血小板由来の細胞増殖因子の特性と 腫瘍細胞の増殖におよぼす作用

新津洋司郎* 茂木 良弘* 越田 吉一* 石垣 聖史*
石井 徹* 熊井 良司* 高後 裕* 漆崎 一朗*

Characterization of platelet derived growth factors and their effect on the proliferation of tumor cells

Yoshiro NIITSU*, Yoshihiro MOKI*, Yoshikazu KOSHIDA*,
Seishi ISHIGAKI*, Tohru ISHII*, Ryoji KUMAI*,
Yutaka KOHGO* and Ichiro URUSHIZAKI*

Key words: platelet derived growth factor, tumor cell, purification,
in vivo, proliferation

Platelet-derived growth factor (PDGF) was partially purified from platelet lysate by isoelectric focusing and gel filtration. Platelet lysate had three growth promoting factors for a human tumor cell line (K 562) which consisted of acidic (pI 3.1~3.5), neutral (PI 6.5~7.0) and basic (pI 8.8~10.4) substances. The activity of acidic growth factor in platelet lysate was higher than the activities of the other two factors. This acidic factor had a molecular weight of about 30,000 daltons and was extremely stable to treatments with heat (90°C 10 min), alkali or acid, but was inactivated by pepsin digestion.

Growth promoting activity was studied in vivo by means of a biological assay. The intramuscular administration of acidic factor purified by DE 52 chromatography had a marked potentiating effect on the growth of Lewis lung carcinoma in Balb/c mice.

It was, therefore, suggested that not only did PDGF enhance the growth of primary tumor cells, but also that the PDGF released by platelet aggregation during the process of formation of the tumor thrombus activated the growth of metastatic tumor cells.

* 札幌医科大学第四内科〔〒060 札幌市中央区南1条西16丁目〕, The Fourth Department of Internal Medicine, Sapporo Medical College, Sapporo, Japan,

はじめに

血小板由来増殖因子 (PDGF) は線維芽細胞などの間葉系細胞の増殖因子であり、病態生理上、動脈硬化の促進や損傷組織の修復に重要な役割を演じている¹⁾。われわれはこのほかにも PDGF が癌細胞の成長を助長することを報告してきた²⁻⁴⁾。この血小板凝集時に放出される PDGF はこれまで塩基性蛋白と報告⁵⁾されているが、われわれはこれ以外にも血小板中には酸性の等電点を有する細胞増殖因子が存在することを見出し、さらに本因子の *in vivo* における腫瘍細胞の増殖作用を検討したので報告する。

I. 材料および方法

血小板 lysate は既報⁴⁾のごとく作製し、等電点電気泳動法および高速液体クロマトグラフィー (HLC-803 A) を組み合わせて細胞増殖因子を抽出した。培養細胞としてヒト白血病由来細胞 K 562 を用い細胞増殖活性はマイクロプレート中での ³H-thymidine (5 μ Ci/ml) の 18 時

間後の取り込みをもって表わした。 *in vivo* においては Lewis 肺癌細胞 1×10^6 個をマウス (C 57 BL/6) 背部皮下に移植し、2 日目より DE 52 分画 50 μ g/g 体重投与群と生食投与群につきそれぞれを 7 日間同部位に皮下投与し、経時的に腫瘍体積を測定した。

II. 結果

ヒト血小板 lysate をカラム等電点電気泳動法により分析したところ、酸性域 (pI 3.1-3.5) 中性域 (pI 6.5-7.0) および塩基性域 (pI 8.8-10.4) の 3 つの細胞増殖活性を有するピークが得られた。このうち酸性分画の活性はきわめて高かったが塩基性分画の活性は弱かった。酸性分画を高速液体クロマトグラフィーで分画し細胞増殖活性を調べたところ、図 1 に示すように分子量約 3 万の部位に活性ピークを調めた。また本因子は熱処理 (90°C, 10 分)、酸 (pH 3)、アルカリ (pH 11) に安定であったがペプシンにより失活した。

次に血小板由来の増殖因子の *in vivo* における癌細胞の増殖作用を検討した。まず血小板

Fig. 1 HPLC profile of acidic growth factor purified by isoelectric focusing.

The dotted line represents elution profile of absorbance at 280 nm and the solid line shows the growth promoting activity (cpm $\times 10^3$) using K 562 cells.

Fig. 2 Progression of Tumor cell growth by treatment with PDGF

lysate の DE52 chromatography を施行し、その吸着分画 (DE II) より細胞増殖因子を得、これを Lewis 肺癌移植マウスに投与した。図 2 に示すように腫瘍移植後、13日目より腫瘍形成がみられ 25 日目において生食投与群が平均 2.76 cm^3 に対して DE 52 分画 (DE II) 投与群は平均 5.45 cm^3 と明らかに腫瘍の増殖促進作用が認められた。

III. 考 察

PDGF は Ross¹⁾ により報告された細胞成長因子であり Antoniadis⁵⁾, Heldin⁶⁾, Raines⁷⁾, らにより純化・分析が行なわれ、これまでのところ分子量 27,000~35,000 で塩基性 (pI 9, 8) の等電点を有する耐熱性の蛋白であるとされている。しかし今回われわれは、血小板中には従来報告されてきた塩基性蛋白の増殖因子のほか、に酸性および中性域にも細胞増殖因子が存在することを見出した。ことに酸性等電点を有する細胞増殖因子は耐熱性で酸・アルカリに安定な蛋白であり、分子量約 3 万と従来報告されてきた塩基性の細胞増殖因子と性質が類似していた。さらに DE 52 chromatography により得られた酸性分画は in vivo で移植腫瘍の増殖を促進することを明らかにした。このことから担

癌生体において PDGF は原発巣の増殖に関与するだけでなく、腫瘍血栓の形成の過程で血小板凝集により放出された PDGF が局所で腫瘍細胞の増殖を助長し、転移巣の形成にも関与していることが推測される。

文 献

- 1) Ross, R., Glomset, J., Kariya, B. and Harlcer, L.: A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **71**; 1207~1210, 1974,
- 2) 茂木良弘, 他: ヒト癌細胞の血小板凝集能と血小板由来増殖因子の腫瘍細胞におよぼす作用. *血液と脈管*, **12**; 604~606, 1981.
- 3) 茂木良弘, 他: ヒト培養腫瘍細胞の増殖におよぼす血小板由来成長因子の効果. *医学のあゆみ*, **121**; 29~30, 1982.
- 4) 新津洋司郎, 他: 血小板由来増殖因子による癌細胞増殖作用の特性—線維芽細胞との比較—. *血液と脈管*, **13**; 309~313, 1982.
- 5) Antoniadis, H.N.: Human platelet-derived growth factor (PDGF): purification of PDGFI and PDGF-II and separation of their reduced subunits. *Proc. Natl. Sci. U.S.A.*, **78**; 7314~7317, 1981.

- 6) Heldin, C.H., et al.: Platelet-derived growth factor Isolation by a large-scale proseduer and analysis of subunit composition. Biochem. J., **193**; 907~913, 1981.

- 7) Raines, E. W. and Ross, R.: Platelet-derived growth factor. J. Biol. Chem., **257**; 5154~5160, 1982.

● 日常診療の落とし穴と安全性を示す！

小児の医療事故と救急処置

編集 日本大学小児科教授 馬場一雄 専門医50氏分担執筆
B5判 337頁 図52 表120 定価9,800円(〒240円)

日常の診療業務はいたるところに落とし穴の掘られている原野を進むようなものである。どんなに気をつけて歩いても、落とし穴に落ち込まないですむ保証はない。しかし、どこに落とし穴が隠されているか予め知っているのと知らないのとでは、安全の程度が全く異なる。本書は、小児の日常診療の場に隠されている落とし穴の位置と迂回路を示す羅針盤である。

●内容：〔医療事故〕1.医療事故と医事紛争，2.医療過誤の実態と責任の所在，3.突然死の実態，4.最近における医事紛争の問題点と小児科領域における診療事故死，5.小児救急患者の実態，6.過敏性体質，7.臨床検査に伴う事故とその対策(その1)，8.臨床検査に伴う事故とその対策(その2)，9.注射に伴う事故とその対策，10.輸血に伴う事故とその対策，11.輸液に伴う事故とその対策，12.交換輸血に伴う事故とその対策，13.麻酔に伴う事故とその対策，14.小児外科手術に伴う事故とその対策，15.放射線照射に伴う障害とその対策，16.看護に伴う事故とその対策，〔救急処置〕1.急発症状と応急対策，2.救急疾患と緊急治療，3.救急医療。