The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	自然発生結腸癌好発家系ラットの細胞学的研究 : 各種変異原およびウイルスに対する感受性について
Author(s)	辻村, 俊
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33293
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

【13】

氏名・(本籍)	辻村　俊
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　5609　号
学位授与の日付	昭和57年3月25日
学位授与の要件	医学研究科　病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**自然発生結腸癌好発家系ラットの細胞学的研究 ——各種変異原およびウイルスに対する感受性について**
論文審査委員	(主査) 教授 北村　旦 (副査) 教授 近藤　宗平　教授 北村　幸彦

論文内容の要旨

〔目　的〕

本学病理学教室で継代飼育中のWistar-Furth系（WF系）ラットは自然発生結腸癌好発家系ラットとして既に報告されている。最近では上行結腸に限らず胃癌・小腸癌の合併例も数多く見い出される様になり消化管多発癌家系ラットとして系の育成に努めている。

一方，ヒトにおいてこのように家族性に結腸癌を好発する疾患に家族性大腸ポリポーシス(ACR)がある。これら患者の皮膚線維芽細胞を用いての細胞学的レベルからの研究がおこなわれ，薬剤やある種のウイルスに対する感受性が正常ヒト線維芽細胞とは異なることが報告されている。

そこで，今回WF系ラットの皮膚線維芽細胞を培養し，発癌剤4-nitroquinoline 1-oxide（4NQO)，Mitomycin C(MMC)および紫外線(UV)の各種変異原に対する感受性，ならびにRNA腫瘍ウイルスによるトランスホーメーションについて細胞学的レベルでの検索をおこない家族性大腸ポリポーシスとの類似性について比較検討をおこなった。

〔方法ならびに成績〕

1）細胞培養および測定方法。　実験は6名のACR患者の皮膚生検（東京医科歯科大学・宇都宮先生より分与）および9匹のWF系ラット，そのうち担癌ラット〔CC(＋)〕は4匹，非担癌ラット〔CC(－)〕は5匹であるが，これらラットの尾の皮膚生検より初代培養した皮膚線維芽細胞を用いた。ACR細胞は4％Fetal Calf Serumおよび8％Newborn Bovine Serum添加Dulbecco modified Minimal Essential Medium(MEM)で，又，WF系細胞は同様の血清添加HAMF 12 Mediumで37℃ 10％ CO_2気相下で継代培養し実験には4～12代のものを使用した。なお，対照群として4名の正常ヒ

ト皮膚線維芽細胞ならびに5匹の正常Wis tar-Furth系ラット（広島大原医研・横路先生より分与，WF-N系）皮膚線維芽細胞，1匹の野生株正常ラット(Wild)皮膚線維芽細胞を用い，各々上記の同一条件で継代培養した。

各種変異原の処理；感受性はコロニー形成法で調べた。細胞はStock cultureから0.25 %トリプシンで剝離し変異原の処理の約12～18時間前にplating efficiencyおよび変異原の致死効果を考慮に入れて60㎜直径plastic dishに約50個前後のコロニーが形成される様に細胞数を設定してinoculateした。各濃度について常に2～4枚のdishを用意した。4NQOおよびMMCを血清無添加のEagle MEMにとかして37℃1時間処理した。処理後1度Phosphate Buffered Saline(PBS)で洗浄後再び37℃10% CO_2気相下で培養した。UVについては処理前culture mediumを吸収し1度PBSで洗浄した後UVランプで照射した。処理後約2週間で生じたコロニーをギムザ染色しカウントした。なお30個以上の細胞集団をコロニーとした。

RNA腫瘍ウイルスの処理；細胞を2×10^5個60㎜plastic dishにinoculateし約20時間後にculture mediumを吸引し，20μg/ml DEAE-dextranを含む1mlのmediumで37℃30分間前処理をした。その後，このmediumを吸引し4μg/mlのpolybreneを含むmediumで種々の異なるtiterに希釈したKirsten Murine Sarcoma Virus(Ki-MSV)で37℃2時間処理した。処理後37℃10% CO_2気相下で約1週間培養を続け生じたfocusをカウントした。

2）各種変異原に対する感受性。　ACR細胞は従来の報告通りMMCおよび4NQOに対する感受性が正常細胞に比べて数倍高いことが確かめられた。ただし，これらの感受性は大きく二群に分かれ高感受性群と中間群とに分かれた。高感受性群では正常細胞の約2～3倍の感受性をしめした。又，UVについては正常細胞とほぼ同様の感受性であった。一方WF系細胞は今回調べられた三種の変異原全てに対してWF-N系細胞およびWild細胞より感受性の高い傾向を示した。特にMMCについては著明で高感受性群の細胞系では約2～3倍高いことがわかった。ただしWF系細胞のうちCC(＋)細胞とCC(－)細胞との間にはこれら変異原における感受性に顕著な差はみられなかった。

3）RNA腫瘍ウイルスによるトランスホーメーション。　WF系細胞はWF-N系細胞に比べてKi-MSVによりトランスホーメーションされ易くCC(＋)，CC(－)の両者共に約10倍の感受性を示した。

〔総　括〕

1）自然発生結腸癌好発家系ラットの皮膚線維芽細胞を培養し細胞学的レベルでACR患者との比較検討をおこなった。

2）MMCおよび4NQOに対する感受性はWF系細胞とACR細胞との間で同様な感受性の高い傾向を示した。UVに関してはWF系細胞のみ軽度感受性が高いことが示唆された。又，WF系細胞はRNA腫瘍ウイルスによりトランスホーメーションされ易すいことがわかった。

3）WF系細胞とACR細胞が変異原やウイルスに対して高い感受性を示す点でよく一致し，生物学的・遺伝統計学的考察と共に細胞学的レベルにおいてもWF系ラットのACR患者との類似性が示唆された。

論文の審査結果の要旨

本論文は，自然発生結腸癌好発系ラットの遺伝的背景を細胞レベルで研究したものである。好発系ラットの線維芽細胞は正常ラットのものに比べ，変異原物質，MMC と 4 NQO に致死高感受性でしかも Ki-MSV ウイルスによるトランスホーメーションにも高い感受性を示した。これらの高感受性特性は家族性大腸ポリポーシス患者線維芽細胞でも確認された。すなわち，本系統ラットの好発癌性特性が細胞レベルの遺伝的異常に及ぶことがわかり，ヒト大腸癌好発性疾患のモデルになることが示唆されたものであり，学位論文の価値あるものと認める。