

Title	マウステラトカルシノーマ細胞分化に伴う初期形質の変化様式
Author(s)	桑, 晃智
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/33968">http://hdl.handle.net/11094/33968</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名・(本籍)	くめ 桑	あき 晃	のり 智
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	6 3 8 9	号
学位授与の日付	昭 和 59 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	マウステラトカルシノーマ細胞分化に伴う初期形質の変化様式		
論文審査委員	(主査) 教 授 松代 愛三 (副査) 教 授 高橋 理明 教 授 本庶 佑		

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

テラトカルシノーマの幹細胞である embryonal carcinoma (EC) 細胞は、初期胚とよく似た性質を持ち、*in vitro* 条件下においても多様な分化した細胞を生ずる。そして、分化に伴って細胞表層の抗原性変化をはじめ、特異的な高分子量糖鎖や種々の植物レクチンレセプター等の変化が報告されている。そこで、これら分子種の発現制御さらに発生・分化における役割を探る手がかりとして、未分化な EC 細胞が分化する際、特にその初期過程での逐次的な変化を追究し、多分化能を持つ細胞の分化に伴う最も基本的な変化パターンを理解しようと試みた。

#### (方 法)

細胞は精巢に自然発生したテラトカルシノーマ (STT-2) から分離した多分化能を有する培養細胞 (Clone 311) を用いた。細胞分化は Retinoic acid (RA) により誘導した。分化形質としては未分化細胞に存在し、分化すると消失するものとして Peanut agglutinin (PNA) レセプター、*Lotus tetragonolobus* agglutinin (LTA) レセプター及び F 9 抗原。逆に分化に伴って出現する指標として Plasminogen activator (P. A.) を用いた。

レクチンレセプター検出はレクチンと EC 細胞を incubate し、各々のレクチンに特異的なレセプターを持つ赤血球を加えた後、Percoll 上に重層し遠心する。レクチンレセプターを持つ細胞は、レクチンを介してその細胞に赤血球が凝集する為比重が重くなり Percoll の底に沈む。一方レセプターを持たない細胞は赤血球がつかない為比重が軽く Percoll の上に浮かぶ。こうして、レクチンレセプター陽性細胞と陰性細胞に分離し、各々の細胞数をパーセントに表示した。

F9 抗原は、同系マウスを F9 細胞で免疫して得た抗 F9 血清とモルモット補体を用いた Cytotoxicity test により存否を調べた。

P.A. はテストしようとする細胞のコロニーを作らせた上、牛プラスミノーゲンを Casein agar と共に重層し約 18 時間培養後プラークとして現われたものを P.A. 陽性として全体のコロニー数に対してパーセントで表示した。

#### (成 績)

1) RA 存在下で Clone 311 を培養すると、処理後 2～3 日目頃より徐々に細胞形態が変化し、扁平で大型の上皮様細胞に変化した。培養後 5～6 日目ではほぼ全ての細胞がこの様な形態変化を示した。分化形質についても RA 処理時間に応じて PNA 及び LTA レセプター陰性 (PNA<sup>-</sup> 及び LTA<sup>-</sup>) 細胞の割合が増し、同時に PA 産生コロニーも増加し分化が進行していることが認められた。

2) こうした条件下で、数種のレクチンレセプターについて、その消長の時期を比較してみると、初期分化過程ですみやかに消失するものから顕著な変化を示さないものまで、消長パターンに違いのあることがわかった。RA 処理 6 日間に変化 (減少) の認められた PNA, LTA 及び WGA (Wheat germ agglutinin) レセプターについてみると PNA<sup>-</sup> → LTA<sup>-</sup> → WGA<sup>-</sup> と連続的に変化してゆくのが観察された。

3) そこで、分化過程における各々のレクチンレセプター相互の関係をさらに検討する為、RA 処理 2 日目に分離した PNA<sup>+</sup> 細胞群と PNA<sup>-</sup> 細胞群をそれぞれ別々に RA 存在下で培養し、LTA<sup>-</sup> への移行の難易の程度を比較した。その結果両者に有意の差は認められなかった。このことは RA 処理 4 日目に分離した PNA<sup>+</sup> 細胞群と PNA<sup>-</sup> 細胞群についても同様であった。さらに類似した関係は PNA レセプターと F9 抗原についても観察された。即ち、RA 処理 2 日目あるいは 4 日目に分離したいずれの場合でも、PNA<sup>+</sup> 細胞群と PNA<sup>-</sup> 細胞群の間には抗 F9 血清に対する反応性に差異は認められなかった。以上のことからマーカー変化は、相互に独立的に進行することが明らかになった。

#### (総 括)

これまでに、テラトカルシノーマの系で分化形質として知られているいくつかのものについて、相互の関係を整理した。その結果、初期分化過程で、連続的 (sequential) な消長がみられる一方で、個々のマーカー変化は相互に全く独立的 (independent) な基本様式をとることが明らかになった。本研究は、今後こうした特異的な分子種の分子レベルでの発現制御解明の一助となるものと思われる。

### 論文の審査結果の要旨

テラトカルシノーマの幹細胞は初期胚と同様、多分化能 (pluripotency) をもつ。そして、分化に伴って細胞表層の抗原やレクチンレセプター等が変化する。この系でレチノイン酸による分化誘導を行なうと、数種のレクチンレセプターの消長がみられる。

本研究の結果、レクチンレセプター消長は、時間的に連続的である一方、個々のマーカー変化は相

互に独立的な基本様式をとることが明らかになった。

この研究で得られた知見は、細胞分化の分子機構を解明する上で、大きく寄与するものと考えられる。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。