The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	人癌細胞の培養 ： 上顎癌由来の細胞株について
Author(s)	石田, 稔
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32342
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【28】

氏名・(本籍)	石田　稔（いしだ　みのる）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　4430　号
学位授与の日付	昭和53年12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	**人癌細胞の培養** **—上顎癌由来の細胞株について—**
論文審査委員	(主査)教授 内藤　儁 (副査)教授 北村　旦　教授 豊島久真男

論文内容の要旨

〔目　的〕

耳鼻咽喉科領域の組織はつねに細菌などの感染にさらされているためか，長期継代培養を維持することが困難で細胞株化されているものはきわめて少ない。この研究の目的はまず細胞株を樹立することにある。幸いに上顎癌由来の細胞を培養しつづけたのでその細胞の性質について種々検討を加えた。

〔方法ならびに成績〕

材料は上顎癌の手術時に切除されたものを用い，Hanks液内で無菌的に出来るだけ小さく切り，トリプシンにて単一細胞にした。このものを37℃，CO_2インキュベーター内に静置し培養した。用いた培養液は20%fetal calf serumを加えたEagleś MEMであった。

光顕所見：手術時切除された組織の病理所見は強い角化を伴った扁平上皮癌であった。この組織を培養したものを経時的に位相差顕微鏡下で，また固定後標本の観察所見ではpolymorphicなpiling upした細胞で，細胞質は明るく細胞質に対する核の占める割合が著しく大きく，核の偏在，数個の核小体をみとめた。

電顕所見：手術時切除した組織には不規則に配列したdesmosomeがみられ，細胞質内にはtonofibrilが多く，核膜は強く陥凹し核内にはheterochromatinが多かった。この細胞を培養し経時的に観察すると細胞表面には多数のmicrovilli様の突起がみられ細胞間desmosomeは規則正しく数も少なくなっている。Tonofibrilは比較的多かったが粗面小胞体，mitochondriaの発育は良くなかった。継代がすすむにつれdesmosomeは少なく不完全となりtonofibrilも少なくなって来た。

染色体所見：この培養細胞に10^{-6}Mのcolchitineを作用させ，KClの低張処理をした。ギムザ・バ

ンディング法としてトリプシン，EDTAを使用し核型を作成した。培養継代5，25，56代目の各細胞の染色体数モードはほぼ60にあり，25，56継代と細胞の継代が経つにつれて染色体数のバラツキが少なくなって来た。すなわちhyperdiploid, hypotriploid型の細胞集団と考えた。次にモード域の細胞の核型ではいずれの細胞にも構造異常を示す染色体が多数みとめられた。

Plating efficiency：Eagle's MEM内および0.3%soft agar内でのこの細胞のコロニー形成率をみたところ，Eagle's MEM内では42%，soft agar内では20%のコロニー形成をみた。

成長度：6日間で約20倍の増殖を示した。

Nude mouseへのこの細胞の移殖：継代数34代目の細胞，約2×10^8個を6匹のnude mouseに移植したところ，その5匹に腫瘤を形成した。この腫瘍の所見はnude mouse間質に被われた腫瘍細胞で，polymorphicな細胞，時に融合し明るい細胞質を持っていた。角化は少ないが手術時切除されたものの母組織所見と類似していた。

同じく電顕上も規則正しく配列しているdesmosome，細胞質内tonofibrilの存在，発達のわるい小器官，空胞変性をみた。

Concanavalin Aによるこの細胞の凝集性：この培養細胞のCon Aによる細胞凝集性を調べてみたところ，トリプシン処理の有無にかかわらず5μg/mlという非常に低濃度で凝集した。

〔総　括〕

上顎癌由来の細胞を長期間にわたり培養することが出来たので，その細胞の種々の性質について検討した。

① 形態上，この培養細胞はpolymorphicで核の細胞質に対して占める割合が大きく，核の大小不同をみ，細胞間desmosome，細胞質tonofibrilは継代がすすむにつれ少なくなって来たが，存在した。これらのことよりこの細胞は上皮様細胞由来のものと考えた。

② 染色体上，hypotriploid域に染色体数のモードがあり，核型でも数個のマーカー染色体をみとめた。

③ Plafing efficiencyはEagle's MEM内で42%，soft agar内で20%という高いコロニー形成率を示したことより悪性組織由来の細胞と考えた。

④ Nude mouseへ高率に移植可能なこと，またその組織像が手術時の母組織のものに類似していたことより上顎癌由来の細胞と考えた。

⑤ 低濃度のCon Aにより，この細胞は凝集した。

以上の種々の結果より，この培養細胞は上顎癌由来の細胞を培養し，すでに株化しえたものと考えた。

論文の審査結果の要旨

耳鼻咽喉科領域の癌で培養株化されたものはきわめて少ない。著者は60例の癌症例より培養を試み，

うち１例に長期培養に成功した。それは56才男子の上顎癌由来のもので長期間（３年４ケ月）にわたり培養続行中で，細胞の形態，染色体数とその核型上のマーカー染色体の存在，コロニー形成率の高いこと，nude mouseへ高率に移植可能であったこと，低濃度Concanavalin Aでの凝集など種々検討の結果，この培養細胞は上顎癌由来のものに間違いなく，すでに株化しえたものと考えた。

この研究は今後の癌研究に役立つものと思われ，学位受領に充分値するものと考える。