



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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	よし 吉	かわ 川	ふみ 文	ひろ 弘
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 斎藤 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VX₂腫瘍細胞(VX₂)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。VX₂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VX₂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VX₂の培養上清(Conditioned Medium, CM)〔血清無添加〕にVX₂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VX₂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VX₂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VX₂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VX₂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。また間接蛍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-PAGE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。またゼラチニ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。