Osaka University Knowledge Archive

Title	ヒト唾液腺導管上皮腫瘍細胞株からの単一細胞クローニングとそれらの細胞の生物学的性状の差異
Author(s)	綿谷, 和也
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34968
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【1】

氏名・（本籍）	綿谷和也（わたたにかずや）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 6939 号
学位授与の日付	昭和60年7月1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	**ヒト唾液腺導管上皮腫瘍細胞株からの単一細胞クローニングとそれらの細胞の生物学的性状の差異**
論文審査委員	（主査） 教授 宮崎 正 （副査） 教授 鈴木不二男 教授 渕端 孟 助教授 恵比須繁之 講師 小川 裕三

論文内容の要旨

唾液腺腫瘍は，種々の程度に分化した上皮細胞と筋上皮細胞などの混在する多様な組織構造を呈する。特に、最も発生頻度の高い唾液腺腫瘍である多形性腺腫は上皮細胞成分に加えて粘液腫様あるいは軟骨様組織などの間葉性成分をも腫瘍中に含んでいることから，古くは混合腫瘍であると考えられていた。このように腫瘍の多様性のため唾液腺腫瘍の組織由来についてさまざまな論議がなされてきたが，現在では唾液腺腫瘍の多くが介在部導管上皮細胞あるいはその前駆細胞に由来すると考える説が広く認められつつある。一方，唾液腺腫瘍の成り立ちあるいは特性を考える上で重要な点は筋上皮細胞の存在である。すなわち，腫瘍組織にみられる筋上皮細胞の存在は従来より注目されており，筋上皮細胞が腫瘍の発育や増殖に重要な役割を有していると考える研究者が多い。また，最近の組織化学的研究結果は，多形性腺腫の筋上皮細胞が間葉性成分の形成に強く関与することを示唆している。しかし，腫瘍中の筋上皮細胞に対する考え方は研究者によって様々であり，筋上皮細胞の由来も明らかにされていない。ほとんどの腫瘍がクローン性の細胞からなることが明らかにされていることから考え合わせると，上皮細胞と筋上皮細胞の混在する唾液腺腫瘍の多様性は腫瘍幹細胞（おそらくは介在部導管上皮細胞）が種々の分化様式をとることに起因すると推察される。しかし，この事を実験的に示した報告は現在まで見られず，また筋上皮細胞の生物学的活性を明らかにした実験も少ない。そこで，ヒト唾液腺導管上皮腫瘍細胞株から筋上皮様細胞などの種々の細胞株を得ることが可能であるか否かを検討するとともに，得られた種々の細胞の生物学的性状の差について検索しようとした。

すなわち，介在部導管上皮に類似した微細形態を有するヒト腫瘍細胞株から単一細胞クローニングを繰り返し行なうことにより，母細胞と異なった細胞の分離を試みた。その結果，得られたクローンは紡

錘形のHSGc－Eと立方形のHSGc－Cに大別された。また，クローン分離過程において母細胞と紡錘形細胞との中間型細胞（HSGc －Ｉ）も観察された。これらの細胞の染色体数は母細胞と同様であり，すべて７０にモードを示すものであった。細胞を電子顕微鏡で観察した結果，HSGc －Ｅは長紡錘形を呈し細胞質内に微細線維と貧飲空胞を有するなど筋上皮細胞に類似した細胞であった。HSGc －Ｃは母細胞と同様の超微形態を示す細胞であったが，母細胞の有する腺管状配列をとらず扁平上皮様増殖形態を示すものであった。

得られた細胞を間接蛍光抗体法とPAP酵素抗体法を用いて抗原性の面から検討した。Ｓ－100蛋白，アクチン（Act），ケラチン（Ｋｒ），の各抗原について検討した結果，筋上皮様細胞のHSGc－Eは筋上皮の有するＳ－100蛋白やActを保有していた。一方，母細胞やHSGc －Ｃなどの上皮細胞にはこの２者の抗原はみられなかった。なお，Krは母細胞を含む全てのクローンに認められた。secretory component（SC），ラクトフェリン（Lf），リゾチーム（Ｌｙ）などの唾液腺上皮細胞の機能マーカーからクローンを見ると，HSGc－Ｅは３者を保有しているのに対し，HSGc－Ｃはscのみが見られた。なお，母細胞はSCとLfを保有していた。以上の結果から，HSGc－Cは母細胞に比べて未分化な細胞であると思われた。一方，HSGc－Ｅは筋上皮特異抗原に加えて導管上皮の機能マーカーを保持していることが明らかとなった。

これらのクローンのin vitroでの増殖能を検索した結果，母細胞とHSGc－Ｃでは倍加時間35－37時間，細胞飽和密度4.5－6.7×10^5／㎠，HSCc－Eでは倍加時間40－57時間，細胞飽和密度2.0－3.5×10^5／㎠であった。また，軟寒天中でのコロニー形成能は母細胞とHSGc－Cでは29－76％を示したのに対し，HSGc－Eでは０－27％と低いものであった。HSGc－Eのヌードマウスでの造腫瘍性は，他の上皮細胞クローンに比べて低かった。すなわち，母細胞やHSGc－Cクローンを10^6個以上ヌードマウスに接種すると約２週間で未分化癌を形成したのに対し，HSGc－Eクローンには腫瘍を形成しないものがあり，HSGc－Eが腫瘍形成する場合でも10^7個以上の細胞接種と約８週間以上の期間を要した。ヌードマウスに形成した組織は，HSGc－Eでは筋上皮腫と未分化癌がみられ，母細胞とHSGc－Cの各クローンでは主として未分化癌であった。形成された腫瘍の超微形態は，HSGc－Eの形成した上記の両腫瘍ともに上皮細胞と筋上皮細胞の混在がみられた。他の細胞の腫瘍では接種した上皮細胞と同様の細胞で構成されていたが，HSGc－Cの形成した腫瘍中には細胞の扁平上皮化生を認めるものもあった。なお，上記の種々のクローンはin vitroにおいても母細胞形態へ後戻りする傾向を示した。

以上の実験結果から，介在部導管上皮腫瘍細胞は，筋上皮様細胞に変化し得ること，また，両者の細胞間には細胞分化の移行があることが示された。さらに，変化した筋上皮様細胞は母細胞に比べて腫瘍原性が低下していることもわかった。

論文の審査結果の要旨

本研究はヒト唾液腺導管上皮腫瘍細胞クローンから筋上皮様細胞クローンが得られることを示すとともに，母細胞と筋上皮様細胞との生物学的性状の差異について検討したものである。唾液腺腫瘍にみられる筋上皮細胞の混在は従来より注目されていたが，同細胞が間葉性細胞に近似した性状を有するため，その組織由来に疑問が持たれていた。本研究において，腫瘍の筋上皮細胞は導管上皮細胞の表現型の変化によって生じ，変化した細胞の増殖，腫瘍原性が著明に低下することを示唆する所見を得た。導管上皮腫瘍細胞の分化と腫瘍原性との関係の一端を示した上記の知見は唾液腺腫瘍の病態を理解するために意義深いものであり，確立された本培養系は唾液腺腫瘍の分化と増殖を研究するための有用な実験系になると考えられる。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。