

Title	実験的胸膜腫瘍よりの組織培養細胞株の樹立とその復元に関する研究：特に復元腹水腫瘍について
Author(s)	久原, 宗雄
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29267
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉大阪大学の博士論文について〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	久 原 宗 雄 く はら むね お
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 965 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 4 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	実験的胸膜腫瘍よりの組織培養細胞株の樹立とその復元 に関する研究 —特に復元腹水腫瘍について—
論文審査委員	(主査) 教 授 陣内伝之助 (副査) 教 授 岡野 錦弥 教 授 宮地 徹

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

先に教室の森川は Na 2 系マウスに 20-methylcholanthrene を作用せしめて、胸膜腫瘍を高率に発生せしめた。以来5年9カ月、同腫瘍は皮下に継代移植されて現在65代に及んでいる。この継代腫瘍は組織学的には線維肉腫像、紡錘型～多型細胞肉腫像を呈し、皮下継代8代目以後は肺に遠隔転移を起している。

著者はこの森川腫瘍について組織培養株並びに腹水腫瘍株を作製せんと試みた。

〔方法並びに成績〕

I 組織培養

Na 2 系マウス皮下に継代移植された森川腫瘍を無菌的に取出し、trypsin 処理にて細胞をばらばらにし、20%牛血清を含む YLH 溶液を medium として静置培養した。順調に發育した例では1～3カ月の後に細胞 colony の出現をみて、これを第2代へ継代し、以後は7～14日目毎に継代を繰り返して、現在130代(3年3カ月)を経過している細胞株がある。

培養細胞は fibroblast 様の外観を呈し、大きく明るい核を有し、内に1～数個の核小体をもっている。細胞質は比較的乏しく、小空胞を有する細胞もある。培養細胞の増殖力は $4 \sim 10 \times 10^4$ 個/ml の細胞濃度で1週間に6～9倍の増殖率を示す。

この組織培養細胞はマウス皮下に注入しても腫瘍を復元することは出来なかった。

II 腹水腫瘍作製実験

皮下に移植した各継代腫瘍を直接腹腔内に移植して腹水型腫瘍を作る実験は総て不成功に終わったので、一旦組織培養に移したのち、この組織培養細胞をマウス腹腔内に注入して復元腹水腫瘍作製を試みた。

皮下継代43代腫瘍の *in vitro* 22代目（培養338日）の細胞を 1×10^7 個マウス腹腔内に注入したところ、そのマウスに腹水の貯溜がみられ、検鏡により腫瘍細胞を多数証明した。直ちに之をマウス腹腔に第2代として移植すると同時に、一部を再び組織培養に戻し *in vitro* での継代を行なったところ、マウス第2代への移植は成功しなかったが、*in vitro* では順調に発育した。*in vitro* 継代3代目の細胞をマウスの腹腔に注入したところ順調に腹水型として発育し、以後6～10日目毎に腹腔内継代を繰り返して、現在34代に及んでいる。この復元腫瘍は初期には腹水と共に腹腔内に固型腫瘍がかなり高率に発生したが、継代が進むにつれて固型腫瘍は殆んどみられず腹水腫瘍のみとなった。

III 復元腹水腫瘍

復元腹水腫瘍の移植率は90%以上、担癌マウスの生存日数は平均20日である。腹水はおおよそ3/4が血性を帯びている。腫瘍細胞はすべて自由細胞で、細胞数は 2×10^7 /ml から 2×10^8 /ml の範囲内にある。腹腔内移植後4～6日頃が核分裂最も旺盛である。腫瘍細胞の大きさは 10μ から 30μ までかなり広い分布を示すが90%以上は $11 \sim 22 \mu$ の間にある。腫瘍細胞は大きな明るい円形の核を有し、1～数個の核小体を持っており Giemsa に濃染する細胞質がわずかに不規則に核の周辺に存在し、少々古くなると空胞を形成するに至る。

この腹水腫瘍細胞は AKR, ddo, C3H 系マウス等の腹腔内でもよく発育し、原発の Na 2 系マウス腹腔内継代に比して腫瘍細胞の増殖は差異は認められない。

腹水腫瘍をマウス皮下に注入して皮下腫瘍の作製を試みたところ、陽性率はわずかに11%に留まった。この皮下腫瘍はマウス第2代へ移植し得なかった。

皮下継代腫瘍、組織培養細胞、復元腹水腫瘍細胞の3者につき染色体数の算定を行なった。染色体分布はいずれも近似しており、mode はおおよそ60前後にある。

〔総括〕

著者は森川腫瘍の組織培養細胞株を樹立した。又この培養細胞をマウスに復元して腹水腫瘍系を作り得た。

組織培養を経て腹水化し得た森川腫瘍腹水型の移植率、担癌マウス生存日数、腫瘍細胞増殖率などは既存の Ehrlich 腹水腫瘍 MC 1A, MC 1M などの腹水化腫瘍に匹敵する。

論文の審査結果の要旨

教室で森川が Na 2 系マウスに 20-Methyl cholanthrene を胸膜に作用させて発生せしめた悪性腫瘍は同系マウスの皮下移植により継代され、現在65代に及んでいる。

著者はこの腫瘍株を組織培養に依って保存せんと試み、皮下継代33代、34代、43代腫瘍等より培養細胞株を得た。現在迄に継代培養130代（3年3カ月）を経過した培養細胞株がある。

この培養細胞は Na 2 系マウスの皮下には復元し得なかったが腹腔内へ注入すると復元固型腫瘍を得た。この組織像は多型細胞肉腫像を呈し皮下継代の親腫瘍と酷似している。

この培養細胞は長期間培養すると漸次マウスへの復元が困難となるが培養細胞の大量（ 10×10^6 コ）

をマウス腹腔内へ注入すると固型腫瘍と共に腫瘍腹水の貯溜をみた。この腫瘍腹水はマウス第2代目の移植は不能であったが、一旦 *In Vitro* にもどして発育させた後、マウス腹腔内へ注入すると以後引き続き *In Vivo* での植え継ぎ可能となり、現在腹水腫瘍として34代迄継代を続けている。

この腹水腫瘍はおおよそ3/3が血性であり、腫瘍細胞はすべて自由細胞で、腫瘍細胞数は 1 cm^3 中 $2\sim 20\times 10^4$ コである。

この腹水腫瘍の Na 2 系マウスへの移植率は90%以上、担癌マウスの生存日数は約20日である。Na 2 系以外の AKR, C3H, ddo 系マウス尾静脈内注入による転移実験では転移巣は証明されなかった。

皮下継代腫瘍、組織培養細胞、腹水腫瘍細胞の3者の染色体数分布はいずれも近似しており mode はおおよそ60前後である。

著者は森川の作成したマウス胸膜腫瘍の生物学的性質を明らかにすると共に、この腫瘍株の保存について実験を重ね、遂に組織培養細胞株を樹立し、更にこの培養細胞より可移植性の腹水腫瘍株を作ることが出来た。