMBO J.*, **4**: 1389~1393, 1985.
- 19) Large, T.T., Bodary, S.C., Clegg, D.O., Weskamp, G., Otten, U. and Reichardt, L.F.: Nerve growth factor gene expression in the developing rat brain. *Science*, **234**: 352~355, 1986.
- 20) Buck, C.R., Martinez, H.J., Black, I.B. and Chao, V.: Developmentally regulated expression of the nerve growth factor receptor gene in the periphery and brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**: 3060~3063, 1987.
- 21) Bandtlow, C., Heumann, R., Schwab, M.E. and Thoenen, H.: Cellular localization of nerve growth factor synthesis by in situ hybridization. *EMBO J.*, **6**: 891~899, 1987.
- 22) Norrgrén, G., Ebendal, T., Belew, M., Jacobson, C.-O., and Porath, J.: Release of nerve growth factor by human glial cells in culture. *Exp. Cell Res.*, **130**: 31~39, 1980.
- 23) Furukawa, S., Jurukawa, Y., Satoyoshi, E. and Hayashi, K.: Synthesis/secretion of nerve growth factor is associated with cell growth in cultured mouse astroglial cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **142**: 395~402, 1987.
- 24) Hamburger, V.: Trophic interactions in neurogenesis: a personal historical account. *Ann. Rev. Neurosci.*, **3**: 269~278, 1980.
- 25) Ebendal, T., Olson, L., Seiger, Å. and Hedlund, K.-O.: Nerve growth factor in the rat iris. *Nature*, **286**: 25~28, 1980.
- 26) Furukawa, S., Kamo, I., Furukawa, Y., Akazawa, S., Satoyoshi, E., Itoh, K., and Hayashi, K.: A highly sensitive enzyme immunoassay for mouse  $\beta$ -nerve growth factor. *J. Neurochem.*, **40**: 734~744, 1983.
- 27) Lillien, L.E. and Claude, P.: Nerve growth factor is a mitogen for cultured chromaffin cells. *Nature*, **317**: 632~634, 1985.
- 28) Anderson, D.J. and Axel, R.: A bipotential neuroendocrine precursor whose choice of cell fate is determined by NGF and glucocorticoids. *Cell*, **47**: 1079~1090, 1986.
- 29) Collins, F. and Dawson, A.: An effect of nerve growth factor on parasympathetic neurite outgrowth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**: 2091~2094, 1983.
- 30) Greene, L.A. and Tischler, A.S.: Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**: 2424~2428, 1976.
- 31) Recio-Pinto, E. and Ishii, D.N.: Effects of insulin, insulin-like growth factor-II and nerve growth factor on neurite outgrowth

- in cultured human neuroblastoma cells. *Brain Res.*, **302**: 323~334, 1984.
- 32) Marchetti, D. and Perez-Polo, J.R.: Nerve growth factor receptor in human neuroblastoma cells. *J. Neurochem.*, **49**: 475~486, 1987.
- 33) Jensen, L.M.: Phenotypic differentiation of aphidicolin-selected human neuroblastoma cultures after long-term exposure to nerve growth factor. *Dev. Biol.*, **120**: 56~64, 1987.
- 34) Stoeckel, K., Schwab, M. and Thoenen, H.: Specificity of retrograde transport of nerve growth factor (NGF) in sensory neurons: a biochemical and morphological study. *Brain Res.*, **89**: 1~14, 1975.
- 35) Hendry, I.A., Stöckel, K., Thoenen, H. and Iversen, L.L.: The retrograde axonal transport of nerve growth factor. *Brain Res.*, **68**: 103~121, 1974.
- 36) Paravicini, U., Stoeckel, K. and Thoenen, J.: Biological importance of retrograde axonal transport of nerve growth factor in adrenergic neurons. *Brain Res.*, **84**: 279~291, 1975.
- 37) Goedert, M., Stoeckel, K. and Otten, U.: Biological importance of the retrograde axonal transport of nerve growth factor in sensory neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**: 5895~5898, 1981.
- 38) Martinez, H.J., Dreyfus, C.F., Jonakeit, G.M. and Black, I.B.: Nerve growth factor promotes cholinergic development in brain striatal cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 7777~7781, 1985.
- 39) Hefti, F., Hartikka, J., Eckenstein, F., Gnahn, H., Heumann, R. and Schwab, M.: Nerve growth factor increases choline acetyl-transferase but not survival or fiber outgrowth of cultured fetal septal cholinergic neurons. *Neuroscience.*, **14**: 55~68, 1985.
- 40) Mobley, W.C., Rutkowski, J.L., Tennekoon, G.I., Buchanan, K. and Johnston, M.V.: Choline acetyltransferase activity in striatum of neonatal rats increased by nerve growth factor. *Science*, **229**: 284~287, 1985.
- 41) Martínez, H.J., Dreyfus, C.F., Jonakait, G.M. and Black, I.B.: Nerve growth factor selectively increases cholinergic markers but not neuropeptides in rat basal forebrain in culture. *Brain Res.*, **412**: 295~3~1, 1987.
- 42) Tischler, A.S., Lee, Y.C., Slayton, V.W. and Bloom, S.R.: Kinetics of regulation of neurotensin content in PC 12 cells. *Life Sci.*, **33**: 347~351, 1983.
- 43) Kessler, J.A. and Black, I.B.: Similarities in development of substance P and somatostatin in peripheral sensory neurons: Effects of capsaicin and nerve growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**: 4644~4647, 1981.
- 44) Otten, U. and Lorez, H.P.: Nerve growth factor increases substance P, cholecystokinin and vasoactive intestinal polypeptide immunoreactivities in primary sensory neurons of newborn rats. *Neurosci. Lett.*, **34**: 153~158, 1983.
- 45) Kromer, L.F.: Nerve growth factor treatment after brain injury prevents neuronal death. *Science*, **235**: 214~216, 1987.
- 46) Fischer, W., Wictorin, K., Björklund, A., Williams, L.R., Varon, S., and Gage, F.H.: Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. *Nature*, **329**: 65~68, 1987.
- 47) 津久井弘子, 有松靖温, 武井延之, 畠中 寛: ラット中枢ニューロンの培養と NGF の役割. *組織培養研究*, **6**: 23~29, 1988.
- 48) Hatanaka, H.: Nerve growth factor-mediated stimulation of tyrosine hydroxylase activity in a clonal rat pheochromocytoma cell line. *Brain Res.*, **222**: 225~233, 1981.
- 49) Kondo, H.: Immunohistochemical analysis of the localization of neuropeptides in the adrenal gland., *Acta hist. jap.* **48**: 453~481, 1985.
- 50) Mill, J.F., Chao, M.V. and Ishii, D.N.: Insulin, insulin-like growth factor II, and



- nerve growth factor effects on tubulin mRNA levels and neurite formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 7126~7130, 1985.
- 51) Lindenbaum, M.H., Carbonetto, S. and Mushynski, W.E.: Nerve growth factor enhances the synthesis, phosphorylation, and metabolic stability of neurofilament proteins in PC 12 cells. *J. Biol. Chem.*, **262**: 605~610, 1987.
- 52) Burstein, D.E. and Greene, L.A.: Evidence for both RNA-synthesis-dependent and independent pathways in stimulation of neurite outgrowth by nerve growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**: 6059~6063, 1978.
- 53) Kruijer, W., Schubert, D. and Verma, I.M.: Induction of the proto-oncogene *fos* by nerve growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 7330~7334, 1985.
- 54) Lazarovici, P., Dickens, G., Kuzuya, H. and Guroff, G.: Longterm, heterologous down-regulation of the epidermal growth factor receptor in PC 12 cells by nerve growth factor. *J. Cell Biol.*, **104**: 1611~1621, 1987.

## 2) TGF

新潟大学理学部生物学科 三井宏美

## Transforming Growth Factor (TGF)

Hiromi MITSUI

*Department of Biology, Faculty of Science Niigata University*

Transforming growth factors (TGFs) were identified when transformed cell lines were shown to have reduced growth factor requirement and reduced number of binding site for EGF. TGF was shown to induce the reversible transformed phenotype in normal rodent cells grown in soft agar. Some properties of three types of TGFs  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  were described.

Growth regulatory factors other than TGF were produced simultaneously from many transformed cell lines.

An immunosuppressive factor (ISF) was identified as a protein having a molecular weight about 40 KDa, in a TGF fraction obtained from BMA-1 tumor cell extract. ISF inhibits the progression of cell proliferation at Go-G<sub>1</sub> phase transition.

---

Key words: transforming growth factor, immunosuppressive factor, cell cycle.

---

Reprint requests to: Hiromi MITSUI,  
KYOTO Pharmaceutical University  
Institute of Molecular and Cellular  
Biology for Pharmaceutical Sciences.  
Yamashina-ku, Kyoto, 607, JAPAN.

別刷請求先: 〒607 京都市山科区御陵四丁野町-1  
京都薬科大学・生命薬学研究所 三井宏美