



Title	腺様嚢胞癌細胞の浸潤性増殖機構の解析：細胞外基質産生と分解
Author(s)	坂宗, 尚
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38342
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名 ^{さか}坂 ^{むね}宗 ^{ひさ}尚

博士の専攻分野の名称 博 士 (歯 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 3 4 7 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 4 年 6 月 8 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 腺様嚢胞癌細胞の浸潤性増殖機構の解析

— 細胞外基質産生と分解 —

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 松矢 篤三

(副査)
教 授 作田 正義 助教授 石田 武 助教授 滝川 正春

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

腺様嚢胞癌はきわめて緩慢に発育する一方で、著明な浸潤を示し、しばしば遠隔転移をきたす。また本腫瘍は基底膜を含む細胞外基質を豊富に産生し、癌胞巣周囲に蓄積する特性をも有している。癌の浸潤や転移過程は複雑で不明な点が多いが、これらに基質分解酵素が強く関与することが多くの研究から明らかにされている。事実、癌浸潤の最初の段階は基底膜を含む細胞外基質の分解である。故に、腺様嚢胞癌細胞が自ら産生した細胞外基質に対してどのような作用を示すか、また基質からどのような影響を受けるかについて明らかにすることは本腫瘍の浸潤増殖機構を理解するために重要である。本研究では腺様嚢胞癌細胞の一見相反する特性である基質の形成と分解調節機構を検索することにより、本腫瘍の浸潤機構の一端を明らかにしようとした。

(方法と結果)

実験には当教室で樹立したヒト腺様嚢胞癌細胞株 ACCS およびヒト唾液腺癌細胞株 HSG、口腔粘膜組織から組織片培養法によって得られたヒト線維芽細胞、胎児ラット大腿筋から酵素処理による細胞分散法によって得られた筋肉細胞およびヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞株 HUV-EC を用いた。

1. 細胞外基質の産生

[³H] - プロリンをラベルした細胞を NH₄OH で処理することによって、細胞外基質を作製した。これらの [³H] - プロリンの取り込み量を算定した結果、ACCS 細胞は正常間葉細胞と同程度の高い基質産生能を示し、コントロールとして用いた HSG の約17倍の産生を示した。

2. 細胞外基質の分解

[³H] - プロリンをラベルした細胞外基質上に ACCS 細胞あるいは培養上清を加え、一定時間培養した後、上清中に遊出した放射活性を測定した。ACCS 細胞はプラスミノゲン存在下で正常間葉細胞の基質に対して強い分解活性を示したが、自分自身の基質に対しては弱い分解活性しか示さなかった。この基質分解はACCS 培養上清添加においても認められた。ACCS 培養上清中の蛋白分解活性をザイモグラフィーにて検索したところ、ウロキナーゼ (uPA)

および72kDと92kDのゼラチナーゼの存在を認めた。ACCS細胞のuPA活性は上皮成長因子（EGF）添加で促進され、デキサメサゾン（DEX）添加で抑制された。また、ACCS細胞の基質分解活性はEGF添加によって促進され、DEX添加で抑制された。

3. プラスミンおよびuPAによる基質分解

各種細胞外基質上にプラスミンおよびuPAを加え、72時間後にその分解活性を測定した。ACCS細胞、線維芽細胞および血管内皮細胞のそれぞれの細胞外基質はプラスミン添加によって同程度に分解された。一方、プラスミノーゲン存在下uPA添加によるACCS細胞外基質分解量は線維芽細胞のそれに比較して著しく低かった。ACCS細胞外基質をグリシン（pH2.7）にて前処理するとuPAによる基質分解量は著明に増加した。

4. 基質中のプラスミノーゲンアクチベーター（PAI）の検索

オートラジオグラフィー、免疫沈降法、逆相ザイモグラフィーによりACCS細胞外基質中に多量のプラスミノーゲンアクチベーターインヒビタータイプ1（PAI-1）が存在し、基質中のPAI-1はグリシン処理によって遊出することがわかった。さらに基質中のPAI-1はuPAの添加によりuPAと約100kDの複合体を形成し、活性型であることが確認された。

5. ACCS細胞の増殖および遊走能に与える細胞外基質の影響

細胞外基質を付着させたあるいはさせない35mm径プラスチック皿中央に内径6mmのペニシリン円筒を入れ、円筒内に10⁴個の細胞を加えた。24時間後、皿上から円筒を除き、7日間培養後、増殖細胞数を算定するとともにギムザ染色を施し細胞の遊走面積を算定した。HSG細胞の増殖や遊走性は基質の存在により影響を受けないのに対して、ACCS細胞は細胞外基質上で培養することによってその増殖能および遊走性はともに促進された。

（結 論）

以上の結果より、腺様嚢胞癌細胞は高い細胞外基質産生能をもつ一方で、主としてuPA-プラスミンカスケードを介して正常間葉細胞外基質を分解する能力を持つこと、腺様嚢胞癌細胞外基質はPAI-1を多量に含むため、分解を受けにくく癌細胞周囲に蓄積され、本来増殖能の低い腺様嚢胞癌細胞の増殖や遊走の足場の役割を担うことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

腺様嚢胞癌は緩慢な発育と著明な浸潤性増殖、ならびに多量の細胞外基質産生を特徴とする高転移性腫瘍である。本腫瘍の浸潤性増殖機構の一端を明らかにすることを目的として腺様嚢胞癌より樹立したACCS細胞を用いて研究が行なわれ、以下の所見が得られている。まず、ACCS細胞が多量の細胞外基質産生能を持つ一方で、ウロキナーゼやゼラチナーゼなどの基質分解酵素を産生し、正常間葉細胞が産生した細胞外基質をもプラスミノーゲン-プラスミンカスケードを介して速やかに分解することを明らかにした。次に、ACCS細胞は自らが産生した細胞外基質に対しては極めて弱い分解能を示すことを見出し、この分解を受けにくい機序としてACCS細胞外基質中の多量のプラスミノーゲンアクチベーターインヒビターの関与を示唆した。さらに、ACCS細胞外基質がACCS細胞の遊走性や増殖を促進することも明らかにしている。以上の如く、本研究は腺様嚢胞癌細胞の浸潤増殖機構を理解するために価値の高いものであり、本研究者は博士（歯学）の学位を取得するに値する。