

- 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

## はじめに

癌細胞が特異な細胞増殖制御因子を産生しているのではないかという考えは、我が国でも久留勝によるオコントロピン、中原和郎によりトキソホルモンとし提唱されていた。

我々はラウスザルコーマウイルス (RSV) による細胞の腫瘍化を研究中、1970年代の前半に、RSV により腫瘍化したトリの細胞の奇妙な増殖様式に気がついた。一般に動物細胞の増殖には動物の血清が必須であり、血漿はそれに代り得ない。ところが RSV により腫瘍化したトリの細胞は血漿中でもよく増殖し得るのである。このことから RSV により腫瘍化したトリ細胞は自ら何等かの増殖因子を産生し、その作用により細胞は血漿中でも増殖し得るのではないかと予測した。1977年になって RSV により腫瘍化したラット培養細胞株の一つ 77N1 は特異な増殖因子を産生していることをつきとめた。一方米国の G. Todaro らは全く別の発想からレトロウイルスで腫瘍化した細胞が特異な増殖因子を産生していることを1978年に報告した<sup>1)</sup>。彼らは長年にわたるネズミ肉腫ウイルスについての研究から、ウイルス産生細胞では産生されたウイルスがその細胞のウイルス受容体と結合し一見ウイルス受容体が消失したかみえる現象を観察していた。ネズミ肉腫ウイルスで腫瘍化した細胞は、対照細胞に比して上皮細胞増殖因子 (epidermal growth factor: EGF) の受容体が激減していることからこれらの細胞は EGF 様の増殖因子を産生している

のではないかと考えた。そして実際にこれら腫瘍細胞の無血清培養上清に肉腫 (由来) 増殖因子 (sarcoma growth factor) の存在を確認した。

これらの増殖因子はともにポリペプチド性ではあるが、それまでに知られていたポリペプチド増殖因子である EGF や PDGF (platelet derived growth factor) と異り、正常細胞に作用してこれを腫瘍細胞様の増殖様式を与える点で特徴的である。即ち正常細胞は培養器壁に接着することが細胞増殖にとって必須 (anchorage dependent) であるが、腫瘍化 (transform) した細胞は anchorage independent になる。新たにみつけられた上記の増殖因子の添加により正常細胞の増殖は腫瘍細胞同様 anchorage independent になる。実験的には半流動培地 (軟寒天) 中でコロニーを形成して増殖し得るようになる (図 1)。この作用は可逆的でコロニーを形成していた細胞をこの増殖因子のない状態で培養するとこの細胞は再び anchorage dependent になる。このような作用をもつところから、これらの増殖因子を総称して transforming growth factors: TGFs とし、他の増殖因子と区別することになった。走査電顕でみると flat な正常細胞 (図 2) は TGF の添加により紡錘型の腫瘍細胞型 (図 3) になる。種々の生化学的パラメーターも腫瘍細胞様になることが知られている。

Todaro らのみつけた SGF はその後の研究により TGF $\alpha$  と TGF $\beta$  の二成分からなり両者の共同作用にはより transforming 活性を示すことが明らかになった<sup>2)</sup>。我々の TGF は TGF- $\gamma$  と分類される。

## ANCHORAGE INDEPENDENT GROWTH STIMULATION OF BALB3T3 A31 CELLS BY THE TGF FROM 77N1 CELLS

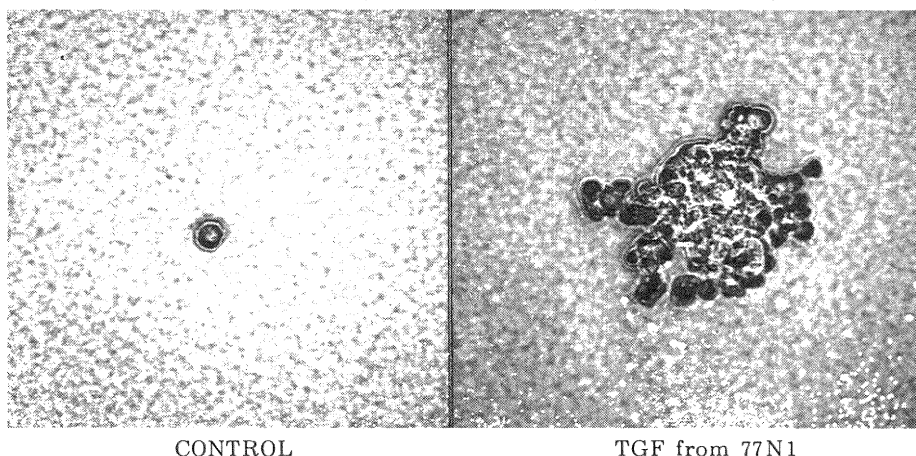


Fig. 1



Fig. 2

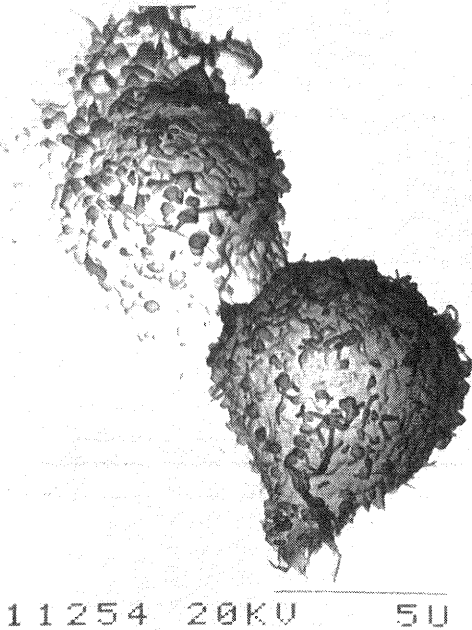


Fig. 3

### I. transforming growth factor (T.G.F)

**TGF- $\alpha$**  : EGF-like TGF と呼ばれ、50個のアミノ酸からなる単鎖ポリペプチドで分子内に3個のS-S結合をもつ。EGFと同じ受容体に結合する。TGF $\alpha$ はアミノ酸配列はEGFとよく似ているが、それをcodeする遺伝子は全く別個である。TGF $\alpha$ は次にのべるTGF $\beta$ の共存下ではじめて、transforming活性を示す。TGF- $\alpha$ はEGFと異なり成体では腫瘍細胞からのみ分泌されるようであり腫瘍マーカー（尿中のTGF- $\alpha$ の検出）としての利用が考えられている。

**TGF- $\beta$**  : 2本の相同の分子量12KDaのポリペプチドが9個の分子間S-S結合で2量体を形成して活性分子となる。EGF, TGF- $\alpha$ あるいはPDGFが結合して増殖可能になった細胞にTGF- $\beta$ が作用すると細胞は可逆的に腫瘍細胞の形質を示す。受容体は、はじめはTGF- $\beta$ 特異的な280KDa(140KDaのポリペプチドの二量体)のもののみと考えられていたが、そのごTGF- $\beta$ に異なるポリペプチド鎖をもつものが発見され、TGF- $\beta_1$   $\beta_1$  TGF $\beta_1$ - $\beta_2$  TGF $\beta_2$   $\beta_2$ の三種に分かれ、TGF- $\beta_1$   $\beta_1$ にのみ特異的な65KDa-85KDaの二本鎖の受容体の存在が知られるようになった。TGF- $\beta$ は細胞の種類及び培養条件により細胞の増殖阻害や分化誘導作用があり、生体内でも結合組織増生や骨形成の重要な制御因子でもあるようだ。更にTGFファミリーともいべき類似構造をもった生理活性因子(二種の卵胞ホルモン インヒピンとアクチピン, ミュラー管退化因子, 発生パターン形成因子等)が知られるようになり、TGF- $\beta$ が血小板・胎盤等に多量に含まれることと合せ、正常及び疾病時の多彩な生理作用が注目される。

**TGF- $\gamma$**  : TGF $\alpha$ や $\beta$ と異なるTGFがあるという報告は多数あったが、精査の結果そのほとんどはTGF- $\beta$ であった。その中で平井, 山岡, 三井<sup>3)4)</sup>らが報告したTGF- $\gamma_2$ はアミノ酸配列, 分子量からみて全く新しい分子種であり、熱・酸に不安定な点でも他のTGFとは異なる。TGF- $\gamma_2$ はトリ肉腫ウイルスにより腫瘍化したラット細胞株77N-1の細胞抽出液より、硫酸分画, イオン交換クロマト, クロマトフォーカシング, ゲル濾過により単離された分子量12KDaの単鎖ポリペプチドである。その遺伝子及び受容体は目下解析中である。

### II. 細胞増殖阻害因子

腫瘍細胞は増殖因子とともに増殖阻害因子も産生していることがわかってきた。Todaroらはヒト-rhabdomyosarcoma A673細胞の産生するTGFを研究中に、正常細胞の増殖は促進するが、腫瘍細胞の増殖は阻害す

る tumor inhibitory factor の存在を<sup>5)</sup>, 又 Yamaoka からも TGF- $\gamma_2$  を産生する 77N-1 細胞が同時にこの TGF の作用を阻害する sarcoma growth inhibitor を産生していること<sup>6)</sup> を報告している。

我々はマウス骨髄間質細胞由来の肉腫細胞株 BMA-1 から得た部分精製 TGF 標品の各種細胞の増殖に対する影響をしらべているうちに, この標品が混合培養による Tリンパ球の活性化を強く抑制することからこの標品

中に T-細胞増殖抑制因子が存在することを知り ISF (immune suppressiv factor) と略称した, ISF は TGF と異り分子量約4万の蛋白質である。

ISF は混合リンパ球反応による T細胞の活性化増殖を抑制するのみならず conA 刺激による Tリンパ球の増殖反応も阻害する。抗原特異的, IL-2 依存増殖性のマウス T細胞株の増殖阻害を図 4 に示す。この細胞株は, KLH (キーホールリンペットヘモシアニン) を特

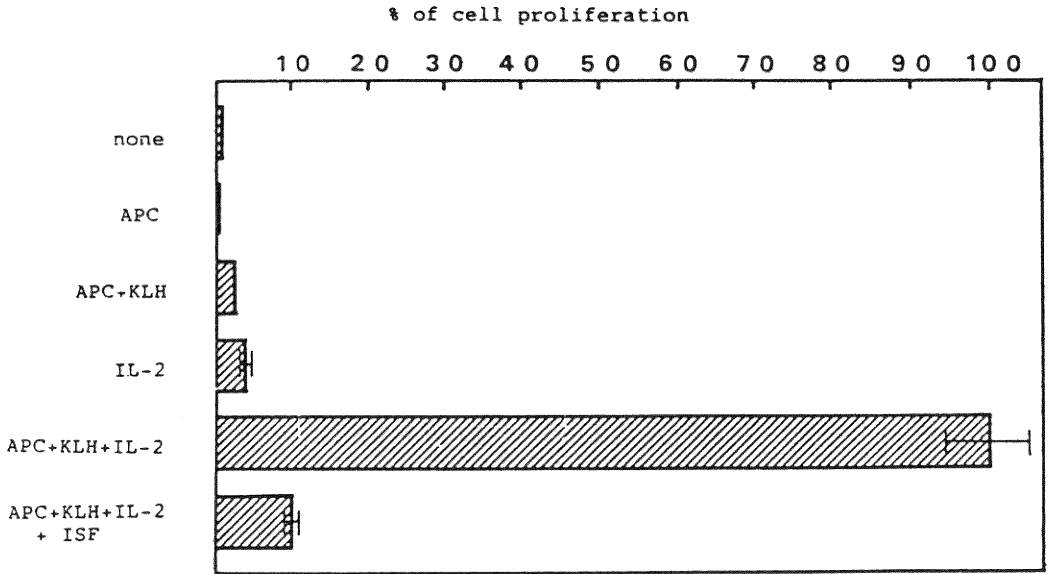


Fig. 4 Inhibition of proliferation of an antigen specific helper T cell clone

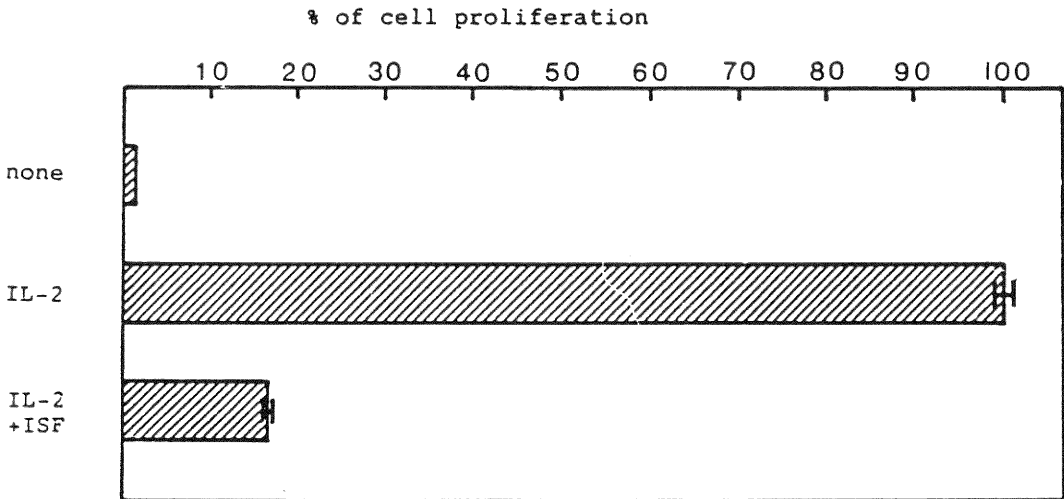


Fig. 5 Inhibition of proliferation of an IL-2 dependent T cell clone

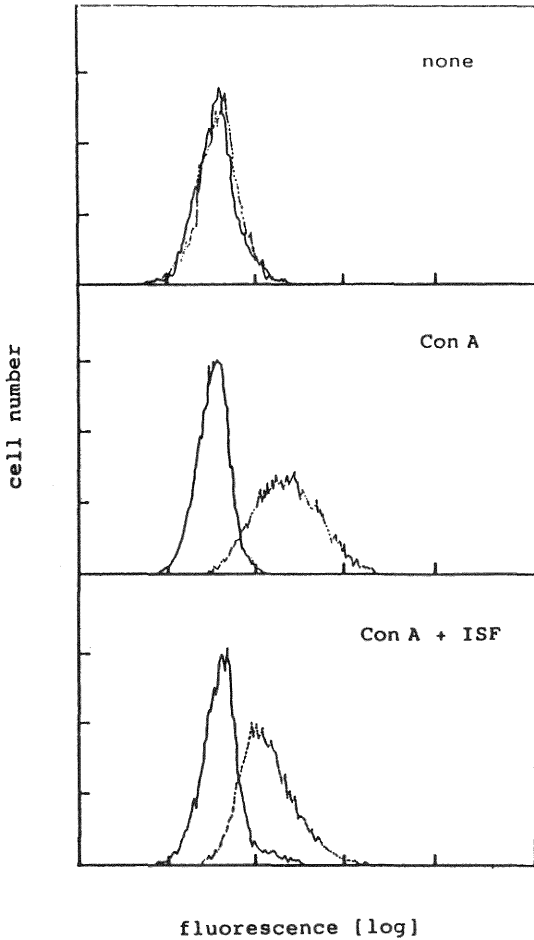


Fig. 6 Effect of INF on expression of IL-2 receptor

異抗原とし、APC (antigen presenting cell) 及び IL-2 の存在がその増殖に必要な。

増殖に IL-2 のみ必要な T 細胞株 K-23 の増殖も阻害される (図 5)。増殖静止状態 (G<sub>0</sub>) に条件づけした K-23 細胞を再び増殖期に移行させるためには CoA 刺激を必要とする。G<sub>0</sub> 期の細胞は IL-2 受容体を欠いているが、CoA 刺激により IL-2 受容体が発現し IL-2 依存的に増殖するようになる。ISF はこの CoA による IL-2 受容体の発現は阻害しない (図 6)。ISF の増殖阻害は可逆的である。図 7 は増殖中の T 細胞株に ISF を加えると細胞の増殖は停止するが、24 時間後に ISF を除くと DNA 合成の再開後、細胞の分裂がおこることを示している。

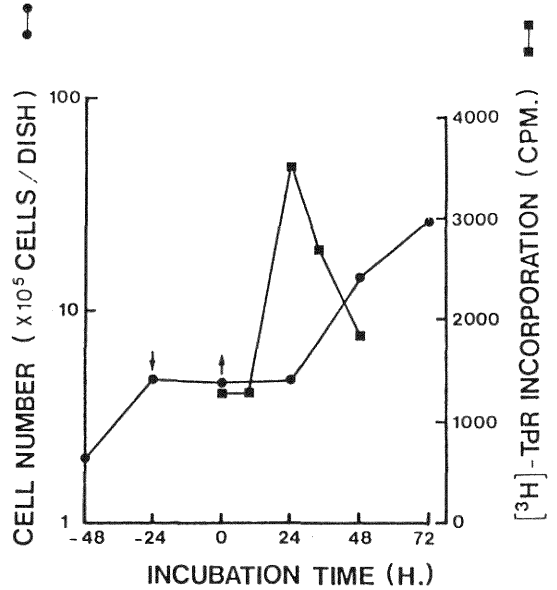


Fig. 7

ISF の作用により細胞は G<sub>0</sub> 若しくは G<sub>1</sub> の初期にとどまることを示している。CoA 又は抗原刺激した T 細胞は ISF 存在下では増殖しないが、24 時間後に ISF を除くと CoA 又は抗原の再刺激がなくても増殖を開始する。このことは、ISF 存在下で細胞は、G<sub>0</sub>→G<sub>1</sub> の転換点にとどまることを示唆している。ISF は T 細胞の増殖機構の解析に有用な手段であるのみならず腫瘍増殖と免疫系の関与の解析にも重要な視点を与えるものと考えられる。

参 考 文 献

- 1) De Larco, J.E. and Todaro, G.J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 75: 4001, 1978.
- 2) Deuel, T.F.: Am. Rev. cell Biol. 3: 467, 1987.
- 3) Yamaoka, K., Hirai, R., Tsugita, A. and Mitsui, H.: J. Cell. Physiol., 119: 307, 1984.
- 4) Yamaoka, K. and Hirai, R.: Biochem. Int., 13: 863, 1986.
- 5) Fryling, C.M., Iwata, K.K., Johnson, P.A., Knott, W.B. and Tadaro, G.J.: Cancer Res., 45: 2695, 1985.
- 6) Yamaoka, K., Hirai, R. and Hiragun, A.: Jpn. J. Cancer Res., 77: 319, 1986.