



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | ヒト唾液腺癌細胞の増殖・分化に与える正常ヒト線維芽細胞の影響                                                                                                                  |
| Author(s)    | 森岡, 成行                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1987, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/35345">https://hdl.handle.net/11094/35345</a>                                                             |
| 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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

|         |                                  |          |          |         |
|---------|----------------------------------|----------|----------|---------|
| 氏名・(本籍) | もり<br>森                          | おか<br>岡  | しげ<br>成  | ゆき<br>行 |
| 学位の種類   | 歯                                | 学        | 博        | 士       |
| 学位記番号   | 第                                | 7 6 9 9  | 号        |         |
| 学位授与の日付 | 昭和 62 年 3 月 26 日                 |          |          |         |
| 学位授与の要件 | 歯学研究科歯学臨床系専攻<br>学位規則第 5 条第 1 項該当 |          |          |         |
| 学位論文題目  | ヒト唾液腺癌細胞の増殖・分化に与える正常ヒト線維芽細胞の影響   |          |          |         |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 松矢 篤三                 |          |          |         |
|         | (副査)<br>教授 作田 正義                 | 講師 滝川 正春 | 講師 小川 裕三 |         |

### 論文内容の要旨

癌細胞は生体において単独で存在するのではなく、結合組織に囲まれて増殖し、癌細胞と結合組織の間に種々の相互作用が生ずると推察される。癌の進展様式は浸潤性で周囲組織を破壊しながら増殖し、転移をきたすことも稀ではない。癌が宿主に与えるこのような影響についての詳細は *in vitro* および *in vivo* の研究から徐々に明らかにされつつある。

一方、周囲の間質細胞も癌細胞の増殖・分化に何らかの影響を与えていると考えられるが、その事実については未だ明らかにされていない。特に唾液腺はその発生過程において周囲の間質組織が上皮細胞の増殖および分化に重要な影響を与えることが知られており、その癌化した細胞が間質細胞に対していかなる反応を示すかについて検索することは非常に意義深いことと考えられる。本研究は正常ヒト線維芽細胞 WI-38 がヒト唾液腺癌細胞 HSG のクローン細胞である HSG c-C5 の増殖・分化にいかなる影響を与えるかを検討したものである。

WI-38 の単層培養上に HSG c-C5 を重層するとプラスチック皿上で多角形態を示す HSG c-C5 は WI-38 の走行に沿って増殖し、紡錘形への形態変化を示した。そこで細胞間の相互作用を調べる目的で細胞外基質の主要構成成分であるグリコサミノグリカン (GAG) に変化がみられるか否かを [ $^3\text{H}$ ] 酢酸の CPC 沈澱画分への取り込みを指標として検討した。その結果、GAG 合成はそれぞれ単独で培養したものに比べ、混合培養することにより促進されることがわかった。この促進された GAG 合成が WI-38 の生合成によるものか HSG c-C5 生合成によるものかを明らかにするためにそれぞれの培養上清 (CM) を相互の細胞に添加した。その結果、HSG c-C5 の CM を WI-38 に添加すると GAG 合成はわずかに抑制されたが、WI-38 の CM を HSG c-C5 に添加すると GAG 合成

はCMの濃度依存性に増加し、未処理ものに比較して最大で2倍以上の値を示した。促進したGAGの組成をさらに解析するために、このGAGをアセテート膜上で二次元電気泳動法により分析した結果、特にヒアルロン酸の生合成が増加していることがわかった。

HSGc-C5は多角形の形態を示し、敷石状に増殖するが、この細胞をWI-38のCMで処理すると細胞は24時間以内に紡錘形態に変化し、散在性の増殖および細胞接着能の低下を示し、その細胞増殖能は著しく抑制された。そこでHSGc-C5の増殖に対するWI-38CMの影響を $[^3\text{H}]$ チミジンの酸不溶性画分への取り込みを指標としてDNA合成を測定した。その結果、WI-38のCMはHSGc-C5のDNA合成を最大で約20%にまで抑制した。このDNA合成抑制効果はCM濃度依存性でGAG合成と逆相関を示した。また軟寒天中でのコロニー形成を観察するとCM処理により数に大きな変化はなかったが、小さいコロニーが大半を占めていた。

HSGc-C5の分化度に及ぼすWI-38CMの影響を知る目的で唾液腺導管上皮の機能マーカーであるlactoferrin (Lf), lysozyme (Ly), secretory component (SC)の発現を間接蛍光抗体法を用いて検索した。その結果、Lf, Ly, SCの3種の機能マーカーの内、HSGc-C5は、SCの弱い抗原性を有するのみであったが、このHSGc-C5をCMで処理するとLf, Ly, SC共に強い抗原性が出現した。このことからWI-38CMはHSGc-C5の分化を強く誘導することが明らかとなった。

さらに各種標的細胞のDNA合成およびGAG合成に及ぼすWI-38CMの影響を検討した。その結果、子宮頸癌由来のHeLaおよび口腔底癌由来のKBの各癌細胞に対してはHSGc-C5と同様にGAG合成の促進とDNA合成の抑制がみられた。しかしその程度はHSGc-C5のそれに比較して弱かった。一方、同CMは口腔粘膜由来の初代培養線維芽細胞に対しては逆にGAGの抑制とDNA合成の促進効果を示した。なお初代培養線維芽細胞のCMもWI-38のCMと同様にHSGc-C5に対してDNA合成抑制効果とGAG合成促進効果を示した。

WI-38が産生する液性因子はゲル濾過により分子量40-50Kに相当するフラクションに活性のピークがみられた。本因子はトリプシン処理により活性の低下がみられ、56℃30分で安定、100℃3分で失活した。また酸、アルカリには比較的安定性を示した。

以上の研究結果より正常ヒト線維芽細胞WI-38の培養液中にはヒト唾液腺癌細胞HSGc-C5に対して増殖を抑制し、分化を誘導する因子の存在することが明らかとなった。

## 論文の診査結果の要旨

本研究は正常ヒト線維芽細胞WI-38がヒト唾液腺癌細胞HSGc-C5の増殖及び分化に与える影響について検討したものである。その結果、WI-38がその液性因子によってHSGc-C5の増殖を抑制するとともにグリコサミノグリカン合成を促進することや唾液腺機能マーカーの発現を誘導することが明らかとなった。このことは正常線維芽細胞が唾液腺癌細胞の増殖・分化に重要な役割をなすこと

を示唆するものである。また本研究で示された液性因子は癌の増殖抑制と分化誘導活性を有すると考えられるので、本研究は今後、同因子の詳細な解析を通じ、癌細胞の増殖と分化の調節機構を明らかにするなど、将来への発展性も高い。よって本研究者は歯学博士の学位を得る資格を十分に有するものと判断される。