

Title	ヒト唾液腺多形性腺腫由来の上皮細胞の生物学的特性
Author(s)	白砂, 兼光
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/31984">https://hdl.handle.net/11094/31984</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【4】

氏名・(本籍)	白 砂 兼 光
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 3972 号
学位授与の日付	昭和52年4月6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	ヒト唾液腺多形性腺腫由来の上皮細胞の生物学的特性
論文審査委員	(主査) 教授 宮崎 正
	(副査) 教授 八木 俊雄 教授 小谷 尚三 助教授 加藤慶二郎
	講師 井上 秀夫

論 文 内 容 の 要 旨

唾液腺多形性腺腫は、その組織像が多種多様であるため、従来よりこの腫瘍の発生母地については種々の論議があったが、近年ではこの腫瘍は唾液腺導管上皮細胞あるいは筋上皮細胞に由来するとするものが多い。また唾液腺多形性腺腫は約1—3%の割合で癌化することが報告されている。腫瘍の悪性度については病理組織学的検討がなされているが、癌化の機構、また癌化した細胞の生物学的性質については不明である。

ともあれ細胞分化の観点に立って多形性腺腫を見ると、種々の分化過程を示す細胞が存在していると推察される。したがって、この腫瘍組織からは *in vitro* において *transform* している細胞を得ることが可能であると考えられる。さらに *transform* した細胞を分離し、生物学的特性を解析することができれば、得られた所見はこの腫瘍の発現機構ならびにその発生母地を明らかにする上に、役立つと考えられる。

そこで著者はヒト口蓋小唾液腺部に発生した唾液腺多形性腺腫を組織培養することにより *in vitro* で *transform* している細胞を得たので、その細胞の生物学的特性について解析することを試みた。

組織培養は次の様に行なった。腫瘍組織を細切し、ペトリ皿上に静置後、Eagleの培養液に20%仔牛血清を加えたものを増殖培養液として加え、5%炭酸ガス培養器中で37℃にて培養した。20日後、組織辺縁より増殖してきた細胞をEDTA-トリプシンにて採取し、以後、継代培養した(以下HPA細胞と略記する)。

HPA細胞は多角形の細胞が敷石状配列をなす上皮様細胞であり、電子顕微鏡で観察すると、細胞継代初期では3種類の細胞が存在していた。1つは約80A径の微細線維を有する細胞、他は発達した

膜構造と分泌顆粒を有する細胞，さらに上記2種類の細胞形態を共有する合の子形態を示すものであった。またこれらの細胞の隣接細胞間結合部に接着板が見られ，上皮細胞としての特性を有していた。さらに細胞継代数を重ねると，いわゆる合の子細胞の割合が著明に増加した。

H P A細胞は上記のように唾液腺上皮細胞の形態を有していたが，機能的にも唾液腺としての性質を保有しているか否かについて検討した。抗ヒト全唾液家兎血清を用いて間接蛍光抗体法により，唾液中に特異な抗原を検索した結果，H P A細胞の細胞質には特異蛍光を認めたにもかかわらず，対照として用いたヒト腺様嚢胞癌由来の線維芽細胞では特異蛍光を認められないこと，またH P A細胞をアクチノマイシンD( $3\mu\text{g}/\text{ml}$ )で18時間処理すると，上述の特異蛍光が認められなくなることから，H P A細胞はヒト唾液成分を産出する機能を保有していることが示唆された。

次にH P A細胞のtransformationの有無を検べる一つの方法として，軟寒天培養液中でのコロニー形成能を調べた。その結果，継代5代目のH P A細胞で $34^{\circ}\text{C}$ の培養条件下では15.7%の細胞がコロニー形成能を有したのに対し， $37^{\circ}\text{C}$ では1.9%と低率であることを認めた。この事実はH P A細胞の軟寒天中でのコロニー形成能が温度依存性であることを示している。

この様にしてH P A細胞にtransformしている細胞が存在していることを認めたので，そのtransformationの機構を探る一つの検索法として，H P A細胞におけるC型腫瘍ウイルス粒子の発現の有無を調べた。その結果，逆転写酵素活性を保有するC型腫瘍ウイルス粒子の存在を認めるとともに， $34^{\circ}\text{C}$ にて培養したH P A細胞にヘルペス型のウイルス粒子を認めた。このヘルペス型のウイルス粒子は形態がサイトメガロウイルス(CMV)に類似していたこと，またH P A細胞にはCMVの補体結合(CF)抗原が認められたことから，この粒子はCMV粒子であることが示唆された。さらに電子顕微鏡による観察により，CMV粒子は $37^{\circ}\text{C}$ で培養したH P A細胞では認められないこと，また $38.5^{\circ}\text{C}$ で培養したH P A細胞におけるCMVのCF抗原力価は $34^{\circ}\text{C}$ で培養したものの約 $\frac{1}{8}$ に低下することから，CMVの発現は温度感受性であることがわかった。

なお軟寒天中でコロニーを形成した細胞をクローニングして得た3株の細胞について，形態学的に，またウイルス学的検討を加えた結果，3株の細胞は全て先述の合の子形態を有する細胞であり，C型腫瘍ウイルスならびにCMV粒子を保有していることを確認した。

以上の結果より，ヒト唾液腺多形性腺腫由来のH P A細胞でtransformしている細胞は微細線維ならびに分泌顆粒を有する上皮細胞であり，また逆転写酵素活性を有するC型腫瘍ウイルスを保有していることから，そのtransformationの機構にC型ウイルス遺伝子の関与が示唆された。さらにH P A細胞に持続感染するCMVの増殖，ならびにH P A細胞の軟寒天中でのコロニー形成能はともに温度依存性であるという事実からCMVの遺伝子もまたtransformationの発現の調節機構に働いていることが示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、ヒト唾液腺多形性腺腫より、transformした細胞を分離し、その生物学的性質を多角的に解析したものである。以下この研究で、初めて明らかにされた事実は次のとおりである：1) 分離された細胞は唾液腺由来の上皮細胞に等しい超微構造を示し、ヒト唾液成分をde novoに産生する。2) transformationの発現は温度依存性である。さらに、3) transformした細胞には逆転写酵素活性を有するC型腫瘍ウイルスが存在し、またサイトメガロウイルスが持続感染している。

本論文で述べられた以上の知見、ならびにこの研究で確立された株化細胞は、唾液腺細胞のtransformationの機構を解明し、また唾液腺多形性腺腫の発生母地を明らかにする上で、大きな意義を持つ。したがって白砂兼光君の業績は、発展性に富んだ優れた研究であり、歯学博士の学位に十分に値するものと認める。