Osaka University Knowledge Archive

Title	ヒト腺様嚢胞癌細胞の細胞生物学的特性
Author(s)	古澤, 栄之
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37748
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)	古　澤　栄　之（ふるさわ　ひでゆき）
学位の種類	歯　学　博　士
学位記番号	第　9842　号
学位授与の日付	平成3年6月19日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文名	**ヒト腺様嚢胞癌細胞の細胞生物学的特性**
論文審査委員	(主査) 教　授　松矢　篤三 (副査) 教　授　常光　旭　助教授　石田　武 助教授　小川　裕三

論文内容の要旨

腺様嚢胞癌は唾液腺悪性腫瘍の中で最も頻度の高い腫瘍である。本腫瘍は緩慢に発育する一方で著明な浸潤性増殖を示し，しばしば遠隔転移をきたす。特に神経への浸潤が強く，症状としてしばしば疼痛が生じる。治療法として外科的切除が行われているが，再発や転移の頻度が高いため有効な治療法の開発が望まれている。組織学的に本腫瘍は主に小型の上皮細胞と扁平な筋上皮様細胞の2種の細胞で構成されており，篩状，管状，充実性などの構造をとる。特に多数の嚢胞様腔を含む篩状の胞巣形成や基底膜物質やムコ多糖などの豊富な細胞外基質を含む間質は本腫瘍に特有であり，これらの間質形成機序について病理学的に興味がもたれている。組織培養は細胞個々の生物学的特性を理解するため，また疾患の治療法を考えるためにも有用な手段となり得る。近年種々の組織から細胞が分離され，その細胞生物学的特性が研究されてきた。しかし腺様嚢胞癌由来の細胞株は確立されておらず，その細胞特性も不明な点が多い。そこで腺様嚢胞癌細胞の特性について理解するため腫瘍細胞をin v-itroに分離し，その生物学的性状について解析を行った。

今回，4例の腺様嚢胞癌患者より細胞分離を試みた。全ての培養において初期には類円形細胞の増殖が主で，その周囲に扁平で紡錘形細胞が認められた。継代を重ねるに従い類円形細胞は次第に消失し，全て扁平で大型な細胞に統一された。それらの中から長期にわたり継代が可能であった2株をACCSとACCYと名づけその特性について解析した。細胞は本腫瘍の臨床像と同様に緩慢な増殖を示した。すなわち細胞倍加時間はACCSで86時間，ACCYでは130時間と遅く，細胞飽和密度はACCSで1㎠当り7 x 10^4 個，ACCYで4 x 10^4 個と低かった。軟寒天中でのコロニー形成は，10^5 個の細胞を9週間培養した段階では認められず，ヌードマウスへの腫瘍形成も，10^7個の細胞接種では認められなかった。一方10^6 個以上の細胞を14週間軟寒天中で培養すると，数個のコロニー形成を認めた。コロニーは

主として細胞外基質から成り，基質を数層の細胞が囲む偽嚢胞様の構造を示した。電子顕微鏡による検索から，細胞は筋上皮細胞に類似した超微形態を有しており，また基質部に層状構造をとる基底膜が存在することがわかった。ACCY と ACCS はともに，100％の細胞がビメンチンを発現しており，約70％の細胞がケラチンを発現していた。また両細胞株は，筋上皮細胞のマーカーである平滑筋アクチンやS100蛋白を保有していた。両細胞株が基底膜物質産生能をもつことは，電子顕微鏡の観察によって示唆されたが，この事実はさらに蛍光抗体法および免疫沈降法により確認された。基底膜蛋白量をELISA 法によって測定すると，造腫瘍性の導管上皮細胞株HSG に比べフィブロネクチンで約34倍，ラミニンで12倍，Ⅳ型コラーゲンで 9 倍の産生量を認めた。さらに両細胞株に基底膜物質であるヘパラン硫酸を含む多量のグリコサミノグリカン（GAG）の高い産生能をもつことが示された。

組織学的に神経や血管周囲の基底膜への腫瘍細胞の強い浸潤が，しばしばみられる。そこで基底膜物質が本腫瘍にどのような影響を与えるか興味がもたれた。ACCS と ACCY を基底膜物質を付着させた培養皿上で培養するとその増殖は著明に促進された。また両細胞株の DNA 合成は，培養液に基底膜物質を添加することによって著明に促進された。一方 HSG の増殖は，基底膜物質により影響を受けなかった。

ACCS や ACCY をコラーゲン・ゲル上で培養すると細胞はゲルに対して強い浸潤性増殖を示した。そこで ACCS と ACCY が産生する基質分解酵素をザイモグラフィーによって調べた。その結果ACCS と ACCY はⅣ型コラゲナーゼ，ウロキナーゼ型プラスミノーゲン・アクチベーターなどの基質破壊酵素を多量に産生していることが示された。

すなわち，腺様嚢胞癌より分離した ACCS と ACCY は，筋上皮類似の超微形態をもち，基底／筋上皮細胞のマーカーであるケラチン，ビメンチン，平滑筋アクチン，S100蛋白を発現していた。さらに本細胞株を三次元的に増殖させると偽嚢胞様構造を示すコロニーを形成し，腔内には多量の基質蓄積が認められた。これらの形態所見に加えて 2 株の細胞が，基底膜物質や GAG を含む多量の細胞外基質を形成する能力を有することが多角的に明らかにされた。また ACCS と ACCY の増殖は，培養への基質添加により促進される一方，両細胞は基質を破壊しながら浸潤性増殖をする特性をもつことが示唆された。さらに両細胞はⅣ型コラゲナーゼやウロキナーゼなどの基質破壊酵素の高い産生能を有することがわかった。以上の所見より，腺様嚢胞癌細胞は基底／筋上皮細胞に類似した性状を有しており，本腫瘍特有な多量の基質を含む間質の形成の一端を担っているのみならず，高い基質破壊酵素産生能を有することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

腺様嚢胞癌は小唾液腺悪性腫瘍の中で最も頻度の高い腫瘍で緩徐な発育と著明な浸潤性増殖を特徴としている。本腫瘍の組織学的特徴は多数の嚢胞様間質（偽嚢胞）を含む篩状胞巣の存在である。本研究は腺様嚢胞癌組織から in vitoro に細胞を分離し，その細胞生物学的特性について解析したもので

あり，得られた知見は以下のごとくである。すなわち，分離された細胞株は唾液腺基底細胞あるいは筋上皮細胞に類似した超微形態と特異抗原を有し，基底膜物質を含む多量の細胞外基質産生能をもつことが多角的に示された。特に，細胞の三次元的培養により，多量の細胞外基質を癌細胞が囲む偽嚢胞様構造をとることが示された。以上の所見は本腫瘍に特有な間質が基底細胞あるいは筋上皮様形質をもつ癌細胞自身によって形成されることを示唆している。さらに本細胞株はⅣ型コラゲナーゼ，ウロキナーゼ型プラスミノーゲン・アクチベーター，高分子ゼラチナーゼといった基質分解酵素を活発に分泌していることが示され，腺様嚢胞癌の著明な浸潤性との関連が示唆された。

本研究で得られた知見は腺様嚢胞癌の病態を理解する上で大きな意義を持つとともに，分離，確立された細胞株は腺様嚢胞癌に対する治療法の開発や癌の浸潤増殖機構を解明するための有用な実験系になると考えられる。従って，本研究者は歯学博士の学位を得る資格があるものと認める。