OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	胃印環細胞癌培養株におけるCEAと粘液抗原の産生に関する研究
Author(s)	中尾, 照逸
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33522
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

氏名・(本籍)	中尾照逸
学位の種類	医学博士
学位記番号	第5883号
学位授与の日付	昭和58年1月31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	胃印環細胞癌培養株におけるCEAと粘液抗原の産生に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 神前五郎
	(副査) 教授 岸本進 教授 濱岡利之

論文内容の要旨

〔目　的〕

Carcinoembryonic antigen (CEA) は胃癌の約2/3の症例に発現するが，その大部分は腸上皮化生と関連の深いintestinal typeの胃癌である。しかし典型的なdiffuse typeの胃癌であり，腸上皮化生との関係は薄いと考えられている印環細胞癌にもCEA陽性の細胞がしばしば認められる。また，胃印環細胞癌には腸の杯細胞に特有なintestinal mucus antigen (IMA) をもった細胞もあれば，胃粘液抗原の一種であるM_1抗原 (M_1) をもった細胞も少なくない。本研究は，単クローンの胃印環細胞培養株を用いて，その培養時期におけるCEA，IMAおよびM_1の発現について検討を加えたものである。

〔方法ならびに成績〕

1．CEA，IMAおよびM_1に対する抗血清の作製

ヒト結腸癌肝転移巣より1.0M過塩素酸抽出液を作成し，セファロース6Bおよびセファデックス G-200のゲル濾過で部分精製したCEA標品を免疫原として，ウサギ抗CEA抗血清を作製した。IMAは正常結腸粘膜からセファロース6B，セファクリルS-300および DEAE-セファセルのカラムクロマトにて精製し，これを家兎に注射して，ウサギ抗IMA抗血清をえた。また，M_1は卵巣嚢腫粘液からセファローズ6Bのゲル濾過で分画した粗M_1標品で家兎を免疫し，その抗血清を正常血清，正常大腸粘膜抽出液で吸収したものを抗M_1抗血清として使用した。

2．KATO-Ⅲ培養細胞におけるCEA，IMA，M_1の各陽性細胞出現率の経時的変化

胃印環細胞癌患者の腹水から樹立されたKATO-Ⅲ培養細胞を再クローニングし，20%の胎児牛

血清を含むRPMI # 1640培養液で37℃の環境下に継代培養した。培養瓶を多数用意し，10^5個ずつ植え込んだのち，2日間隔で別々の培養瓶から全細胞を採取し，PBSで洗滌後，pelletのまま1％酢酸を含む95％冷エタノールで固定し，パラフィン包埋した。このパラフィン切片を用いて，CEA，IMAおよびM_1の蛍光抗体法を行った。CEAとIMAの各陽性細胞は培養開始後4日目の対数増殖期にそれぞれ14.1％，20％と少なく，定常期の14日目では32.0％，65.5％と増加した。これに対して，M_1陽性細胞は4日目には34.8％であったが，以後漸減して，14日目には10.8％となった。この結果から，KATO-Ⅲ培養細胞には胃と腸の両方の粘液を産生する能力があって，その形質発現は培養時期によって変ることが示された。

3．KATO-Ⅲ培養細胞によるCEAの産生量と放出量の経時的変化

培養開始後2日間隔で全採取した培養細胞と培養濾液にそれぞれ含まれるCEA量をアボットEIAキットを用いて測定した。細胞内CEAは0.2M酢酸・水酸化ナトリウム緩衝液（pH 5.0）で抽出し，培養濾液のCEAは原液を稀釈して検体とした。細胞内CEA量と培養濾液中のCEA量は，ともに培養開始後，指数関数的に増加したが，単位個数のCEA陽性細胞に含まれるCEA量を実測値から求め，また，単位個数のCEA陽性細胞が培養開始後t_1日からt_2日までの間に培養濾液中に放出するCEA量を近似式：

$$\text{CEA量}=\frac{\text{CEA}\ (t_2)-\text{CEA}\ (t_1)}{\int_{t_1}^{t_2}\frac{C}{1+Ae^{-at}}\,dt}$$

（C，A，aは培養世代による定数）

で求めると，両者はともに対数増殖期に少なく，遅滞期と定常期に多いことが示された。

4．KATO-Ⅲ培養細胞におけるCEA，IMA，M_1の局在様式

CEA，IMA，M_1に対する抗血清を用いて酵素抗体法を行ったところ，CEAは細胞表面とintracytoplasmic cyst（I.C.）の微絨毛に検出され，IMAとM_1はいずれも粘液小滴の内壁と細胞質内にびまん性に存在する粘液顆粒に認められた。また，IMAの存在部位はalcian blueに，M_1の存在部位はPAS染色にて染め分けられた。

5．電子顕微鏡所見

電顕観察では，対数増殖期に細胞質内に直径0.5～1.0μm前後の中等度の電子密度を持つ顆粒を有する細胞が少なからず認められ，幽門腺細胞あるいは胃粘膜の副細胞由来の性格が推察された。一方，定常期になると細胞質の大部分を占めるI.C.やvacuoleが数多く見られ，細胞表面の微絨毛の中心部にcore filamentが認められ，腸の吸収上皮細胞の特徴を備えていた。

〔総　括〕

1．胃印環細胞癌由来のKATO-Ⅲ培養細胞を再クローニングし，単クローン株としたのち，CEA，IMA，M_1のそれぞれに対するウサギ抗血清を用いて蛍光抗体法を行った。培養経過に従ってKATO-Ⅲ培養細胞におけるM_1陽性細胞率は減少し，逆にCEA陽性細胞率とIMA陽性細胞率が増加し，増殖相によって胃印環細胞に発現する形質が胃型から腸型へと移行する傾向がうかがわれた。

2．単位個数CEA陽性細胞が産生するCEA量は定常期に増加するというEIAの結果は，CEAの産

生に癌細胞の成熟が関与することを示唆した。

3．電顕による観察で，KATO-Ⅲ培養細胞には，胃の幽門腺細胞や副細胞と共通の性格を示す細胞と，腸上皮細胞の特徴を示す細胞がともに認められた。

論文の審査結果の要旨

本研究は，単クローンとした培養細胞株（KATO-Ⅲ）を用いて，胃印環細胞癌における癌胎児性抗原（CEA），腸粘液抗原（IMA）および胃粘液抗原（M_1）の発現について検討を加えたものである。その結果，培養開始直後にはM_1陽性細胞が優位であるが，対数増殖期の後半から定常期にかけてはIMA陽性細胞の比率が増大すること，またIMA陽性細胞の増加に比例してCEA陽性細胞が増え，電顕所見では腸上皮細胞の特徴が認められるなどを明らかにした

これらの成績は，印環細胞癌の性格を理解する上で重要な知見であり，意義あるものと考える。