

ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΚΑΙ ΚΑΚΟΗΘΗΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ

ΟΜΙΛΙΑ ΤΟΥ ΑΝΤΕΠΙΣΤΕΛΛΟΝΤΟΣ ΜΕΛΟΥΣ κ. ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΥΣ Ν. ΑΝΤΩΝΙΑΔΗ

*Κύριε Πρόεδρε τῆς Ἀκαδημίας Ἀθηνῶν,
Κύριοι Συνάδελφοι, Κυρίες καὶ Κύριοι,*

Εἶμαι βαθύτατα συγκινημένος ἀπὸ τοὺς θερμούς σας λόγους, κύριε Πρόεδρε, καὶ εὐχαριστῶ γιὰ τὴν εὐγενική σας εἰσαγωγή.

Αἰσθάνομαι ιδιαίτερη χαρὰ νὰ παρουσιάσω σήμερα τὴν συνέχεια τῶν ἐργασιῶν μας εἰς τὸν καρκίνο, ἐν μέσῳ τόσων ἐκλεκτῶν καὶ διακεκριμένων συναδέλφων, παλαιῶν συνεργατῶν καὶ ἀγαπητῶν φίλων.

* * *

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πειραματικὲς μελέτες γιὰ τὸν αὐξητικὸ παράγοντα κυττάρων, ποὺ προέρχονται ἀπὸ τὰ ἀνθρώπινα αἰμοπετάλια (PDGF), ἔχουν δώσει τὴν βάση γιὰ τὴν κατανόηση ἑνὸς τουλάχιστον μηχανισμοῦ ὁ ὁποῖος συμμετέχει εἰς τὸν κακοήθη μετασχηματισμὸ τῶν κυττάρων. Εἶναι ἰσχυρὸ μιτογόνο γιὰ κύτταρα προερχόμενα ἀπὸ τὸ μεσέγχυμα (1-3), καὶ εἶναι ἓνα θερμοάντοχο (100°C) κατιοντικὸ (ἰσοηλεκτρικὸ σημεῖο 9.8) πολυπεπίδιο (4) ποὺ κυκλοφορεῖ εἰς τὸ αἷμα ἀποθηκευμένο εἰς τὰ α-κοκκία τῶν αἰμοπεταλίων (5). Ἀπελευθερώνεται ἀπὸ τὰ αἰμοπετάλια εἰς τὸν ὄρο κατὰ τὴν διάρκεια τῆς πήξεως τοῦ αἵματος καὶ συνιστᾷ τὸν κύριον πολυπεπτιδικὸ αὐξητικὸ παράγοντα τοῦ ὄρου. Ἔχει προταθεῖ ὅτι εἰς τὸν ἄνθρωπον, τὸ PDGF μεταφέρεται ἀπὸ τὰ αἰμοπετάλια ἀπὸ τὴν περιοχὴ τραυμάτων καὶ πληγῶν ὅπου ἀποδίδεται κατὰ τὴν διάρκεια συσσωματώσεως τῶν αἰμοπεταλίων καὶ συμβάλλει εἰς τὴν διεργασία τῆς ἰάσεως τῶν πληγῶν διεγείροντας τὸν πολλαπλασιασμὸ καὶ τὴν μετανάστευση τῶν κυττάρων τοῦ συνδετικοῦ ἰστοῦ.

Ἔχουμε δεῖξει πρόσφατα ὅτι τὸ PDGF, καθὼς καὶ ἡ πρωτεΐνη μετασχηματισμοῦ τοῦ ἰοῦ τοῦ σαρκώματος τοῦ πιθήκου (SSV), ἑνὸς ρετρο - ἰοῦ μὲ ἔντονη μετασχηματιστικὴ ἰκανότητα, προέρχονται ἀπὸ τὸ ἴδιον ἢ πολὺ συγγενικὰ κυτταρικά γονίδια (6). Τὸ συμπέρασμα αὐτὸ βασίζεται εἰς τὴν ἀπόδειξη ὅτι τὸ PDGF καθὼς καὶ ἡ πρω-

τείνη μετασχηματισμοῦ τοῦ *SSV* (7,8) δείχνουν ἐκτεταμένη ὁμολογία εἰς τὴν ἀμινοξική τους ἀλληλουχία, τὰ ἀντιγονικά καὶ δομικά χαρακτηριστικά (11) καὶ ἐξασκοῦν κοινὴ βιολογικὴ δράση (6,9,10). Τὰ εὐρήματα αὐτὰ συνηγοροῦν στὸ ὅτι ἡ ἰκανότητα τοῦ ἰοῦ τοῦ σαρκώματος τοῦ πιθήκου νὰ προκαλεῖ μετασχηματισμὸ προέρχεται ἀπὸ τὴν ἐνσωμάτωση τοῦ γονιδίου τοῦ *PDGF* ἐντὸς τοῦ γονιδιώματος τοῦ ρετρο - ἰοῦ. Ἡ περιοχὴ τώρα ποὺ περιέχει τὸ ὄγκογονίδιο τοῦ μετασχηματισμοῦ (*V-SIS*) ἐντὸς τοῦ γονιδιώματος τοῦ ρετρο - ἰοῦ, κωδικοποιεῖ γιὰ ἓνα μιτογόνο ὁμοιο μὲ τὸ *PDGF* καὶ εἶναι ἰκανὴ νὰ ἐπάγει τὸν νεοπλασματικὸ μετασχηματισμὸ μὲ τὴν συνεχὴ παραγωγή αὐτοῦ τοῦ ἰσχυροῦ μιτογόνου, ποὺ προκαλεῖ συνεχὴ κυτταρικὸ πολλαπλασιασμό.

Ἐν συμφωνίᾳ μὲ τὰ παραπάνω εὐρήματα εἶναι ἡ ἀνίχνευση ἀγγελιοφόρων *RNA* ποὺ ἔχουν σχέση μὲ τὸ *V-SIS* εἰς ἀνθρώπινους ὄγκους μεσεγχυματικῆς προελεύσεως, ὅπως τὰ γλοιοβλαστώματα, τὰ ἰνোসαρκώματα καὶ τὰ ὀστεοσαρκώματα (14). Ἡ παραγωγή μιτογόνου ποὺ μοιάζει μὲ τὸ *PDGF* ἀπὸ αὐτὰ τὰ ἀνθρώπινα κύτταρα σὲ καλλιέργεια ἔχει ἐπίσης ἀναφερθεῖ (15,17). Πρόσφατες ἐρευνες ἔδειξαν ὅτι τὰ κύτταρα αὐτὰ συνθέτουν, ἐπεξεργάζονται καὶ ἐλευθερώνουν πολυπεπίδια, παρόμοια μὲ τὸ *PDGF*, τὰ ὁποῖα ἀναγνωρίζουν τὰ εἰδικὰ γιὰ τὸ *PDGF* ἀντισώματα (*Graves et al*, Πανταζῆς *et al*, ἀδημοσίευτα ἀποτελέσματα).

Τὰ ἀποτελέσματα αὐτὰ δείχνουν ὅτι ἡ ἐνεργοποίηση τῆς μεταγραφῆς τοῦ *SIS* γονιδίου δύναται νὰ προκαλέσει τὸν συνεχὴ πολλαπλασιασμὸ τῶν κυττάρων ἐκεῖνων ποὺ εἶναι τὰ κύτταρα-στόχοι τῆς δράσεως τοῦ *PDGF*. Μὲ αὐτὸ τὸν τρόπο ἡ ἐνεργοποίηση τοῦ *SIS* μπορεῖ νὰ ἐμπλέκεται εἰς τὴν διεργασία ποὺ ὀδηγεῖ τὰ φυσιολογικὰ κύτταρα μεσεγχυματικῆς προελεύσεως πρὸς τὴν κακοήθεια.

Ἀκολουθεῖ μιὰ σύντομη περιγραφή τῶν γεγονότων ποὺ ὀδήγησαν εἰς τὴν ἀναγνώριση τοῦ *PDGF*, τὴν σύγχρονη θεώρηση τῆς δράσεως καὶ λειτουργία τοῦ *PDGF*, τὸν ρόλο του εἰς τὴν ρύθμιση τῆς φυσιολογικῆς κυτταρικῆς αὐξήσεως, καὶ τὴν σχέση του πρὸς τὸν κακοήθη μετασχηματισμὸ.

ΔΙΑΠΙΣΤΩΣΗ ΥΠΑΡΞΕΩΣ ΤΟΥ *PDGF*

Ἡ διαπίστωση τοῦ *PDGF* κατορθώθηκε ἀπὸ δύο ἀνεξάρτητα ἐρευνητικὰ προγράμματα. Τὸ ἓνα κατέληξε εἰς τὴν ἀπομόνωση καὶ τὸν χαρακτηρισμὸ τοῦ κύριου πολυπεπτιδικοῦ αὐξητικοῦ παράγοντα ἀπὸ τὸν ἀνθρώπινο ὄρο. Τὸ ἄλλο ἔδωσε τὴν πληροφορία ὅτι ὁ αὐξητικὸς παράγοντας τοῦ ἀνθρώπινου ὄρου ἐντοπίζεται εἰς τὰ αἰμοπετάλια καὶ μποροῦσε νὰ ἀνευρεθεῖ εἰς ἐκχυλίσματα τῶν αἰμοπεταλίων (19-21).

Όπως συνοψίζεται περαιτέρω, ο συνδυασμός αυτών των δύο προσπαθειών οδήγησε εις την παρούσα κατάσταση σχετικά με το PDGF.

Υποψίες για την παρουσία ενός ισχυρού αυξητικού παράγοντα εις τον όρο του αίματος υπήρχαν από το εύρημα ότι ο όρος είναι απαραίτητος για την αύξηση των φυσιολογικών κυττάρων εις καλλιέργεια (22-23). Το 1975 ανακοινώσαμε την επιτυχή απομόνωση και χαρακτηρισμό του κύριου ανθρώπινου αυξητικού παράγοντος εις τον όρο, που αποδείχθηκε ότι ήταν ένα ξεχωριστό και ασύνθετο πολυπεπίδιο. Δείξαμε ότι ήταν θερμοσταθερό, ακόμα και μετά θέρμανση 100°C επί 10-20 λεπτά (18,24) και ότι ήταν ισχυρά κατιοντικό, με ισοηλεκτρικό σημείο περίπου 9.7 (18). Αναγωγή με 2-μερκαπτοεθανόλη εξαφάνιζε την μιτογόνο του δραστηριότητα. Υπό αναγωγικές συνθήκες το μοριακό βάρος ήταν γύρω στο 13000, όπως βρέθηκε με αναλυτική SDS-ηλεκτροφόρηση (18). Το πολυπεπίδιο αυτό ήταν παρόν εις τον όρο σε ίχνη, σε συγκέντρωση που υπολογίσθηκε περίπου εις τα 50 ng ανά 1 ml όρου (25,26). Την εποχή που απομονώθηκε και χαρακτηρίσθηκε από τον ανθρώπινο όρο δεν γνωρίζαμε ότι ο αυξητικός αυτός παράγων προερχόταν από τα αίμοπετάλια του όρου κατά την διάρκεια της πήξεως του αίματος.

Ο Samuel Balk το 1971 (19) περιέγραψε ότι η δραστηριότητα του όρου εις αυξητικό παράγοντα εντοπίζεται εις τα αίμοπετάλια και ότι ο παράγοντας απελευθερώνεται εις τον όρο κατά την διάρκεια της πήξεως του αίματος. Το συμπέρασμα αυτό πηγάζει από την παρατήρηση, ότι πλάσμα φτωχό εις αίμοπετάλια, εις αντίθεση με όρο που προέρχεται από πήξη του αίματος, δεν μπορούσε να υποστηρίξει την αύξηση των ινοβλαστών εις καλλιέργεια. Οι παρατηρήσεις αυτές επιβεβαιώθηκαν και επεκτάθηκαν το 1974 και από άλλους ερευνητές (20-22), οι οποίοι επί πλέον έδειξαν ότι η δραστηριότητα εις αυξητικό παράγοντα ξαναβρισκόταν εις τα έκχυλίσματα των αίμοπεταλίων, και με αυτό τον τρόπο απέδειξαν αναμφίβολα ότι τα αίμοπετάλια είναι η πηγή της δραστηριότητας εις αυξητικό παράγοντα του όρου. Επηρεασμένοι από αυτές τις σημαντικές διαπιστώσεις, εξετάσαμε την δυνατότητα της αίμοπεταλιακής προελεύσεως του πολυπεπτιδίου με αυξητική δραστηριότητα που είχαμε προηγουμένως απομονώσει από τον ανθρώπινο όρο. Χρησιμοποιώντας ειδική ραδιοανοσολογική δοκιμασία για τον αυξητικό παράγοντα του όρου, καθώς και κυτταροκαλλιέργειες, μπορέσαμε να επιβεβαιώσουμε ότι ο παράγοντας αυτός προήλθε από τα αίμοπετάλια (25,26). Ήτο παρόν σε όρο προερχόμενο από πηγμένο αίμα, καθώς και εις έκχυλίσματα αίμοπεταλίων, αλλά απών από όρο φτωχό εις αίμοπετάλια.

Έχοντας υπ' όψη αυτά τα εύρηματα, η δραστηριότητα του αυξητικού παράγοντα του όρου ονομάσθηκε «αυξητικός παράγων προερχόμενος από αίμοπετάλια (PDGF)».

ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ PDGF

Τὸ εὔρημα ὅτι ὁ αὐξητικός παράγοντας τοῦ ὄρου ἔντοπίζεται εἰς τὰ αἰμοπετάλια ἐπέτρεψε τὴν ἀπομόνωσή του εἰς μεγάλη κλίμακα καὶ τὸν καθαρισμὸ του ἀπὸ αἰμοπετάλια πὺ δὲν μποροῦσαν νὰ χρησιμοποιηθοῦν πλέον γιὰ μεταγίσεις (4,27). Τὸ καθαρισμένο PDGF, προερχόμενο ἀπὸ τὰ αἰμοπετάλια, ἀποδείχθηκε ὅτι ἦταν ἓνα θερμοανθεκτικό, κατιοντικό (p I 9,8-10,2) πολυπεπτίδιο εὐαίσθητο εἰς ἀναγωγικούς παράγοντες, ιδιότητες δηλ. ὅμοιες μὲ αὐτὲς πὺ εἶχαμε περιγράψει προηγούμενα γιὰ τὸν πολυπεπτιδικὸ αὐξητικὸ παράγοντα τὸν ἀπομονωθέντα ἀπὸ τὸν ἀνθρώπινο ὄρο. Προσφάτως τὸ PDGF ἔχει καθαρισθεῖ ἀπὸ πλάσμα πλούσιο σὲ αἰμοπετάλια (28,29) καὶ οἱ ιδιότητες αὐτῶν τῶν παρασκευασμάτων ἦσαν ἐπίσης ὅμοιες μὲ αὐτὲς τῶν αὐξητικῶν παραγόντων πὺ εἶχαν ἀπομονωθεῖ ἀπὸ ἀνθρώπινο ὄρο καὶ αἰμοπετάλια. Τὸ μοριακὸ βάρους τοῦ μὴ ἀναχθέντος PDGF ὑπολογίσθηκε εἰς 32000 - 35000. Μὲ τὴν ἀναγωγή τὸ μοριακὸ βάρους ἐφανίσθηκε νὰ εἶναι 12000 - 18000, ὁδηγώντας στὸ συμπέρασμα ὅτι τὸ βιολογικὰ ἐνεργό, μὴ ἀναχθέν PDGF, ἀποτελεῖται ἀπὸ 2 πολυπεπτιδικὲς ἀλυσίδες (29-31). Ἡ ἀμινοτελικὴ ἀμινοτοξικὴ ἀλληλουχία τοῦ ἀνθρώπινου PDGF ἔδωσε τελευταίως ἀποδείξεις ὅτι αὐτὸς ἀποτελεῖται ἀπὸ δύο ὁμόλογες πολυπεπτιδικὲς ἀλυσίδες, ἐνωμένες μὲ δισουλφιδικοὺς δεσμούς (10). Τελευταῖες ἐρευνες ἔδειξαν τὴν παρουσία πολλαπλῶν, ὅσο ἀφορᾷ τὸ μοριακὸ βάρους, μορφῶν, βιολογικὰ ἐνεργοῦ, μὴ ἀναχθέντος PDGF, ἀπομονωμένου ἀπὸ αἰμοπετάλια (30) ἢ ἀπὸ πλάσμα πλούσιο σὲ αἰμοπετάλια (28,29). Οἱ δύο κύριες μορφὲς πὺ ὀνομάζονται PDGF I καὶ PDGF II ἔχουν μοριακὰ βάρη 35000 καὶ 32000 ἀντίστοιχα. Φαίνεται ὅτι τὸ PDGF II προέρχεται ἀπὸ τὸ PDGF I μὲ μερικὴ πρωτεόλυση, πὺ γίνεται κατὰ τὴν διάρκεια τῆς γηράνσεως τῶν αἰμοπεταλίων ἢ κατὰ τὴν διάρκεια τοῦ χειρισμοῦ καὶ κλασματώσεώς τους. Τὰ δεδομένα τῆς ἀμινοξικῆς ἀλληλουχίας συνηγοροῦν στὸ ὅτι οἱ ἀμινοτελικὲς περιοχὲς τοῦ PDGF I καὶ II εἶναι ὅμοιες (10).

Ἡ παραγωγή καθαροῦ PDGF περιορίζεται ἀπὸ τὶς μικρὲς ποσότητες πὺ ὑπάρχουν εἰς τὰ αἰμοπετάλια, καθὼς καὶ ἀπὸ τὶς μεγάλες ἀπώλειες κατὰ τὴν διάρκεια τῆς πολύπλοκης διεργασίας τῆς κλασματώσεως. Οἱ ἀρχικὲς ἀποδόσεις τοῦ PDGF προερχόμενες ἀπὸ 500 μονάδες αἰμοπεταλίων, πὺ ἀντιστοιχοῦν σὲ 250 λίτρα αἵματος, ἀνήρχοντο σὲ 20-100 μγ (4-27). Βελτιωμένες μέθοδοι ἐπέτρεψαν καλύτερες ἀποδόσεις, ἀλλὰ καὶ ἀκόμη ὑπὸ αὐτὲς τὶς συνθήκες ὑπῆρξε ἀνάγκη νὰ κλασματώσουμε δεκάδες χιλιάδων μονάδες ἀνθρώπινων αἰμοπεταλίων ὥστε νὰ καταστῆ δυνατὴ ἢ ἀπόκλιση ἀρκετῶν ποσοτήτων PDGF γιὰ φυσιολογικὲς καὶ δομικὲς μελέτες.

Η ΑΜΙΝΟΤΕΛΙΚΗ ΑΜΙΝΟΞΙΚΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΟΥ PDGF

Ἡ ἐπιτυχὴς διαπίστωση τῆς ἀμινοτελικῆς ἀμινοξικῆς ἀλληλουχίας τοῦ PDGF κατορθώθηκε σὲ συνεργασία μὲ τὸν Michael W. Hunkapiller (10). Τὰ ἀποτελέσματα αὐτὰ ἔδειξαν ὅτι τὸ PDGF ἀποτελεῖται ἀπὸ δύο ὁμόλογες πολυπεπτιδικές ἀλυσίδες, PDGF 1 καὶ 2, ἐνωμένες μὲ δισουλφιδικούς δεσμούς. Ἐπιπρόσθετα ἀποτελέσματα πάρθηκαν μὲ διάσπαση μὲ βρωμιούχο κυάνιο (6). Ἡ ἀκρίβεια τῶν ἀποτελεσμάτων τῆς διαπιστώσεως τῆς ἀλληλουχίας βεβαιώθηκε ἀπὸ τὴν σημαντικὴ ἀνακάλυψη ποὺ ἐπακολούθησε ἀπὸ τὸν Russel F. Doolittle, τῆς σχεδὸν ὅμοιας ἀλληλουχίας τοῦ PDGF 2 μὲ αὐτὴν τῆς πρωτεΐνης μετασχηματισμοῦ τοῦ SSV (6).

Ἡ ἀνάλυση τῆς πρωτοταγοῦς δομῆς τοῦ PDGF περιορίστηκε ἀπὸ τὶς μικρὲς διαθέσιμες ποσότητες. Οἱ συνηθισμένες ἐργαστηριακὲς μέθοδοι γιὰ τὴν διαπίστωση τῆς δομῆς αὐτῆς ἀπαιτοῦν πολὺ μεγαλύτερες ποσότητες πρωτεΐνης ἀπὸ αὐτὲς ποὺ ἦταν διαθέσιμες. Ἡ ἀνάπτυξη μιᾶς μικρομεθόδου στὸ Caltech (52) κατέστησε δυνατὴ τὴν διαπίστωση τῆς ἀμινοτελικῆς ἀμινοξικῆς ἀλληλουχίας τοῦ PDGF μὲ τὴν χρησιμοποίησι 100 - 300 pmol καθαροῦ, βιολογικὰ ἐνεργοῦ, μὴ ἀναγμένου, PDGF, καθὼς καὶ βιολογικὰ ἀνενεργοῦ, ἀναχθέντος, ἀλκυλιωμένου παραγώγου. Ἡ ἐρμηνεία τῶν δεδομένων αὐτῶν ἀποδείχθηκε ἐξαιρετικὰ πολὺπλοκὴ λόγω τῶν ἐπικαλυπτόμενων ἀλληλουχιῶν, ὀφειλόμενων σὲ μερικὴ ἀποικοδόμησι εἰς τὶς τελικὲς περιοχὲς τῶν δύο ἀναχθεισῶν ἀλυσίδων PDGF. Ἡ ἐμπειρία τοῦ Michael Hunkapiller ἦταν ἀποφασιστικὸς παράγοντας στὴν ἐπιτυχὴ καὶ ἀκριβῆ διαπίστωση τῆς ἀμινοτελικῆς ἀμινοξικῆς ἀλληλουχίας τοῦ PDGF. Ἡ πρώιμη ἀνακοίνωση τῶν δεδομένων μας πάνω στὴν ἀμινοξικὴ ἀλληλουχία τοῦ παράγοντα βοήθησε τὴν μετέπειτα ἐργασία πάνω στὴν πρωτοταγὴ δομὴ ἀπὸ τὸν Waterfield et al (9).

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ PDGF

Τὰ κύτταρα-στόχοι γιὰ τὸ PDGF συμπεριλαμβάνουν ἰνοβλάστες (2,3), ἀρτηριακὰ λεῖα μυκὰ κύτταρα (2,20) καὶ νευρογλειακὰ κύτταρα τοῦ ἐγκεφάλου (1,27). Τὸ μιτογόνο ἀποτέλεσμα τοῦ PDGF συμβαίνει σὲ χαμηλὲς συγκεντρώσεις ποὺ χρειάζονται γιὰ νὰ δράσουν τὰ ἄλλα ἄρμονικὰ πολυπεπτιδία. Ἐκτὸς ἀπὸ τὴν μιτογόνο δράση του τὸ PDGF ἔχει ἰσχυρὴ χημειοτακτικὴ δράση γιὰ ἰνοβλάστες σὲ καλλιέργεια (33), γιὰ λεῖα μυκὰ κύτταρα (34,35) καὶ γιὰ ἀνθρώπινα οὐδετερόφιλα καὶ μονοκύτταρα (35,36). Ἡ δράση στοὺς ἰνοβλάστες καὶ στὰ λεῖα μυκὰ κύτταρα φαίνεται νὰ εἶναι ἐξειδικευμένη γιὰ τὸ PDGF, ἐφόσον ἄλλοι παράγοντες δὲν διεγείρουν

τὴν μετανάστευση τῶν κυττάρων αὐτῶν (33,34). Ἄλλες δράσεις τοῦ PDGF συμπεριλαμβάνουν τὴν ἱκανότητά του νὰ διεγείρει τὴν σύνθεση πρωτεϊνῶν (37), φωσφολιπιδίων καὶ ἐστέρων χοληστερόλης (38,41) καὶ μορίων προσταγλανδίνης (42,45), ἐνεργοποίηση τῆς δραστικότητας τῆς τυροσίνης (46,50) καὶ διέγερση τῆς μεταφορᾶς τῶν ἀμινοξέων. Ἐμπροσθέντως ἐπηρεάζει τὴν δέσμευση σὲ ὑποδοχεῖς πολλῶν βιολογικὰ σημαντικῶν οὐσιῶν, συμπεριλαμβανομένων τῶν λιποπρωτεϊνῶν χαμηλῆς πυκνότητας (38-40) καὶ γῆς σεροτονίνης (44). Δύο δράσεις τοῦ PDGF, ἡ μία σχετιζόμενη μὲ τὸν πιθανὸ ρόλο του στὴν ἀρτηριοσκληρώση, καὶ ἡ ἄλλη μὲ τὸν ρόλο του στὴν ρύθμιση τῆς συσσωματώσεως τῶν αἱμοπεταλίων, χρήζουσι ἰδιαίτερης μνείας. Ἡ δράση τοῦ PDGF στὸν πολλαπλασιασμὸ καὶ μετανάστευση, καθὼς καὶ στὴν σύνθεση ἐστέρων χοληστερίνης, κυττάρων λείων ἀρτηριακῶν μυῶν σὲ κυτταροκαλλιέργεια ἐνέπνευσε στὸν Russell Ross καὶ στοὺς συνεργάτες τὸν πιθανὸ ρόλο τοῦ PDGF εἰς τὴν ἀρτηριοσκληρυνση (51,52). Ἡ ὑπόθεση συνίσταται στὸ ὅτι χορήγηση τοῦ PDGF στὴν θέση τῆς ἀγγειακῆς βλάβης, ξεκινάει τὶς διεργασίες ποὺ συμπεριλαμβάνουν τὴν μετανάστευση τῶν ἀγγειακῶν κυττάρων καὶ τὸν πολλαπλασιασμὸ τους, ποὺ ὀδηγοῦν στὴν ἀποκατάσταση τῆς ἀγγειακῆς μορφολογίας. Μεταξὺ τῶν διεργασιῶν αὐτῶν εἶναι ἡ μετανάστευση καὶ πολλαπλασιασμὸς ἐντὸς τῆς ἐσωτερικῆς (intima) στιβάδας τῶν ἀρτηριακῶν λείων μυῶν. Ἐχει διατυπωθεῖ ἡ ὑπόθεση ὅτι ὁ σχηματισμὸς δίκτυου συνδετικοῦ ἰστοῦ ἀπὸ τὰ πολλαπλασιασμένα λεῖα μυκὰ κύτταρα καὶ ἡ ἐναπόθεση λιπιδίων μέσα στὰ κύτταρα καὶ στὸν συνδετικὸ ἴστο ποὺ τὰ περιβάλλει, δύναται ὑπὸ ὀρισμένες συνθήκες νὰ ὀδηγήσει εἰς τὴν ἰνώδη πλάκα, ποὺ χαρακτηρίζει τὴν ἀρτηριοσκληρυνση.

Ὁ πιθανὸς ρόλος τοῦ PDGF εἰς τὴν ρύθμιση τῆς συσσωματώσεως τῶν αἱμοπεταλίων πηγάζει ἀπὸ μελέτες ποὺ δείχνουν ὅτι ὁ αὐξητικὸς αὐτὸς παράγων εἶναι ἓνας ἰσχυρὸς διεγέρτης τῆς συνθέσεως προστακυκλίνης (PGI₂) ἀπὸ καλλιεργημένα ἀρτηριακὰ λεῖα μυκὰ κύτταρα καὶ ἀπὸ ἐνδοθηλιακὰ κύτταρα (43). Ἡ προστακυκλίνη εἶναι ὁ πιὸ ἰσχυρὸς φυσικὸς ἀναστολέας τῆς συσσωματώσεως τῶν αἱμοπεταλίων. Μεταγενέστερες μελέτες ἔδειξαν ὅτι ἄλλος ἓνας παράγων ποὺ προέρχεται ἀπὸ αἱμοπετάλια, ἡ σεροτονίνη, εἶναι ἐπίσης ἰσχυρὸς διεγέρτης τῆς παραγωγῆς PGI₂ ἀπὸ ἀρτηριακὰ λεῖα μυκὰ κύτταρα, ὄχι ὅμως ἀπὸ τὰ ἐνδοθηλιακὰ (44). Προσθήκη τοῦ PDGF σὲ καλλιέργειες λείων μυκῶν ἰνῶν, παρουσία σεροτονίνης, προκαλοῦν μιὰ σημαντικὴ αὐξηση τῆς παραγωγῆς PGI₂, πολὺ μεγαλύτερη ἀπὸ τὴν ἀθροιστικὴ δράση τῆς σεροτονίνης μὲ τὸ PDGF. Ἡ συνεργιστικὴ αὐτὴ ἀλληλεπίδραση ἐμποδίσθη μὲ τὴν προσθήκη οὐσιῶν ποὺ καλύπτουν τὸν ὑποδοχέα τῆς σεροτονίνης, γεγονός ποὺ ὀδηγεῖ στὸ συμπέρασμα ὅτι ἡ σεροτονίνη διεγείρει τὴν σύνθεση προστακυκλίνης τῶν λείων μυκῶν ἰνῶν, μέσῳ μηχανισμοῦ ποὺ ἐξαρτᾶται ἀπὸ εἰδικὸς ὑπο-

δοχείς, επηρεαζόμενους από το PDGF. Η εκλεκτική χορήγηση PDGF και σεροτονίνης από τα αίμοπετάλια στην θέση της αγγειακής βλάβης και η επακόλουθη διέγερση της απελευθέρωσης PGI₂, πιθανώς να είναι μηχανισμός για την προστασία έναντιον υπερβολικής συναθροίσεως αιμοπεταλίων και αποφρακτικής θρομβώσεως σε μερικές παθολογικές καταστάσεις (44).

Οί μελέτες που αναφέρθηκαν ανωτέρω έδειξαν ότι PDGF διεγείρει πολλές διαφορετικές λειτουργίες εις καλλιέργειες φυσιολογικών, μη μετασχηματισμένων κυττάρων. Έν αντιθέσει, η αύξηση μετασχηματισμένων από ιούς κυττάρων αποδείχθηκε ότι ήταν ανεξάρτητη από το PDGF. Έκτεταμένες μελέτες του Scher et al (53) έδειξαν ότι το PDGF δέν επηρέασε την αύξηση των μετασχηματισμένων αυτών κυττάρων και ότι τα κύτταρα αυτά μπορούσαν να αυξάνονται εξ ίσου καλά εις όρο η πλάσμα φτωχό εις αίμοπετάλια. Όμοιες παρατηρήσεις έγιναν για τις ανάγκες αύξεσεως ανθρώπινων όστεοσαρκωματικών κυττάρων (21-25) εις καλλιέργεια (15.16). Γνωρίζουμε σήμερα ότι τα μετασχηματισμένα κύτταρα απελευθερώνουν ποικιλία πολυπεπτιδικών αυξητικών παραγόντων εις το θρεπτικό τους υλικό, συμπεριλαμβανομένων και πολυπεπτιδίων που μοιάζουν με το PDGF, και, όπως φαίνεται, αυτή η αυτόκρινη έκκριση των παραγόντων υποκαθιστά την ανάγκη δια PDGF.

ΡΥΘΜΙΣΙΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΥΞΗΣΕΩΣ ΑΠΟ ΤΟ PDGF

Η κυρίως *in vivo* λειτουργία του PDGF είναι να επάγει την μίτωση εις ήρεμοντα κύτταρα, όπως διπλοειδείς ινοβλάστες, αρτηριακά λεία μυικά κύτταρα και νευρογλειακά κύτταρα του έγκεφάλου. Αυτό συνηγορεί για την προταθείσα λειτουργία του PDGF ως παράγοντα έπουλώσεως των πληγών. Μελέτες δια την λειτουργία του PDGF εις καλλιεργημένα 3T3 κύτταρα ποντικού απέδειξαν ότι τόσο το PDGF όσο και το πλάσμα, φτωχό εις αίμοπετάλια, απαιτούνται για τον αναδιπλασιασμό του DNA και την κυτταρική διαίρεση (2,3,54-56). Το PDGF μόνο η το πλάσμα το φτωχό εις αίμοπετάλια μόνο του δέν μπορούσαν να διεγείρουν σημαντικά την αύξηση 3T3 - κυττάρων εις καλλιέργεια. Η συνεργιστική δράση του PDGF και των άλλων όρμονων που είναι παροῦσες εις το πλάσμα ήταν απαραίτητη για την άριστη κυτταρική αύξηση. Μερικές από αυτές τις όρμόνες στο πλάσμα αποδείχθηκε ότι ανήκουν εις την οίκογένεια των πολυπεπτιδίων με δραστικότητα όμοια με την ίνσουλίνη. Οί μελέτες αυτές όδήγησαν εις νέες γνώσεις δια την ρύθμιση της κυτταρικής αύξεσεως. Το σημαντικό εύρημα ήταν ότι η μετάβαση μεταξύ της G₀ / G₁ και S φάσεως ήταν δυνατόν να διαιρεθεί εις δύο στάδια. Το ένα, το όποιο όνομάζεται «competency» (στάδιο ίκανότητος) ρυθμίζεται από το PDGF και επιτρέπει εις τα κύτταρα να

εισέλθουν εις τὴ G_0 / G_1 φάση τοῦ κυτταρικοῦ κύκλου (54-56). Τὸ ἄλλο στάδιο ποῦ ὀνομάζεται «Progression» (προοδευτικὸ στάδιο) ρυθμίζεται ἀπὸ παράγοντες εις τὸ πλάσμα τὸ φτωχὸ εις αἰμοπετάλια, ποῦ ἐπιτρέπουν τὴν «progression» τῶν κυττάρων τὰ ὁποῖα ἔχουν ἐπαχθεῖ ἀπὸ τὸ PDGF εις τὴν S-φάση (54-56).

Ἡ ἐπαχθεῖσα ἀπὸ τὸ PDGF «competency»μποροῦσε νὰ προκληθῆ ἀπὸ μιὰ σύντομη ἔκθεση τῶν καλλιεργημένων κυττάρων εις τὸ PDGF. Αὐτὸ ἀποδείχθηκε ἀπὸ τὸ γεγονός ὅτι τὰ ἐκτεθειμένα εις τὸ PDGF κύτταρα ἔμειναν «competent» μέχρι 13 ὥρες μετὰ ἀπὸ τὴν ἀπομάκρυνση τοῦ PDGF (54). Προσθήκη πλάσματος σὲ κυτταρικές καλλιέργειες ποῦ εἶχαν προηγούμενα ἐκτεθεῖ εις τὸ PDGF ἐπέτρεψαν τὴν «progression» εις τὴν S φάση. Ὁμοίως, κύτταρα ἐκτεθειμένα εις τὸ PDGF ὑπὸ συνθήκες ἐλαττωμένης προσφορᾶς ἀμινοξέων ἔγιναν «competent» καὶ πέρασαν μέσῳ «progression», στὴν S φάση, ὅταν ἀμφοτέρα, τὸ πλάσμα καὶ τὰ ἀμινοξέα, προσετίθεντο εις τὴς κυτταρικές καλλιέργειες. Τὸ τελευταῖο πείραμα ἔδειξεν ἐπίσης ὅτι τὸ βασικὸ «σημεῖο περιορισμοῦ», ποῦ προκαλεῖται ἀπὸ ἔλλειψη θρεπτικῶν οὐσιῶν, ἐπισυμβαίνει κατὰ τὴν διάρκεια τῆς φάσεως «progression», τῆς μεταβάσεως ἀπὸ τὸ G_0 / G_1 εις τὸ S.

Οἱ μελέτες αὐτὲς ἔδειξαν ὅτι μιὰ παροδικὴ ἔκθεση τῶν καλλιεργημένων κυττάρων εις τὸ PDGF μποροῦσε νὰ καταστήσει τὰ κύτταρα ἱκανὰ νὰ εἰσέλθουν εις τὸν κυτταρικὸ κύκλο. Αὐτὸ ὑποδηλοῖ ὅτι τὰ ἐνδοκυτταρικά σήματα ποῦ γεννιῶνται ἀπὸ τὴν παροδικὴ ἔκθεση εις τὸ PDGF εἶναι σταθερὰ καὶ παραμένουν μετὰ ἀπὸ τὴν ἀπομάκρυνση τοῦ PDGF. Φαίνεται ὅτι τὸ PDGF ἐπάγει εις κύτταρα στόχους του, σταθεροὺς δευτεροταγεῖς «ἐπηρεαστὲς» ποῦ τὰ καθιστᾷ ἱκανὰ νὰ ἀντιδρῶν εις τοὺς παράγοντες progression. Ἐφ' ὅσον ἀναστολεῖς τῆς συνθέσεως RNA καὶ πρωτεϊνῶν μπλοκάρουν τὴν ἀντίδραση «competency», εἶναι δυνατόν νὰ ὑποθέσει κανεὶς ὅτι τέτοιοι ἐπηρεαστὲς θὰ μποροῦσαν νὰ εἶναι ἐξειδικευμένα RNA, ἢ/καὶ πρωτεΐνες ἐπαγμένες ἀπὸ τὸ PDGF.

Ἡ ἔρευνα γιὰ τὴν ταυτοποίηση ἐνδοκυτταρικῶν σημάτων εις ἀπάντηση «competency» ποῦ ἐπάγεται ἀπὸ τὸ PDGF, ἔδωσε ἐνδείξεις γιὰ τὴν ὕπαρξη πρωτεϊνῶν καὶ RNAs ποῦ ἐπάγονται ἀπὸ τὸ PDGF εις κύτταρα 3T3 ποντικῶν εις καλλιέργεια. Ὁ Pledger et al (59) περιέγραψε τὴν ἐμφάνιση κυτταρικῶν πρωτεϊνῶν, τῶν ὁποίων ἡ παρουσία συσχετιζόταν μὲ τὴν σχέση δράσεως - ἀπαντήσεως γιὰ τὴν σύνθεση DNA ποῦ ἐπάγεται ἀπὸ τὸ PDGF εις τὰ κύτταρα αὐτά. Οἱ ἐπαγόμενες ἀπὸ PDGF πρωτεΐνες μποροῦν νὰ δρῶν ὡς δευτερογενεῖς ἐπηρεαστὲς τῆς ἀπαντήσεως «competency». Πάντως ὁ λειτουργικὸς τοὺς ρόλος κατὰ τὴν διάρκεια τῆς «competency», ἐὰν βέβαια ὑπάρχει, εἶναι ἄγνωστος. Οἱ Cochran et al (60) ὑπέθεσαν ὅτι RNA's ἐπαγόμενα ἀπὸ τὸ PDGF εἶναι ὑπεύθυνα γιὰ τὴν πρόκληση τῆς ἀντιδράσεως τῆς «compe-

tency». Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι το PDGF ήταν ικανό να προκαλέσει μιὰ σημαντική αύξηση mRNA, συμπληρωματική πρὸς κλώνους πού ὑβριδοποιούνται με cDNA ἀπὸ κύτταρα τὰ ὁποῖα εἶχαν ὑποστῆ επίδραση PDGF, ἀλλὰ ὄχι με cDNA ἀπὸ ἡρεμοῦντα κύτταρα. Τὰ πρωτογενῆ προϊόντα μεταφράσεως, διὰ mRNA πού εἶχαν ἐπιλεγῆ με τὴν μέθοδο τῆς «ἐπιλογῆς ὑβριδίων», ἦταν δύο πολυπεπτίδια με μοριακὰ βάρη 10000 καὶ 18000. Τὰ μοριακὰ βάρη αὐτὰ δὲν ἀντιστοιχοῦν εἰς τὶς ἐπαγόμενες ἀπὸ τὸ PDG, πού περιγράφονται ἀνωτέρω (59).

Τελευταῖα οἱ Kelly et al (61) ἀνέφεραν μερικὰ ἀποτελέσματα πού δείχνουν ὅτι πολλοὶ αὐξητικοὶ παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου καὶ τοῦ PDGF, ἐπάγουν τὸ C-myc mRNA. Ἡ συγκέντρωση τοῦ C-myc RNA, αὐξάνοταν 40 φορές μετὰ ἀπὸ προσθήκη PDGF εἰς καλλιέργειες 3T3 ἰνοβλαστῶν (61). Τὸ ἀποτέλεσμα παρετηρεῖτο ἐντὸς τριῶν ὥρων μετὰ τὴν προσθήκη PDGF εἰς ἡρεμοῦσες καλλιέργειες 3T3. Διατυπώθηκε ἔτσι ἡ ὑπόθεση ὅτι τὸ c-myc συμμετέχει εἰς τὴν μετάβαση τῶν κυττάρων διὰ μέσου τοῦ κυτταρικοῦ κύκλου. Ἐπίσης ὅτι ὁ μεταβιβαστής τοῦ σήματος τοῦ PDGF γιὰ τὴν ἐπαγωγή τοῦ C-myc - RNA ἦταν μιὰ ἀσταθῆς πρωτεΐνη. Ἡ ἀναγνώριση τῶν σημάτων πού προηγούνται τῆς ἐπαγωγῆς τοῦ C-myc - RNA ἀπὸ τὸ PDGF καθὼς καὶ τῶν μετα-ἐπαγωγικῶν γεγονότων πού ὀδηγοῦν εἰς τὸν ἀναδιπλασιασμὸ του DNA, θὰ συμβάλει τὰ μέγιστα εἰς τὴν κατανόηση τοῦ ρόλου τοῦ C-myc εἰς τὴν ρύθμιση τῆς κυτταρικῆς αὐξήσεως.

ΠΡΩΪΜΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΠΟΥ ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ PDGF

Τὰ ἀκόλουθα γεγονότα συσχετίζονται με τὴν δράση τοῦ PDGF. α) Δέσμευση σὲ εἰδικούς ὑποδοχεῖς εἰς τὴν κυτταρική μεμβράνη εἰς τὰ κύτταρα-στόχους εἰς καλλιέργεια. β) Ἰκανότητα νὰ διεγείρει κινάσες εἰδικές γιὰ τὴν τυροσίνη, πού μποροῦν νὰ φωσφορυλιώσουν κυτταρικές μεμβράνες καὶ κυτταρικές πρωτεῖνες εἰς τὸ κατάλοιπο τυροσίνης.

Ἡ δέσμευση εἰς ὑποδοχεῖς ἔχει ἀναγνωρισθῆ ὡς τὸ πιὸ πρόωμο γεγονὸς εἰς τὴν δράση βιολογικὰ ἐνεργῶν οὐσιῶν. Ἡ παρουσία ὑποδοχέων PDGF ἔχει δειχθῆ σὲ κύτταρα-στόχους ὅπως εἶναι οἱ ἰνοβλάστες, τὰ νευρογλειϊκὰ κύτταρα καὶ τὰ ἀρτηριακὰ λεῖα μυκὰ κύτταρα εἰς καλλιέργεια (62-66). Ἡ δέσμευση τοῦ PDGF ἀποδείχθηκε ὅτι ἦταν ἐξαρτώμενη ἀπὸ τὴν θερμοκρασία. Στὸς 37° τὸ δεσμευμένο PDGF εἰσέρχεται εἰς τὸ κύτταρο καὶ ἀποικοδομεῖται με χρόνον ἡμιζωῆς μιᾶς-τριῶν ὥρων. Τὸ σύμπλεγμα PDGF - ὑποδοχέα φαίνεται νὰ συσσωματώνεται εἰς τὴν κυτταρική ἐπιφάνεια (67) καὶ εἰσέρχεται ἐντὸς τοῦ κυττάρου μέσω τῆς ὁδοῦ τῶν ἐνδοσωμάτων.

Ἐν ἀντιθέσει μὲ τὰ φυσιολογικά κύτταρα, τὰ μετασχηματισμένα κύτταρα ὅπως τὰ ἀνθρώπινα ὀστεοσαρκωματικά κύτταρα, πού παράγουν πολυπεπτίδια σχετικά μὲ τὸ *PDGF*, δὲν δείχνουν σημαντικό ἀριθμὸ ὑποδοχέων *PDGF* (15,16). Οἱ μετασχηματισμένοι ἀπὸ *SSV* / *NRK* - ἰνοβλάστες περιέχουν ἓνα σημαντικό μικρότερο ἀριθμὸ ὑποδοχέων *PDGF*, συγκρινόμενοι μὲ φυσιολογικά μὴ μετασχηματισμένα *NRK* - κύτταρα (13). Μιὰ δυνατὴ ἐξήγηση γιὰ τὸ σημαντικὰ κατώτερο ἀριθμὸ ὑποδοχέων εἰς τὰ μετασχηματισμένα κύτταρα, βασίζεται εἰς τὴν ὑπόθεση τοῦ κορεσμοῦ τῶν θέσεων δεσμεύσεως καὶ ἢ / εἰς κατάσταση ἀρνητικῆς ρυθμίσεως «*down regulation*» τοῦ ὑποδοχέα, πού ὀφείλεται εἰς τὴν συνεχῆ ἔκκριση πολυπεπτιδίων ἀπὸ τὰ μετασχηματισμένα κύτταρα, πού μοιάζουν μὲ τὸ *PDGF*. Ἀπὸ τὴν ἄλλη μεριά εἶναι φανερό ὅτι ὁ μικρὸς ἀριθμὸς τῶν ὑποδοχέων εἰς τὰ μετασχηματισμένα κύτταρα, εἶναι ἐνδειξη γιὰ μιὰ «ἀτροφία» εἰς τὴν παραγωγή ὑποδοχέων, ἐν περιπτώσει πού τὰ πολυπεπτίδια μοιάζουν μὲ τὸ *PDGF*, καὶ πού συνθέτονται ἀπὸ τὰ μετασχηματισμένα κύτταρα, ἐκφράζουν τὴν λειτουργία τους ἐνδοκυτταρικά, παρακάμπτοντας οὕτως τὴν ἀνάγκη γιὰ δέσμευση εἰς ἐξωκυτταρικούς μεμβρανικούς ὑποδοχεῖς. Πάντως δὲν ὑπάρχουν ἐνδείξεις μέχρι σήμερα γιὰ ἐνδοκυτταρικὴ δράση τοῦ *PDGF*.

Φωσφορυλίωση κυτταρικών μεμβρανικών πρωτεϊνῶν πού ἀφορᾷ εἰδικές κινάσες γιὰ τὴν τυροσίνη ἔχει συζητηθεῖ σχετικά μὲ τὴν ρύθμιση τοῦ κυτταρικοῦ πολλαπλασιασμοῦ, τόσο ἀπὸ τοὺς πολυπεπτιδικούς αὐξητικούς παράγοντες ὅσον καὶ ἀπὸ τίς εἰδικές πρωτεῖνες μετασχηματισμοῦ, πού εἶναι προϊόντα πολλῶν ὀγκογονιδίων τῶν *retro* - ἰῶν (68). Τὸ *PDGF* ἀποδείχθηκε ὅτι διεγείρει κινάσες, πού μποροῦν νὰ φωσφορυλιώσουν μεμβρανικές καὶ ἐνδοκυτταρικές πρωτεῖνες εἰς τὰ κατάλοιπα τῆς τυροσίνης (49-52). Ἡ πρωτεΐνη - στόχος τῶν μεμβρανῶν τῶν ἀνθρώπινων ἰνοβλαστῶν φαίνεται νὰ ἔχει μοριακὸ βάρους γύρω στὸ 185000. Ὑπάρχουν μόνο ἔμμεσες ἐνδείξεις ὅτι ἡ ἐνεργότητα τῆς ἐξαρτώμενης ἀπὸ *PDGF* κινάσης ἐμπεριέχεται εἰς τὸ μόριο τοῦ ὑποδοχέα τοῦ *PDGF*. Αὐτὸ ἔχει δειχθεῖ προηγουμένα γιὰ τοὺς ὑποδοχεῖς τοῦ *EGF* (69) καὶ ἰνσουλίνης (70), πού ἀποδείχθηκε ὅτι φωσφορυλιώνονται.

Θεωρώντας τὰ πρώιμα γεγονότα τῆς δράσεως τοῦ *PDGF* εἰς τὰ φυσιολογικά κύτταρα πρέπει νὰ ἔχουμε ὑπ' ὄψη μας ὅτι τόσο τὴν δέσμευση τοῦ *PDGF* ἀπὸ τὸν ὑποδοχέα ὅσο καὶ ἡ φωσφορυλίωση ἐπισυμβαίνουν ἐντὸς ὀλίγων λεπτῶν μετὰ τὴν ἔκθεση τῶν κυτταροκαλλιεργειῶν εἰς τὸ *PDGF*. Ὅμως ἡ σύνθεση τοῦ *DNA*, πού διεγείρεται ἀπὸ τὴν δράση τοῦ *PDGF*, ἀρχίζει 12-15 ὥρες μετὰ. Ἐπομένως, ὑπάρχει ἓνα σημαντικό διάστημα μεταξὺ τοῦ ἀρχικοῦ γεγονότος καὶ τῆς ἐκφράσεως τῆς δράσεως τοῦ *PDGF*. Ἡ διαπίστωση τῶν ἐνδοκυτταρικών σημάτων πού ἐπάγονται ἀπὸ τὸ *PDGF* καὶ ἡ διαδοχὴ τῶν γεγονότων πού ὀδηγεῖ εἰς τὴν ἀναπαραγωγή τοῦ *DNA* θὰ ἀποτελέσει μιὰ σημαντικὴ συμβολὴ εἰς τὴν κατανόηση τῶν μηχανισμῶν πού διέπουν τὴν μιτογένεση τῶν κυττάρων ὑπὸ τὴν ἐπίδραση τοῦ *PDGF*.

ΤΟ PDGF ΚΑΙ Η ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΤΟΥ SSV ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ
ΑΠΟ ΤΟ ΙΔΙΟ ΓΟΝΙΔΙΟ

Ἡ διαπίστωση τῆς ἀμινοτελικῆς ἀμινοξικῆς ἀλληλουχίας τοῦ ἀνθρώπινου PDGF (10) ὁδήγησε εἰς τὴν ἀνακάλυψη τῆς ὁμοιότητάς του μὲ τὸ προϊόν τοῦ γονιδίου τοῦ μετασχηματισμοῦ τοῦ SSV (6.9). Ὁ ρετρο - ἰὸς αὐτὸς ἀπομονώθηκε ἀρχικὰ ἀπὸ ἓνα ἰνοσάρκωμα καὶ εἶναι ὁ μόνος ἰὸς σαρκώματος ποῦ προέρχεται ἀπὸ πρῶτιστα (71). Ὁ χαρακτηρισμὸς τοῦ γονιδίου του ἐπέτρεψε τὴν ἐντόπιση τοῦ γονιδιακοῦ μετασχηματισμοῦ εἰς τὴν ὄγκογόνο ἀλληλουχία V-SiS (72-73). Τὸ V-SiS ἔχει ἀναλυθεῖ εἰς τὴν πρωτοταγή του δομὴ ἀπὸ τὸν Devare et al (7) καὶ τὸ προϊόν του, (p 28 SiS), ἡ πρωτεΐνη μετασχηματισμοῦ ποῦ ἔχει μοριακὸ βάρους 28000, ἔχει διαπιστωθεῖ μὲ ἀνοσοκατακρήμνιση μὲ ἀντισώματα παραχθέντα ἐναντίον συνθετικῶν πολυπεπτιδίων ποῦ ἀντιστοιχοῦν στὶς ἀμινο-καὶ καρβόξυλο τελικὲς ὁμάδες (8). Ἀνάλυση μὲ ἠλεκτρονικοὺς ὑπολογιστὲς ἔχει δεῖξει μιὰ σχεδὸν πλήρη ὁμοιότητα μεταξὺ τῶν ἀλληλουχιῶν τῆς ἀλυσίδας τοῦ PDGF-2 καὶ τοῦ SSV ὄγκογόνου προϊόντος, p 28 SiS.

Τὸ SSV ὄγκογονίδιο κωδικοποιεῖ μιὰ πρωτεΐνη ποῦ ἀποτελεῖται ἀπὸ 226 ἀμινοξέα. Ἡ περιοχὴ ποῦ ἀντιστοιχεῖ εἰς τὸ PDGF ἀρχίζει ἀπὸ τὸ μόριο σερίνης εἰς θέση 67 ποῦ ἀκολουθεῖ μιὰ διπλὴ βασικὴ ἀλληλουχία εἰς τὶς θέσεις 65-66 (6). Αὕτη φαίνεται νὰ εἶναι τὸ σημεῖο ὠριμάνσεως, ποῦ δίδει ἓνα πολυπεπτίδιο 160 ἀμινοξέων μὲ ἓνα μοριακὸ μέγεθος 18056, δηλαδὴ οὐσιαστικὰ τὸ ἴδιο μέγεθος ποῦ ἔχει ὑπολογισθεῖ γιὰ τὴν ἀλυσίδα τοῦ PDGF 2, μὲ βάση ἠλεκτροφόρηση SDS σὲ πολυακρυλαμίδικὸ πήκτωμα (10). Πάντως τὸ SSV-ὄγκογονίδιο κωδικοποιεῖ μιὰ μόνο ἀλυσίδα (PRGF-2) τοῦ PDGF πολυπεπτιδίου. Γιὰ τὸν λόγο αὐτὸ ἦταν σημαντικὸ νὰ διαπιστώσουμε ἐὰν τὸ προϊόν τοῦ ὄγκογονιδίου λειτουργοῦσε σὰν μοναδικὴ πολυπεπτιδικὴ ἀλυσίδα ἢ μὲ τρόπο ὅμοιο μὲ τὸν σχηματισμὸ τοῦ διμεροῦς μὲ πρωτεολυτικὴ διάσπαση, ποῦ καταλήγει σὲ μόρια δομικὰ καὶ ἀνοσολογικά, παρόμοια μὲ τὶς διμερεῖς μορφὲς τοῦ PDGF, ἐνωμένες μὲ δισουλφιδικὲς γέφυρες (11). Πρόσφατες μελέτες ἔδειξαν ὅτι τὸ ὠριμο αὐτὸ προϊόν ἐκκρίνεται ἀπὸ SSV - μετασχηματισμένους ἰνοβλάστες στὸ θρεπτικὸ ὑλικὸ εἰς βιολογικὰ δραστικὴ μορφή, ποῦ ἀναγνωρίζεται ἀπὸ ἀντισώματα τοῦ PDGF (13). Ἰδιότητες καὶ βιολογικὲς δραστηριότητες εἶναι ὅμοιες μὲ αὐτὲς τοῦ PDGF. Πρόκειται γιὰ θερμοσταθερὸ (100°, 10 λεπτά) μόριο, ποῦ ἀδρανοποιεῖται μὲ ἀναγωγικὰ ἀντιδραστήρια. Κάτω ἀπὸ συνθήκες μὴ ἀναγωγικὲς τὸ M.B. προσδιορίσθηκε στὶς 34000 καὶ μετὰ ἀναγωγὴ στὶς 17000. Οἱ ἰδιότητες αὐτὲς ὁμοιάζουν μὲ αὐτὲς τοῦ βιολογικὰ δραστικοῦ PDGF καὶ συμβαδίζουν μὲ μιὰ διμερὴ μορφή συνδεδεμένη μὲ δισουλφιδικὲς γέφυρες. Οἱ μελέτες αὐτὲς ἀπέδειξαν σαφέστατα ὅτι τὸ βιολογικὰ δραστικὸ SSV-ὄγκογόνο προϊόν εἶναι ἓνα διμερὲς ἀποτελούμενο ἀπὸ

δυο άλυσίδες ένωμένες με δισουλφιδικούς δεσμούς. Ή άνοσολογική του δραστικότητα και οί βιολογικές του ιδιότητες είναι όμοιες με αυτές του PDGF.

ΤΟ PDGF ΚΑΙ Ο ΚΑΚΟΗΘΗΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ

Τά άνωτέρω περιγραφέντα άποτελέσματα προμήθευσαν τόν έλλείποντα κρίκο για τήν κατανόηση τών μηχανισμών του κυτταρικού μετασχηματισμού πού έπάγονται άπό τά όγκογονίδια του SSV. Το όγκογονίδιο αυτό, τό V-S i S, δείχθηκε ότι κωδικοποιεί ένα πολυπεπτιδίο παρόμοιο με τό PDGF και πού είναι ίσχυρό μιτογόνο για τούς ίνοβλάστες, για τά άρτηριακά λεϊα μυικά κύτταρα, καθώς και για τά νευρογλοιακά κύτταρα. Ή ενεργοποίηση τής μεταγραφής του S i S μπορεί να προκαλέσει τόν συνεχή πολλαπλασιασμό κυττάρων πού ανταποκρίνεται στην μιτογόνο δράση του μορίου πού μοιάζει με τό PDGF. m-RNA's πού σχετίζονται με τό S i S έχουν βρεθεί σε ανθρώπινους όγκους μεσογχυματικής προελεύσεως, όπως τά γλοιοβλαστώματα, τά όστεοσαρκώματα και ίνοσαρκώματα (14). Σε μερικές κυτταρικές γραμμές μολυσμένες με τόν ανθρώπινο ίο τής λευχαιμίας τών T-κυττάρων διαπιστώθηκαν επίσης mRNA σχετιζόμενα με τό SiS (14). Ή παρουσία μιτογόνων πολυπεπτιδίων πού όμοιάζουν με τό PDGF έχει δείχθει και εις θρεπτικά ύγρά κυτταροκαλλιιεργειών, καθώς και μετά άπό τήν λύση ανθρώπινων κακοήθων κυττάρων μεσεγχυματικής προελεύσεως.

Οί Heldin et al (15) άρχικά περιέγραψαν τήν παρουσία πολυπεπτιδίων όμοιων με PDGF εις καλλιέργειες ανθρώπινων όστεοσαρκωματικών κυττάρων. Οί παρατηρήσεις αυτές επιβεβαιώθηκαν και επεκτάθηκαν άπό τούς Graves et al (16). Πιο πρόσφατα ένα μιτογόνο σαν τό PDGF έχει διαπιστωθει εις τό θρεπτικό μέσον τών καλλιιεργημένων ανθρώπινων γλοιοβλαστικών κυττάρων (17), και σε κυτταρικά λύματα, καθώς και στο θρεπτικό ύλικό ανθρώπινων γλοιοβλαστικών και ίνοσαρκωματικών κυττάρων (Πανταζής et al, μη δημοσιευμένα άποτελέσματα). Άνοσοκατακρήμνιση, με αντίσωμα έναντίον του PDGF, μεταβολικώς σημασμένων λυμάτων καθώς και θρεπτικών ύγρών πού προέρχονται άπό κυτταρικές σειρές ανθρώπινων ίνοσαρκωμάτων, γλοιοβλαστωμάτων και όστεοσαρκωμάτων, έδειξε τήν ώρίμανση, τήν βιοσύνθεση και τήν άπελευθέρωση πολυπεπτιδίων παρόμοιων με τό PDGF άπό τά καρκινικά κύτταρα. (Owen et al, Pantazis et al, άδημοσίευτα άποτελέσματα). Όμοιες παρατηρήσεις έγιναν και σε μερικά κύτταρα μολυσμένα με HTLV (Salahuddin, Pantazis et al, άδημοσίευτα άποτελέσματα). Τελευταία, παρασκευάσθηκε βιβλιοθήκη cDNA άπό mRNA, άπομονωμένα άπό ανθρώπινα όστεοσαρκοπλασματικά κύτταρα. Ή άλληλουχία ενός άπό τά μέλη τής βιβλιοθήκης τών κοσμιδίων πού ύβρι-

δοποιείται με δείγμα V-SiS έχει αναλυθεί και έχει βρεθεί ότι κωδικοποιεί ένα πεπτίδιο που είναι πάνω από 90% όμοιο με την προβλεπόμενη C-τελική περιοχή του προϊόντος του V-SiS (Tempst et al, μη δημοσιευμένα αποτελέσματα). Τα ευρήματα που αναφέρθηκαν άνωτέρω συνηγορούν στην υπόθεση ότι η ενεργοποίηση του S i S μπορεί να εμπλέκεται εις την διεργασία που οδηγεί εις την μετατροπή φυσιολογικών κυττάρων όρισμένων τύπων προς κακοήθεια.

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Οί μελέτες του PDGF που αναφέρθηκαν εδώ, αποτελούν συλλογική προσπάθεια έρευνητών τα τελευταία 10 χρόνια. Οί μελέτες αυτές παρήγαγαν άφθονία πληροφοριών σχετικά με την φύση και την δομή του PDGF, τόν ρόλο του εις την κυτταρική αύξηση, καθώς και τις διάφορες λειτουργίες που επιδρούν εις την κυτταρική μετανάστευση, εις τις μεταβολικές διεργασίες και εις τόν έπηρεασμό του υποδοχέα. Η έργασία αυτή επίσης οδήγησε εις μίαν σημαντική ανακάλυψη που σχετίζει τó ισχυρό αυτό μιτογόνο προς την πρωτεΐνη μετασχηματισμού του SSV, δίδοντας έτσι μιá βάση για την κατανόηση των διεργασιών που συμμετέχουν εις τόν μετασχηματισμό που προκαλείται από τó όγκογονίδιο του SSV. Υπάρχουν πολλές ακόμη έρωτήσεις που πρέπει να άπαντηθούν. Για παράδειγμα τó PDGF έχει έντοπισθεί στα α-κοκκία των αίμοπεταλίων. Έχει διατυπωθεί ή υπόθεση ότι συντίθεται εις τά μεγακαρυοκύτταρα, αλλά δέν υπάρχει πειραματική άπόδειξη γι' αυτό. Η δράση του PDGF συσχετίζεται με μιá παροδική έκθεσή του εις ίνοβλάστες εις καλλιέργεια, γεγονός που καθιστά τά κύτταρα αυτά ικανά να εισέλθουν εις τόν κυτταρικό κύκλο. Τά ένδοκυτταρικά συμβάματα μεταξύ τής έπαγωγικής αυτής δράσεως του PDGF, μέχρι τόν άναδιπλασιασμό του DNA είναι άγνωστα. Πρόοδος έπιτελείται εις τόν συσχετισμό τής ένδοκυτταρικής πρωτεϊνικής και RNA συνθέσεως, με την διεργασία αυτή. Τά c-myc RNA που διαγείρονται από τó PDGF εις κύτταρα που έχουν καταστεί «competent» κατόπιν δράσεως του PDGF έχουν συγκεντρώσει μεγάλο ένδιαφέρον, καθότι για πρώτη φορά υπάρχει συσχέτιση μεταξύ PDGF και ενεργοποίησεως όγκογονιδίων. Τó PDGF φαίνεται να άρχίζει την δράση του δεσμευόμενο εις ειδικούς υποδοχείς εις τις μεμβράνες. Ο μηχανισμός ισχύει για φυσιολογικά, μη μετασχηματισμένα, κύτταρα. Εις μετασχηματισμένα κύτταρα που παράγουν και έπεξεργάζονται μιτογόνα που μοιάζουν με PDGF, ή δράση του PDGF δύναται να περιλαμβάνει ένα άμεσο ένδοκυτταρικό σήμα, χωρίς άνάγκη για προηγούμενη έκκριση και δέσμευση εις μεμβρανικό υποδοχέα. Η πληροφορία αυτή είναι σημαντική για την άνάπτυξη στρατηγικής για τόν έλεγχο του όγκογονιδίου μετασχηματισμού.

Τὸ βιολογικὰ ἐνεργό, ἐπεξεργασμένο προϊόν τοῦ γονιδιακοῦ μετασχηματισμοῦ τοῦ SSV ἔχει ἀνιχνευθεῖ ὡς ἓνα ὁμοδιμερές τοῦ PDGF-2, πού συγκρατεῖται μὲ δι-σουλφιδικούς δεσμούς. Εἶναι δυνατὸν ἄλλο ὄγκογονίδιο νὰ κωδικοποιεῖ τὸ ὁμοδιμε-ρές τοῦ PDGF-1, πού ἔχει δειχθεῖ ὅτι ἔχει 50% ὁμολογία μὲ τὸ PDGF-2. Οἱ μηχανισμοὶ πού συμμετέχουν εἰς τὴν ἐνεργοποίηση τοῦ S i S καὶ ὁ ρόλος τῶν ἄλλων ὄγκονιδίων καὶ ἄλλων καρκινογόνων εἰς τὶς διεργασίες αὐτὲς πρέπει νὰ διερευνηθεῖ. Αὐτὰ εἶναι μερικὰ παραδείγματα ἀπὸ ὀρισμένα βασικὰ ἐρωτήματα πού χρειάζονται περαιτέρω ἔρευνα. Τὰ πρῶτα 10 χρόνια τῆς ἔρευνας γιὰ τὸ PDGF ἦταν παραγωγικά. Τὰ ἐπόμενα δέκα χρόνια μὲ νέους ἐρευνητές, συμμετέχοντες εἰς τὰ προγράμματα μὲ τοὺς παλαίμαχους, θὰ δεῖξουν θεαματικὴ πρόοδο.

Εὐχαριστῶ τὸν Καθηγητὴ Κύριο Κωνσταντῖνο Σέκερη γιὰ τὴν πολύτιμη βοή-θεια εἰς τὴν προετοιμασία τοῦ κειμένου.

Οἱ ἔρευνες πού ἔγιναν εἰς τὰ ἐργαστήριά μας ὑποστηρίχθηκαν ἀπὸ ἐρευνητικὰ κονδύλια τοῦ Ἑθνικοῦ Ἰνστιτούτου Καρκίνου τῶν Η.Π.Α. καὶ ἀπὸ τὴν Ἀμερικανικὴ Ἀντικαρκινικὴ Ἑταιρεία.

S U M M A R Y

Investigations of human platelet-derived growth factor (PDGF), a potent mitogen for mesenchymal derived cells in culture have provided a rational basis for the understanding of at least one mechanism involved in malignant transformation. PDGF is a heat-stable (100°C), cationic (isoelectric point 9.8) polypeptide that circulates in blood stored in the α-granules of platelets. It is released from platelets into the serum during blood clotting constituting the major polypeptide growth factor of serum. It is suggested that in vivo, PDGF is delivered during platelet degranulation at the site of injury where it participates in the process of wound healing by stimulating the proliferation and migration of connective tissue cells. We have shown recently that PDGF and the transforming protein of the simian sarcoma virus (SSV), an acute transforming retrovirus of primate origin, derive from the same or closely related cellular genes. This conclusion is based on the demonstration that PDGF and the SSV transforming protein share extensive amino acid sequence homology, have common antigenic determinants and structural conformation, and exert identical biological functions. These findings suggest that the ability of the simian sarcoma virus to induce transformation derives from the incorporation

of the PDGF gene within the retroviral genome. The resulting transforming onc gene (v-sis) region within the retrovirus genome codes for a PDGF-like mitogen and is capable of inducing neoplastic transformation by the continuous production of this potent mitogen causing sustained cell proliferation. Consistent with the findings described above is the detection of v-sis-related messenger RNA's in human tumors of mesenchymal origin, such as glioblastomas, fibrosarcomas, and osteosarcomas. Production of PDGF-like mitogen by these human malignant cells in culture has been established. More recent studies have demonstrated that these cells synthesize, process, and release PDGF-like polypeptides which are recognized by specific PDGF-antisera.

These findings demonstrate that activation of sis transcription can cause the sustained abnormal proliferation of human cells which are target cells of PDGF action. Thus, sis activation may be involved in the process leading normal cells of mesenchymal origin toward malignancy.

BΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. B. Westermark and A. Wasteson, *Adv. Metab. Disord.* 8, 85 (1975).
2. R. Ross and A. Vogel. *Cell* 14, 203 (1978).
3. C. D. Scher, R. C. Shepard, H. N. Antoniades and C. D. Stiles, *Biochim. Biophys. Acta* 560, 217 (1979).
4. H. N. Antoniades, C. D. Scher and C. D. Stiles, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 1809 (1979).
5. D. R. Kaplan, F. C. Chao, C. D. Stiles, H. N. Antoniades and C. D. Scher, *Blood* 53, 1043 (1979).
6. R. F. Doolittle, M. W. Hunkapiller, L. E. Hood, S. G. Devare, K. C. Robbins, S. A. Aaronson and H. N. Antoniades, *Science* 221, 275 (1983).
7. S. C. Devare, E. P. Reddy, J. D. Law, K. C. Robbins and S. A. Aaronson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80, 731 (1983).
8. K. C. Robbins, S. G. Devare, E. P. Reddy and S. A. Aaronson, *Science* 218, 1131 (1982).
9. M. D. Waterfield, G. T. Scrace, N. Whittle, P. Stroobant, A. Johnson, A. Wasteson, B. Westermark, C. H. Heldin, J. S. Huang and T. F. Deuel, *Nature (London)* 304, 35 (1983).
10. H. N. Antoniades and M. W. Hunkapiller, *Science* 220, 963 (1983).
11. K. C. Robbins, H. N. Antoniades, S. G. Devare, M. W. Hunkapiller and S. A. Aaronson, *Nature (London)* 305, 605 (1983).

12. T. F. Deuel, J. S. Huang, S. S. Huang, P. Stroobant and M. D. Waterfield, *Science* 221, 1348 (1983).
13. A. J. Owen, P. Pantazis and H. N. Antoniades, *In preparation*.
14. A. Eva, K. Robbins, P. R. Anderson, A. Srinivasan, S. R. Tro-nick, E. P. Reddy, N. W. Ellmore, A. J. Gallen, J. A. Lauten-berger, T. S. Papas, E. H. Westin, F. Wong-Staal, R. Gallo and S. A. Aaronson, *Nature (London)* 295, 116 (1982).
15. C. H. Heldin, B. Westermark and A. Wasteson, *J. Cell Phys.* 105, 235 (1980).
16. D. T. Graves, A. J. Owen and H. N. Antoniades, *Cancer Res.* 43, 83 (1983).
17. M. Nister, C. H. Heldin, A. Wasteson and B. Westermark, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81, 926 (1984).
18. H. N. Antoniades, D. Stathakos and C. D. Scher, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72, 2535 (1975).
19. S. Balk, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 68, 271 (1971).
20. R. Ross, J. Glomset, B. Kariya and L. Harker, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71, 1207 (1974).
21. N. Kohler and A. Lipton, *Exp. Cell Res.* 87, 297 (1984).
22. G. J. Todaro, K. K. Lazar and H. Green, *J. Cell Comp. Physiol.* 66, 365 (1965).
23. H. W. Temin, *J. Natl. Cancer Inst.* 37, 167 (1966).
24. C. D. Scher, D. Stathakos and H. N. Antoniades, *Nature (London)* 247, 279 (1974).
25. H. N. Antoniades and C. D. Scher, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74, 1973 (1977).
26. H. N. Antoniades and C. D. Scher, *Natl. Cancer Inst. Monograph* 48, 137 (1977).
27. C. H. Heldin, B. Westermark and A. Wasteson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 3722 (1979).
28. T. F. Deuel, J. S. Huang, R. T. Proffit, J. V. Baenziger, D. Chang and B. B. Kennedy, *J. Biol. Chem.* 256, 8896 (1981).
29. E. W. Raines and R. Ross, *J. Biol. Chem.* 257, 5154 (1982).
30. H. N. Antoniades, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 7314 (1981).
31. C. H. Heldin, B. Westermark and A. Wasteson, *Biochem. J.* 193, 907 (1981).
32. R. M. Hewick, M. W. Hunkapiller, L. E. Hood and W. J. Dreyer, *J. Biol. Chem.* 256, 7990 (1981).
33. G. R. Grotendorst, H. E. J. Seppa, H. K. Kleinman and G. R. Mar-tin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 3669 (1981).
34. H. Seppa, G. Grotendorst, S. Seppa, E. Schiffmann and G. Mar-tin, *J. Cell Biol.* 92, 584 (1982).
35. L. R. Bernstein, H. N. Antoniades and B. R. Zetter, *J. Cell Sci.* 56, 71 (1982).
36. T. F. Deuel, R. M. Senior, J. S. Huang, G. L. Griffin, *J. Clin. Invest.* 69, 1046 (1982).

37. A. J. Owen, R. P. Geyer and H. N. Antoniadou, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79, 3203 (1982).
38. A. Chait, R. Ross, J. J. Albers and E. L. Bierman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77, 4084 (1980).
39. L. D. Witte and J. A. Cornicelli, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77, 5962 (1980).
40. L. D. Witte, J. A. Cornicelli, R. W. Miller and D. S. Goodman, *J. Biol. Chem.* 257, 5392 (1982).
41. C. C. Leslie, H. N. Antoniadou and R. P. Geyer, *Biochim. Biophys. Acta* 711, 290 (1982).
42. W. T. Shier, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77, 137 (1980).
43. S. R. Coughlin, M. A. Moskowitz, B. R. Zetter, H. N. Antoniadou and L. Levine, *Nature (London)* 288, 600 (1980).
44. S. R. Coughlin, M. A. Moskowitz, H. N. Antoniadou and L. Levine, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 7134 (1981).
45. A. H. Tashjian, E. L. Hohmann, H. N. Antoniadou and L. Levine, *Endocrinology* 111, 118 (1982).
46. B. Ek, B. Westermark, A. Wasteson and C. H. Heldin, *Nature (London)* 295, 419 (1982).
47. B. Ek and C. H. Heldin, *J. Biol. Chem.* 257, 10486 (1982).
48. J. Nishimura, J. S. Huang and T. F. Deuel, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79, 4303 (1982).
49. J. A. Cooper, D. F. Bowen-Pope, E. Raines, R. Ross and T. Hunter, *Cell* 31, 263 (1982).
50. A. J. Owen, P. Pantazis and H. N. Antoniadou, *J. Biol. Chem.* submitted.
51. R. Ross and J. Glomset, *N. Engl. J. Med.* 295, 369 (1976).
52. R. Ross, *Atherosclerosis* 1, 293 (1981).
53. C. D. Scher, W. J. Pledger, P. Martin, H. N. Antoniadou and C. D. Stiles, *J. Cell Physiol.* 97, 371 (1978).
54. W. J. Pledger, C. D. Stiles, H. N. Antoniadou and C. D. Scher, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74, 4481 (1977).
55. W. J. Pledger, C. D. Stiles, H. N. Antoniadou and C. D. Scher, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 75, 2839 (1978).
56. C. D. Stiles, G. T. Capone, C. D. Scher, H. N. Antoniadou, J. J. Van Wyk and W. J. Pledger, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 1279 (1979).
57. C. D. Stiles, R. R. Isberg, W. J. Pledger, H. N. Antoniadou and C. D. Stiles, *J. Cell Physiol.* 99, 395 (1979).
58. A. Pardee, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71, 1286 (1974).
59. W. J. Pledger, C. A. Hart, K. L. Locatell and C. D. Scher, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 4358 (1981).
60. B. H. Cochran, A. C. Reffel and C. D. Stiles, *Cell* 33, 939 (1983).
61. K. Kelly, B. H. Cochran, C. D. Stiles and P. Leder, *Cell* 35, 603 (1983).
62. C. H. Heldin, B. Westermark and A. Wasteson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 3664 (1981).

63. C. H. Heldin, B. Ek and L. Ronnstrand, *J. Biol. Chem.* 258, 10054 (1983).
64. D. F. Bowen-Pope and R. Ross, *J. Biol. Chem.* 257, 5161 (1982).
65. J. S. Huang, S. S. Huang, B. Kennedy and T. F. Deuel, *J. Biol. Chem.* 257, 8130 (1982).
66. L. T. Williams, P. Tremble and H. N. Antoniades, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79, 5887 (1982).
67. J. Nilsson, J. Thyberg, C. H. Heldin, B. Westermark and B. Wasteson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80, 5592 (1983).
68. T. Hunter and B. Sefton, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77, 1311 (1980).
69. S. Cohen, G. Carpenter and L. King, *J. Biol. Chem.* 255, 4834 (1980).
70. M. Kasuga, F. A. Karlsson and C. R. Kahn, *Science* 215, 185 (1982).
71. G. J. Thielen, D. Gould, M. Fowler and D. L. Dungworth, *J. Natl. Cancer Inst.* 47, 881 (1971).
72. K. C. Robbins, S. G. Devare and S. A. Aaronson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 2918 (1981).
73. E. P. Gelmann, F. Wong-Staal, R. A. Krammer and R. C. Gallo, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 3373 (1981).