

Title	HeLa株細胞の巨細胞形成に就いて特にColchicine巨細胞に就いて
Author(s)	森, 陽一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28422
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	森 陽 一 もり よう いち
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 212 号
学位授与の日付	昭和 36 年 5 月 30 日
学位授与の要件	医学研究科病理系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	HeLa 株細胞の巨細胞形成に就いて 特に Colchicine 巨細胞に就いて
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教授 岡野 錦弥 教授 釜洞醇太郎 教授 西沢 義人

論 文 内 容 の 要 旨

目 的

我々は人体剖検に際し生理的或は病的な状態に於て、種々の巨態細胞を見出す事が出来るが、その生成機序、転帰に就ては、従来より数多くの推論及び実験がなされているけれども未だ定説を見ない。私はその一端を明らかにするために *in vitro* で一定の増殖を示す HeLa 細胞を使用し細胞形成機序を観察し、又細胞分裂毒として特有な Clochicine の細胞にあたる影響をしらべ著明な巨細胞が得られたので、剖検に見られた巨細胞と比較検討を試みた。

方 法

HeLa 細胞の培養にはラクトアルブミン塩加水溶液に 20% 牛血清を用い、37°C で静置培養を行った。細胞増殖度の測定にはクエン酸溶液にてその核数を算定した。位相差顕微鏡観察のためには試験管内短冊培養を用い、Leiz Panphoto 及び千代田光学 B, M., DM レンズを用い、映画撮影は淀井氏法により行った。Colchicine は 0.001r/cc 100r/cc 迄の濃度のものを培養 6 日目のものに 24 時間作用せしめ、細胞の増減、巨細胞の形成、酸素消費量、核数合成の変化をしらべた。細胞の大きさの測定には一区劃 8.2 μ^2 の micrometer を用い細胞質、核の大きさ、核小体数を特定した。*in vitro* の巨細胞との比較のために 5 例の子宮頸部癌の剖検例をえらび観察した。

(結果及び討議)

HeLa 細胞は培養 3 日目より対数増殖期に入り、約 1 週間後には 10 倍の細胞数と成る。6 日目の細胞では 3% に巨細胞が見られ、映画観察によれば異常細胞分裂の結果生じた。培養 6 日目の細胞に Colchicine 0.001r/cc, 0.01r/cc, 0.1r/cc, 1r/cc, 10r/cc, 100r/cc の濃度のものを 24 時間作用せしめると 3 日目より細胞数は減少するが、対照よりやや緩やかな対数的増殖を示して再生する。100r/cc では再生は起らなかった。Colchicine の ID₅₀ は 0.04r/cc であった。Colchicine 巨細胞の形成頻度は時間の経過と共に

増加し、濃度の高いもの程やや高率に出現する。極めて多核の巨細胞も現われ、之等には細胞増殖の能力を有せずその核細胞質は一般に低い。Colchicine 巨細胞の形成機転は細胞分裂を抑制された染色体の再融合により生じ、又分裂抑制細胞の間には細胞融合も起り極めて巨大な細胞も形成された。剖検に見られた巨細胞については、壊死或は癌真珠周辺に多く認められ、変性が強く核内構造の不明瞭なものも多く、核細胞質比は高い。

結 論

- (1) HeLa 細胞培養培養時に現われた巨細胞は細胞分裂異常の結果生じた。
- (2) Colchicine の24時間の侵襲を受けた細胞は中期の初に細胞分裂を阻止せられ約40時間後再び染色体の凝集により単核或は多核の巨細胞を形成する。この際細胞間の融合現象も生じ20倍、30倍大の巨大な細胞も現われる。
- (3) Colchicine の LD_{50} は $0.004r/cc$ である。
- (4) Colchicine の24時間侵襲を受けた細胞は濃度により一定の細胞の減少期を経た後対照よりはやや緩やかな対数増殖を示して再生する。
- (5) Colchicine による核酸合成及び酸素消費に対する影響は $0.01r/cc$ では殆んど変化を見ず $10r/cc$ では軽度に抑制される。
- (6) 人体子宮頸部癌に於る巨細胞は、症例により多少の差があるが、培養6日目の HeLa 細胞と略同程度に現われ細胞の変性が強いものが多く、その核細胞質比も高く、形態学的に細胞融合が推定される。

論文の審査結果の要旨

組織学的には病的状態に於ては勿論生理的にも種々の巨態細胞を見出す事が出来る。しかしながらその生成機転、細胞代謝、転帰等に就ては従来より種々の推論はなされているが未だ明らかな定説を見ない現状である。

著者はその一端を明らかにするために HeLa 株細胞の組織培養を用い、同一細胞を経時的に位相差顕微鏡観察をなす事により巨細胞形成機転を観察し、又細胞分裂毒として特徴のある Colchicine を適用して独特な巨細胞形成をたしかめてその作用機序を検索し併せて之等巨細胞と比較検討を行った。

研究結果を要約すれば

- (1) 20%牛血清をふくむラクトアルブミン塩酸加水溶液にて HeLa 細胞を組織培養すると、6日目の細胞に於ては約3%に対照の2倍以上の大きさの巨細胞の出現を認め、これ等のものは異常細胞分裂の結果形成せられる事を認めた。併して巨態細胞の大部分が2核細胞で細胞質、核共に規則正しくその核細胞質比も対照と略同一である。
- (2) HeLa 細胞は Colchicine の作用を受けると、分裂中期に於て細胞分裂が阻止され、Colchicine 投与中止後、正常の培養を継続すれば、約40時間後より散乱した染色体の凝集により単核或は多核の巨態細胞が形成せられる事をみた。これ等の内には核形成に至らず細胞質内或は細胞質外に染色体の流出するも

のも認められ、又核数の100個に及ぶものも存した。又この際分裂を抑制せられた細胞の間には、細胞融合の現象も認められ、細胞の大きさは最大20倍乃至30倍大に迄達した。更に培養を継続すれば益々巨細胞の形成は著明となるが之等巨細胞には分裂増殖の能力は存せず、細胞質、核も不整形な形のものも多く、その核細胞比も低く、その生存期間は20日間である。

(3) 細胞核数測定による Colchicine の LD_{50} は $0.004r/cc$ である。

(4) Colchicine の作用を受けた後再生して来る細胞は形態学的には対照細胞と同一である。

(5) Colchicine の作用を受けた HeLa 細胞の核酸合成及び酸素消費に対する影響は $0.01r/cc$ では殆んど変化を見ないが、 $10r/cc$ では軽度に抑制される。

(6) HeLa 株細胞の母組織である人体子宮頸部癌5例の巨細胞について検索した結果では、各症例の間に多少の差は認めるが、真珠巣或は変性壊死の強い部分及びその周辺には最高7%の割合に存し一般には3%内外に認められ、壊死を伴わない増殖の盛んな部分では1%前後に認められた。しかし培養巨細胞に比すれば核細胞質比が高く内には裸核のものも存し、核内構造も不明瞭なものが多い。その移行像より推定すれば細胞融合による事が想定される。以上の如く、本実験は *in vitro*において直接に巨細胞形成機序を解明し、生体内の巨細胞形成に可成り新しい知見を進めたと思われる。