

Title	マウス初代培養顎下腺細胞, およびそのトランスフォーム細胞の増殖能と機能に関する研究
Author(s)	今本, 公
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35944">https://hdl.handle.net/11094/35944</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

【2】

氏名・(本籍)	いまもと 今本	あきら 公
学位の種類	歯学	博士
学位記番号	第 8134	号
学位授与の日付	昭和63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	マウス初代培養顎下腺細胞, およびそのトランスフォーム細胞の 増殖能と機能に関する研究	
論文審査委員	(主査) 教授 作田 正義	
	(副査) 教授 浜田 茂幸    助教授 白砂 兼光    助教授 小川 裕三	

論文内容の要旨

口腔関連領域において、最も代謝活性の高い臓器の一つである顎下腺は、唾液以外に多くの生理活性物質を産生分泌することが最近の研究により明らかにされている。したがって、顎下腺は単に外分泌器官としてだけでなく、内分泌器官としても重要な生理的役割を果たしていると考えられる。一方このように多くの機能を有していると想像される顎下腺が腫瘍化した場合、その構成細胞の多様性とあいまって、口腔粘膜由来の腫瘍とはまったく異なったきわめて複雑かつ予想困難な病態を呈することは、臨床的にしばしば経験される。

本研究においては、まず第一に顎下腺の機能を詳細に検索する目的で、培養顎下腺細胞(MSG細胞)を用い、その増殖能と機能を検討した。次いで、*in vitro*においてMSG細胞をトランスフォームさせることにより得られた細胞(TMSG細胞)の増殖能と機能をも検討した。さらに両細胞の特性を比較することにより、唾液腺の発癌過程の解析を試みた。

雄マウス顎下腺を摘出、細切後、コラーゲナーゼ、ヒアルロニダーゼで消化し、MSG細胞を分離した。MSG細胞は10%FBS添加のDME培地を含んだタイプIコラーゲンゲル(CLG)内で培養した。CLG内で培養されたMSG細胞は、樹枝状に突起を出しながら三次元的に旺盛な増殖を示し、同時にムチン、およびアミラーゼを分泌していた。MSG細胞のムチンおよびアミラーゼ分泌は各種の分泌促進薬により高められた。また、組織学的にケラチン陽性上皮細胞によって取り囲まれた管腔構造を呈している部分がみられた。さらに、*in vivo*における顎下腺と同レベルの上皮成長因子(EGF)を産生していること、特異的なEGF受容体(EGF-R)を有していること、その増殖およびムチン合成がEGFによって影響を受けることなどが明らかとなった。

MSG細胞をコラーゲンゲル内で培養することにより、機能的にも組織学的にもin vivoにおける顎下腺とはほぼ同様の特性を保持した状態で維持できることが本研究により明らかとなった。今後顎下腺の生理的機能を追求する上できわめて有用な実験モデルになると考えられる。さらに本研究により、これまで不明であった顎下腺における高濃度のEGFの存在の生理的意義の一端が解明された。

次に困難であるとされている化学発癌物質によるin vitroでのMSG細胞のトランスフォーメーションを試みた。MSG細胞を、A) ; 7, 12-ジメチルベンズ(a)アントラセン(DMBA), B) ; N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG), C) ; DMBA+MNNGで各々処理した。これらの処理により3種類のトランスフォーム細胞(TMSG細胞)が得られた。増殖に関しては、B)が最も早く、次いでC), A)の順であった。またB)群の細胞は軟寒天内でコロニーを形成し、さらに血清無添加培地でも旺盛な増殖を示した。A)群の細胞は造腫瘍能を示さなかったが、B), C)群の細胞は強い腫瘍原性を示し、腫瘍組織内に唾液腺腫瘍に特有の管腔構造を認める場合もあった。免疫組織化学的にA), B), C)群の細胞はケラチン陽性であった。三種のTMSG細胞は、いずれも軽度のムチン分泌能を保持していた。しかし、アミラーゼ分泌、EGF産生は認められなかった。造腫瘍能を有していないA)群の細胞は、親和性の高い特異的EGF-Rを有していたが、B), C)群の細胞はEGF結合能が弱くかつ不規則であり、特に増殖能および造腫瘍能の最も高いB)群の細胞は、非常に低い結合能しか有していなかった。DNAおよびムチン合成を指標としてEGFに対する反応性を検討した結果、A)最も強く、C)が中等度、B)はほとんど反応を示さなかった。血清無添加培地でも活発に増殖するTMSG-B)細胞は自己増殖促進因子として高いレベルのTransforming Growth Factor  $\beta$  (TGF $\beta$ )を分泌していることが明らかとなった。

これらの結果と、近年広く受け入れられているトランスフォームあるいは癌細胞における自己分泌、自己増殖の概念と考え合わせた場合、顎下腺細胞はその発癌過程において自己の増殖分化に必要なEGF産生能、要求性、および反応性が変化し、その結果、たとえばTGF $\beta$ の様な別の自己増殖因子の産出能が高められると考えられる。したがって顎下腺が癌化する過程において各種の成長因子の産生および反応性の消失、獲得が一つの重要な出来事であると推察される。

### 論文の審査結果の要旨

本研究は顎下腺の機能を検索する目的で、マウス由来の培養顎下腺細胞(MSG細胞)を用い、その増殖能と機能を検討した。また、in vitroにおいて培養顎下腺細胞をトランスフォームさせることにより得られた細胞(TMSG細胞)の増殖能と機能を検討し、唾液腺の発癌過程の解析を試みたものである。

その結果、顎下腺細胞をコラーゲンゲル内で培養することにより、比較的長期間機能的並びに組織学的にin vivoにおけるとはほぼ同様の特性を保持させることを明らかにするとともに、顎下腺における高濃度なEGFの存在の生理的意義の一端を解明した。また、従来困難とされているin vitroでの化学

発癌物質を用いてのMSG細胞のトランスフォーメーションを行ない、えられたTMSG細胞を解析することにより、顎下腺細胞はその発癌過程において自己の増殖分化に必要なEGF産生能、要求性およびその反応性が変化し、その結果、TGF- $\beta$ 様の別の自己増殖因子の産生が高められることが示唆された。

以上の知見は顎下腺の生理的機能を追求する上で有用な実験モデルを提供するとともに、唾液腺の発癌過程の一端を明らかにした優れた業績であり、歯学博士の学位請求に十分価値あるものと認める。