Osaka University Knowledge Archive

Title	Motility factor produced by malignant glioma cells : role in tumor invasion
Author(s)	大西, 丘倫
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37449
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

【61】

氏名・(本籍)	大西丘倫（おおにしたかのり）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9560 号
学位授与の日付	平成3年3月5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	Motility factor produced by malignant glioma cells : role in tumor invasion **(悪性グリオーマ細胞による運動性因子の産生－腫瘍浸潤における役割)**
論文審査委員	(主査) 教授 早川 徹 (副査) 教授 森 武貞　教授 松本 圭史

論文内容の要旨

(目　的)

悪性グリオーマの生物学的特徴の一つにその高度な浸潤能が挙げられるが，グリオーマ浸潤の分子メカニズムは未だ十分には解明されていない。一般に，腫瘍浸潤の成立には腫瘍細胞と宿主組織との一連の複雑な相互作用が不可欠であり，その中で腫瘍細胞の運動性の亢進は極めて重要な因子であることが報告されてきた。これまで腫瘍組織産生物や補体第5成分（C5a）等が腫瘍細胞の遊走能を活性化することが示されてきたが，これらは浸潤細胞の遊走因子への方向性のある運動に関与すると考えられている。一方，腫瘍細胞がその主病巣より遊離し，宿主組織内に浸潤する浸潤初期過程のメカニズムについては不明である。本研究においては，悪性グリオーマの浸潤初期過程のメカニズムを解明するため，グリオーマ細胞が，autocrine 的に自己の細胞の運動能を亢める因子を産生しているかを調べること，およびその因子の性質を明らかにすることを目的とした。

(方　法)

(1) 細胞および conditioned medium（CM）の作成：単層静置培養したラットC6グリオーマ細胞株およびヒト悪性グリオーマ細胞株T98Gを用いた。これらの細胞の24時間無血清培養によりCMを得た。対照として同条件下で調整したminimum essential medium（MEM）を用いた。CMの一部は限外濾過により分子量10kD以上の濃縮分画を得，細胞運動活性の測定に供した。

(2) 細胞運動活性の測定：各グリオーマ細胞のCMへの運動能は modified Boyden chamber assay 法にて測定した。上室に各細胞浮遊液を，下室にCMまたは対照液を入れ，37℃，5％CO_2条件下で4時間培養後，filter（Nucleopore，ϕ 8 μm）下面に遊走してきた細胞を固定・染色しその数を算定

した。また細胞遊走様式を検討するため，checkerboard 分析を行った。

(3) 細胞運動能に対する細胞骨格系の検討：CMによるグリオーマ細胞運動性亢進における細胞骨格系の役割を調べるため，細胞を cytochalasin Bにて処置し，CMに対する運動能を測定した。また細胞接着性および細胞形態に及ぼすcytochalasin Bの効果についても検討した。

(4) グリオーマ細胞由来運動性因子の物理，化学的性質の同定：C 6細胞より得られたCMについて熱処理（56℃，5分あるいは100℃，5分），酸・アルカリ処理，およびトリプシン処理を行い，それらのCM中の運動活性に及ぼす影響を調べた。また，抗フィブロネクチン抗体を用いて中和実験を行った。

（結　　果）

(1) C 6細胞，T98G細胞共に自己のCMに対して著明な遊走反応を示した。遊走反応はいずれの細胞においても濃度依存性であり，その反応は高濃度において飽和を示した。同一細胞数より得られたCMに対する遊走反応では，C 6細胞における反応がT98G細胞における反応の約1.7倍強い反応を示した。

(2) checkerboard 分析により各グリオーマ細胞のCM中には走化活性のみならず著明な化学運動活性が存在することが示された。

(3) 各細胞のCMは自己の細胞のみならず，他方の細胞に対しても遊走反応を惹起した。これらの反応性の比較よりC 6細胞はT98G細胞と比べ，より多くの運動性因子をそのCM中に分泌しており，またより多くの運動性因子に対する受容体を有していることが示唆された。

(4) cytochalasin B処置により，細胞は胞体の縮小，突起の樹状化等の著明な形態上の変化を示したが，細胞の接着活性は影響されなかった。一方，CMにより生じたグリオーマ細胞の遊走能は5 μg／mℓ以上の濃度の cytochalasin Bによりほぼ完全に抑制された。

(5) CM中の運動性因子の活性は，分子量10kD 以上の分画に存在し，熱（100℃，5分）およびトリプシン処理によりほぼ完全に消失した。また，酸により50%，アルカリにより60%の活性の消失がみられた。遊走活性の約30%は抗フィブロネクチン抗体により中和された。

（総　　括）

ラットおよびヒト悪性グリオーマ細胞は自己の細胞の運動性を亢める因子を産性・分泌していることが明らかとなった。この因子“グリオーマ由来運動性因子”は分子量10kD 以上の易熱性蛋白質と考えられる。この因子により，グリオーマ細胞は走化能だけでなく，化学運動能も賦与されることが示された。後者の運動活性は in vivo において主病巣よりグリオーマ細胞が遊離する過程に重要な役割を演じていることが推測される。アクチン重合阻害剤である cytochalasin B は細胞の接着能には影響を与えなかった。一方，この薬剤はCMにより生じたグリオーマ細胞の遊走能をほぼ完全に抑制し，グリオーマ由来運動性因子による細胞運動性亢進には，アクチン繊維等の細胞骨格系の関与が必要であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は，ラットおよびヒト由来高浸潤性悪性グリオーマ細胞が自己の運動性を高める因子をauto-crine的に分泌していることを明らかにしたものである。同因子は，分子量10,000以上の易熱性蛋白質であり，走化活性だけでなく化学運動活性をも有し，高度な浸潤性性格を有するこの腫瘍の浸潤初期過程に働いていることが示唆された。本研究は，今後，悪性グリオーマ浸潤の分子機構の解明ならびに新しい治療法の開発に有用な情報を提供するものであり，よって，博士論文に値する業績であると認められる。