The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	VX2癌細胞の運動性に関する細胞生物学的および生化学的研究 : 浸潤性増殖ならびに転移形成との関連性
Author(s)	吉川, 文弘
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34626
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

【7】

氏名・（本籍）	吉川文弘（よしかわ ふみひろ）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 6843 号
学位授与の日付	昭和60年3月25日
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**VX_2癌細胞の運動性に関する細胞生物学的および生化学的研究 —浸潤性増殖ならびに転移形成との関連性—**
論文審査委員	（主査） 教授 作田 正義 （副査） 教授 鈴木不二男 助教授 斉藤 喜八 講師 白砂 兼光

論文内容の要旨

一般に細胞が有している運動性は，その細胞の形質発現と密接に関連していると考えられており，同様の概念は癌細胞においても適用しうると想像されている。悪性腫瘍の最も大きな形質発現の一つとして浸潤性増殖および転移巣形成があげられるが，この過程を原発巣から他臓器への癌細胞の移動という観点から考えた場合，細胞の運動性と形質発現との関係を研究する上で優れた実験系を提供すると思われる。しかしながら現在までこの方面からの研究は数少ない。本研究においては家兎に移植した際に強い浸潤性増殖および高頻度の転移巣形成を示すVX_2腫瘍細胞（VX_2）の運動性を*in vitro*において細胞生物学的に解析し，さらにその運動性の調節機構を生化学的に検索することにより，悪性腫瘍の浸潤性増殖および転移巣形成機序解明のための手がかりを得ることを目的として，実験を行なった。VX_2は5％仔牛血清添加のダルベッコMEM（DMEM）培地中で培養した。*in vitro*においてVX_2の運動性の変化を測定するためにはModified Boyden Chamber法を用いた。最初に飽和状態のVX_2の培養上清（Conditioned Medium, CM）〔血清無添加〕にVX_2に対する運動促進効果があるか否かを検討したところ，著明な運動促進効果が認められたため，その因子を腫瘍細胞遊走促進因子（Tumor Migration Stimulation Factor, TMSF）と名づけ，その機能および構造の解析を行なった。その結果CM中のTMSFはVX_2の運動性をTMSFの濃度および接触時間に依存して促進することが明らかとなった。またVX_2によるTMSF産生は培養時間および細胞数に比例して上昇することが示された。ZigmondのChecker Board Analysisに従ってTMSFによるVX_2の運動の様式を検討したところ方向性を有するChemotaxisであることが示された。以上の結果よりVX_2は自身の運動性，特にChemotaxisを促進する物質TMSFを自らのCM中に旺盛に産出していることが明らかとなった。

VX_2にコルヒチンおよびサイトカラシンBを作用させることによりTMSFのVX_2に対する運動促進効果は半減した。また間接螢光抗体染色法を行なったところVX_2内のアクチン線維配列がTMSFによって変化することが観察された。したがってTMSFによるVX_2の運動促進過程においては細胞骨格構成蛋白であるアクチンおよび微小管が重要な役割を果たしていることが示された。次にTMSFの構造の解析を行なった。TMSFの活性は熱あるいはトリプシン処理により失われた。またVX_2細胞によるTMSF産生は蛋白合成阻害剤サイクロヘキシミドおよび糖付加阻害剤チュニカマイシンにより抑制された。したがってTMSFは，糖蛋白に属するものと考えられた。

そこで糖蛋白の一種で，種々の細胞に対して遊走促進効果を示すファイブロネクチン（ＦＮ）とTMSFとの関連を調べた。その結果VX_2の運動性はＦＮにより濃度依存性に促進された。またＣＭ中のＦＮとTMSF活性の出現とは平行していた。さらにTMSFの活性は抗ＦＮ抗体で前処理することにより中和された。したがってTMSFの活性発現にはＦＮの存在が必要であると考えられた。Sephadex G−200ゲルクロマトグラフィーによりTMSF活性のピークは分子量44万付近の画分に溶出された。またＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行なったところTMSFはヒト末梢血由来のＦＮと類似した電気泳動パターンを示した。またゼラチンアフィニティーゲルを用いてTMSFの分離を行なったところ，TMSF中のゼラチン結合性画分に著明なTMSF活性を認めた。以上の結果よりTMSFは分子量44万のＦＮ類似の糖蛋白であろうと思われる。従来よりＦＮは正常細胞の運動性，接着性あるいはその他の生理的機能発現に密接に関係していることが知られているが癌細胞における役割は未だ多くの議論がある。本研究の結果は，ある種の癌細胞，たとえばVX_2はその運動性を高めるために内因性にＦＮ類似物質を産出していることを示すものである。

さらにＣＭ中にはVX_2のＤＮＡ合成を促進する活性および免疫反応の指標であるリンパ球幼若化反応を抑制する活性が含まれていた。ＣＭ中のこれらの因子，すなわち遊走促進因子，自己増殖促進因子，リンパ球機能阻害因子は，すべて*in vivo*においてVX_2が浸潤性増殖および転移巣形成をより効果的に行なうために作用していると推察される。つまりVX_2は自身の形質を，より効率的に発現するために各種の物質を産生，分泌していると想像され，癌細胞の多機能性および自律性を裏付ける結果が得られた。今後，これらの因子の構造および機能をさらに詳細に検討することにより，癌細胞の浸潤性増殖および転移巣形成の機序を解明していきたいと考えている。

論文の審査結果の要旨

本研究は癌細胞の浸潤増殖，転移形成に密接に関連する細胞の運動性を検討する目的で行われた。その結果，VX_2癌細胞がVX_2自身の運動性を促進する物質（腫瘍細胞遊走促進因子：TMSF）を旺盛に産生していることを証明した。また，このTMSFによって促進されるVX_2の運動性はChemotaxis であり，ＤＮＡ合成の促進，免疫抑制作用をも有していることを明らかにした。さらに，TMSFは44万附近の分子量をもち，TMSF中のChemotactic factorはファイブロネクチンであることを示唆した。

これらの所見は癌細胞に特徴的な浸潤増殖，転移形成の機序解明に有益な知見を与えるものであり，価値ある業績と認める。

よって，本研究者は歯学博士の学位を得る資格があると認める。