

Title	日本人由来の腫瘍細胞株におけるN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG) によるDNA損傷の修復と異種移植した修復欠損株のMNNG高感受性
Author(s)	綿谷, 正弘
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34748
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 ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・（本籍）	わた 綿	たに 谷	まさ 正	ひろ 弘
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6588	号	
学位授与の日付	昭和59年8月6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	日本人由来の腫瘍細胞株におけるN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)によるDNA損傷の修復と異種移植した修復欠損株のMNNG高感受性			
論文審査委員	(主査)			
	教授	森	武貞	
	(副査)			
	教授	近藤	宗平	教授 松原 謙一

論文内容の要旨

(目的)

N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) などのアルキル化剤はDNAにさまざまなアルキル化損傷をつくる。これらのアルキル化塩基の中でも、グアニンの6位の酸素のメチル化(O⁶-methylguanine; O⁶-MeG)の修復能力の差異が、化学的癌原性の重要な要素の1つと考えられている。ところで、ヒト腫瘍細胞株は、MNNGに対する致死感受性に関して2つの表現型に分類されることが最近わかった。すなわちMNNGによるDNA損傷を修復できるMer⁺(MNNG damage repair plus)型と、損傷を修復できないMer⁻の型である。本研究では、MNNG処理したアデノウイルス5型を感染させたとき、宿主細胞としてそれを生きかえらせる力、すなわち、宿主細胞回復を指標にして、日本人の各種臓器由来の腫瘍細胞15株について、それらの細胞株の修復能力を調べることにより、Mer⁻型を検索した。また得られた結果と、コロニー形成能を指標としたMNNGに対する致死感受性の結果を比較検討した。そして、逆に、効率よくO⁶-MeGを生成するMNNGによって、Mer⁻型細胞集団からなる腫瘍を有効に治療する可能性も検討し、選択的癌化学療法に関して有望なる知見を得た。

(方法ならびに成績)

1. ヒト腫瘍細胞株のMNNG処理アデノウイルス5型の宿主細胞回復

(方法) アデノウイルス5型の溶液(10⁸プラーク形成単位/ml)を0から20mg/mlまでの5種類の濃度のMNNGで、37°Cで30分間処理し、希釈後、調べようとする細胞株に感染させた。感染2時間後、遊離のウイルスを除去し、alpha-MEM液を含む0.7%寒天液5mlを添加し、標準条件(37°C, 7%CO₂)下で培養した。4日目と8日目に同様の組成の寒天液を加え、12日目に染色をおこない、プラーク数を

実体顕微鏡下で算定した。

(結果) 日本人由来の腫瘍細胞15株(胃癌4株, 肺癌2株, 甲状腺癌2株, 腎臓癌2株, 膀胱癌2株, 胆嚢癌1株, 横紋筋肉腫1株, 胎児肝1株)の中で, 当教室で樹立した甲状腺癌由来のTCO-1株が, MNNG処理したウイルスの増殖を助ける能力が著しく低下していて, Mer⁻型と判定された。しかし, 他の細胞株14種を宿主とした場合には, いずれもMNNG処理したウイルスの増殖がみられたので, 全てMer⁺型と判定された。

2. MNNGに対する腫瘍細胞株の致死感受性

(方法) 200から30,000個の細胞を6cmペトリ皿に播種し, 約16時間培養後, 37°Cで1時間MNNG処理をおこなった。処理した細胞は約2週間培養の後, 固定, 染色し, 実体顕微鏡下でコロニー数を算定した。

(結果) 宿主細胞回復の実験に用いた細胞15株のうち, 12株について結果を得ることができた。Mer⁻型の細胞TCO-1株のMNNGに対する致死感受性は, 標準Mer⁺型HeLaS3株の約8倍であった。興味ある1例として, HLC-1株は, Mer⁺型であるのに, 標準Mer⁺型HeLaS3株に比べ約10倍の致死高感受性を示した。残りの日本人腫瘍株10種も, Mer⁺型であるのに, Mer⁺型HeLaS3株の2~3倍の高感受性を示した。

3. マウスに移植したMer⁻型ヒト腫瘍に対するMNNGの抑制効果

(方法) 10匹の雄CD-1ヌードマウスの両側背部皮下に, Mer⁺型HeLaS3細胞とMer⁻型HeLaS3細胞(HeLaMR)のそれぞれ10⁷個を別々に移植し, うち8匹には, 24時間後にMNNG(250 μg/部位)を移植部位に注射した。その後40日間, 経時的に腫瘍体積を測定した。

(結果) 2匹の無処理群では, Mer⁺型およびMer⁻型の腫瘍細胞ともに, 移植後の日数にしたがって腫瘍体積は増大した。8個所のMer⁺型細胞を移植した部位は, MNNG処理をしたにもかかわらず, 部分的かつ一時的な腫瘍増殖の抑制がみられたが, 結局は全例において腫瘍体積が増大した。これに対して, Mer⁻型細胞を移植した部位では, MNNG処理をした8匹中6匹において, 40日間の観察期間中に腫瘍はまったく出現しなかった。残りの2匹においても, MNNG処理後に一時的に計測できる程度の腫瘍が形成されたが, MNNG処理後20日目および24日目にそれぞれ腫瘍は消失し, それ以後再び腫瘍は出現しなかった。

(総括)

1. 日本人の各種臓器由来の腫瘍細胞15株を調べたところ, 甲状腺癌由来の1株TCO-1株がMer⁻型(メチル化損傷の修復力欠損)で, 他の残りの14株はMer⁺型であった。
2. MNNGに対する致死感受性をコロニー形成能を指標として検討した。Mer⁻型のTCO-1株とMer⁺型のHLC-1株は標準Mer⁺型HeLaS3株より, それぞれ約8倍および約10倍の高感受性を示し, 残りの10株のMer⁺型細胞株は2~3倍の感受性であった。
3. ヌードマウスにMer⁻型ヒト腫瘍とMer⁺型ヒト腫瘍を別個に移植し, MNNGを移植部位に注射した場合, Mer⁻型腫瘍においてのみ選択的に腫瘍増殖抑制効果が認められた。

以上の結果, がん組織のMer特性は, そのがんのメチル化制癌剤に対する感受性を示す指標となる可

能性が示唆された。

論文の審査結果の要旨

ヒト細胞株は、MNNGによるO⁶-methylguanine損傷を修復できるMer⁺型細胞と損傷を修復できないMer⁻型細胞に分類される。本論文は、日本人腫瘍細胞株のMer表現型を解析し、またヌードマウスに移植したMer⁻型細胞に対してMNNGの選択的増殖抑制効果を示したものである。その結果、腫瘍細胞のMer特性はメチル化制癌剤による治癒高感受性を示す可能性を示唆しえた点で、非常に意義のある研究であり、学位論文に十分値する。