The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	放射線照射をうけたヒト顎下唾液腺からの造腫瘍性細胞の分離
Author(s)	菱田, 市和
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/33795
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【14】

氏名・（本籍）	菱田市和（ひしだ いちかず）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 6341 号
学位授与の日付	昭和59年2月27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	**放射線照射をうけたヒト顎下唾液腺からの造腫瘍性細胞の分離**
論文審査委員	（主査）教授 宮崎 正 （副査）教授 八木 俊雄 教授 渕端 孟 助教授 石田 武 講師 滝川 正春

論文内容の要旨

発癌過程にイニシェーションとプロモーションとの2つ以上の段階が存在することは動物実験によってすでに明らかにされている。ヒト発癌においても同様に多段階の過程が存在すると推察されるが，そのことを明確にするシステムは少ない。そこで，ヒト発癌に関する研究は厖大な疫学的調査を中心として進められている。その中で，著者は原爆被爆者あるいは頭頸部に放射線照射を受けた患者に唾液腺腫瘍の発生が非照射のものに比べて有意の差で多いという疫学報告に注目した。すなわち多量の照射をうけた患者の唾液腺組織において腫瘍化への過程がすでに開始しているのではないかと考えた。

本研究は口腔癌治療のため放射線照射をうけた患者の顎下唾液腺から造腫瘍性細胞をin vitroに分離することにより照射後における唾液腺細胞の腫瘍化過程を観察しようとしたものである。

実験に使用した顎下唾液腺は26名の患者から手術によって得た。内16例の組織は癌治療のためコバルト60の外部照射を受けた患者から採取した。他10例の試料は放射線照射をうけなかった患者の唾液腺であり，本研究の対照として用いた。組織からの細胞分離には，組織片培養法を試み，得られた細胞のin vitroでのトランスフォーム細胞の検定は軟寒天中でのコロニー形成能の有無により判定し，またin vivoでの造腫瘍性の検定にはBalb／C系ヌードマウスを用いた。その結果，照射を受けた唾液腺由来の細胞中7例（細胞名；R－4，R－5，R－8，R－9，R－11，R－14，R－17）は培養初期において0.014％から1.0％の低い割合で軟寒天培養液中でのコロニー形成能を示した。一方非照射群10例全てはいかなる時期にもコロニーを形成しなかった。培養初期において細胞のヌードマウスへの移植を試みたところ全ての細胞は造腫瘍性を示さなかった。しかし，R－5，R－8，R－14細胞は継代培養をくり返すことによって徐々にコロニー形成能が高くなり，それぞれのコロニー形成率が10％前後を示

した時，すなわち各々細胞継代数35，37，13代で造腫瘍能を有する細胞をコロニーから分離することができた。なおここに確立されたクローン細胞を$R-5_{sn}$，$R-8_{sn}$，$R-14_{sn}$と名づけた。一方，他の細胞は造腫瘍性を獲得することなく，増殖を停止した。上記の実験結果から照射唾液腺培養細胞中には腫瘍化のイニシェーションの段階にある，すなわち腫瘍細胞になる潜在能力を有している細胞が存在していると考えられた。そこでこの事をさらに明らかにするために動物発癌実験において，潜在的癌細胞に対して高い発癌プロモーター活性を有することがよく知られている12－O－tetradecanoyl phorbol－13－acetate（TPA）を用いて各細胞の反応を調べた。その結果，TPAは継代初期のR－14，R－17細胞の軟寒天中でのコロニー形成能を促進させることがわかった。その効果は100ng／mℓの濃度で最大活性を示し，R－14とR－17のコロニー形成率は未処理対照と比べてそれぞれ14倍と400倍に上昇した。なおこのTPA効果はRetinoic Acid（10^{-5}M）により完全に抑制された。さらにTPAにより誘発されたコロニーから分離した$R-14_{tn}$，$R-17_{tn}$はすみやかに造腫瘍性を獲得し，ヌードマウス移植により腺癌を形成した。一方TPAのコロニー形成促進効果は非照射唾液腺由来の細胞，またはすでに造腫瘍性を有している細胞（$R-5_{sn}$，$R-8_{sn}$，$R-14_{sn}$など）に対しては認められなかった。

以上の結果をまとめると，照射唾液腺由来の培養細胞は継代培養の初期において，造腫瘍性を有さないイニシェーションの段階にある細胞，すなわち潜在的癌細胞として存在しており，これに発癌プロモーターであるTPAを作用させると細胞は速やかに造腫瘍能を獲得することがわかった。

この様にして得られた5株の造腫瘍性細胞（$R-5_{sn}$，$R-8_{sn}$，$R-14_{n}$，$R-17_{tn}$）は全て唾液腺上皮細胞であり介在部導管細胞に類似した超微形態を有していることがわかった。さらにこれらの細胞を正常唾液腺の腺房細胞，介在部導管上皮細胞および筋上皮細胞に特異的な抗ヒト全唾液家兎抗血清を用いて間接蛍光抗体法により染色を行なった。その結果，全ての細胞の細胞質にその特異抗原をみとめた。

以上のことから放射線照射後におこる唾液腺腫瘍の発生母地として介在部導管上皮細胞が強く関与していることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は放射線照射を受けたヒト顎下唾液腺を組織培養することにより，照射後におこる唾液腺の腫瘍化過程をin vitroで解析したものである。この研究で明らかにされた事実は放射線照射をうけた唾液腺上皮細胞が発癌のinitiation phaseにあることを示している。すなわち，照射唾液腺をin vitroにて継代培養すると徐々に軟寒天中でのコロニー形成能が高くなり，細胞は造腫瘍性株になること，また照射唾液腺培養細胞の軟寒天中でのコロニー形成能はTPA処理によって促進され，それぞれのコロニーからすみやかに造腫瘍性細胞を分離することができることを示している。さらに上記の研究で得られた造腫瘍性株は全て介在部導管上皮細胞に由来したものであることが示唆された。

以上のようにヒト唾液腺の腫瘍発生をin vitroで直接的に観察した業績は，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値するものと認める。