



Title	培養骨肉腫細胞の特性
Author(s)	網谷, 克正
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31879
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	網 谷 克 正
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 4019 号
学位授与の日付	昭和 52 年 7 月 5 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	培養骨肉腫細胞の特性
論文審査委員	(主査) 教授 小野 啓郎 (副査) 教授 坂本 幸哉 教授 北村 旦

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

マウス骨肉腫より培養株細胞を樹立すると共に、培養細胞が骨肉腫細胞であるという同定の基礎を呈示する。

〔方 法〕

マウス骨肉腫 BF 及び Gardner を細胞培養系に移し 1 年以上継代培養したものを用いた。非骨肉細胞としては、マウス embryonic cells 及び脳腫瘍細胞を用いた。培養方法は Falcon plastic petri dish 上で 10% fetal calf serum (GIBCO) を含む Eagle MEM を使用し、37°C, 5% CO₂ in air とした。細膜周期の分析には、10mM の過剰 thymidine 投与による同調培養を 2 度行ない、後 DNA 合成を ³H - thymidine labelling で、mitosis 数を顕鏡的に、細胞数を血球計算法で経時的に計測した。alkaline phosphatase (ALP) 活性の測定には ALP 測定用キット、ALP-S (ヤトロン) を用い、発色値を日立 Spectrophotometer を用い 500μ で測定した。細胞の ALP 測定には、細胞に冷蒸留水を加え Potter-Elvehjem homogenizer で homogenize したものを enzyme source とした。培養液の ALP 測定には、細胞が 60mm petri dish に confluent になった状態で、phenol red を含まない通常培養液 3 ml を加え 24 時間培養し、その液について測定した。蛋白量の測定には Lowry 法を用いた。腫瘍形成能は 10⁷ 個の細胞をマウスに移植して判定した。骨形成能の測定は凍結乾燥処理物質の移植により行った。すなわち、2 mm 径程度の物質を生後 6 週 ddY ♂ マウス筋膜下に移植し、4 週で摘出し、陽性結果の % と陽性のものの平均的骨形成量で表わした。骨形成量は組織学的に absent (O) から intense (++) と表現した。Diffusion chamber は 穴径 0.45 μ, の Millipore

HA filter を用い作成した。 10^7 個の生きた BFO 細胞を含む chamber を生後 6 週 CBA マウスに iso 移植し、術後 3 週から 6 週で摘出し膜外の誘導骨を検した。

[成績]

(I) 細胞学的特徴：形態：BF 骨肉腫(BFO)，Gardner 骨肉腫細胞(GAO)とともに polygonal で多数の顎粒を含み、多核巨細胞の出現もみられる。monolayer を形成するが、ところどころ重層的に増殖し接触阻害⁻示さない。顎鏡下では osteoid の形成はみられない。成長曲線：BFO, GAO 細胞とともに initial lag phase, logarithmic phase, および terminal plateau phase より成り、logarithmic phase における doubling time は 8.6, 12.5 時間と算定された。栄養要求性：BFO 細胞の成長が logarithmic phase にきたときに通常培養液から血漬を除いて培養した。すると成長は極端におさえられたが、この成長阻害が 48 時間程度ならば阻害は可逆性であった。細胞周期の分析の結果 DNA 合成 mitosis の数、細胞数の間にきれいな相関関係が得られた。(II) 生物学的特性：alkaline phosphatase(ALP)：BFO, GAO 細胞はマウス embryonic cells や脳腫瘍細胞に比べて圧倒的に高い ALP 活性を示す。この ALP は培養液中にも分泌されている。BFO 腫瘍： 10^7 個の BFO 細胞の iso 移植はほぼ 100 % 腫瘍を形成し、この新生腫瘍は組織学的に original BF 骨肉腫と類似である。腫瘍形成と血清 ALP 値：BFO 腫瘍は 4 週ごろから急にその大きさを増し、これと並行的に血清 ALP 値が上昇する。すなわち、BFO 細胞は in vitro, in vivo を問わず大量の ALP を産生する。BFO 腫瘍の骨形成能：凍結乾燥 BFO 腫瘍は、20 移植のうち 18 に新生骨を誘導した。新生骨の平均的骨形成量は () であった。BFO 細胞の骨形成能：凍結乾燥 BFO 細胞の移植では、4 週における 20 移植片の骨形成率は 0 であった。BFO 細胞による経 filter 骨誘導：移植後 3 週において、13 個の健常な chamber のうち 9 個に膜外誘導骨の完成をみた。これらの結果から、BFO 細胞が骨形成因子を産生するためには複雑な in vivo の環境が必要であると考えられる。

[総括]

長期間継代培養したマウス骨肉腫細胞 (BFO) につき、細胞学的解析を行なった。また、この細胞がただ単に悪性腫瘍細胞としての特徴を備えているということだけでなく、骨肉腫細胞としての特性を兼ね備えているということに関し、alkaline phosphatase 及び骨形成因子の観点から検討を加えた。この種の研究の積み重ねは培養細胞の同定には欠かせないものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

実験骨肉腫を細胞培養系に移し、2 年以上の継代培養に成功し、培養株細胞 (BFO, GAO) を樹立している。BFO 細胞につき細胞学的解析をおこない、長期培養後も安定した増殖をしていることを明らかにしている。また、この細胞がただ単に悪性腫瘍細胞としての特徴を備えているということだけでなく、骨肉腫細胞としての特性を兼ね備えているということに関し、alkaline phosphatase 及び骨形成因子の観点から検討を加えている。この種の研究の積み重ねは培養細胞の同定には欠かせないものであり興味深かった。