

Title	Differential Expression of a Human Sperm-specific Isozyme in Seminoma Cells Transplanted in Scid-nustr Mice
Author(s)	高寺, 博史
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38583">https://hdl.handle.net/11094/38583</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">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="#">ご参照</a> ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏 名	高 寺 博 史
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 8 2 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 5 月 11 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	Differential Expression of a Human Sperm-specific Isozyme in Seminoma Cells Transplanted in Scid-nu <sup>str</sup> Mice (scid-nu <sup>str</sup> マウスで樹立したヒト seminoma 細胞の分化能)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 野 村 大 成 (副査) 教 授 奥 山 明 彦 教 授 西 宗 義 武

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目 的】

ヒト seminoma は原始生殖細胞，精原細胞域は第一精母細胞に由来する腫瘍と考えられている。しかしヌードマウスへの異種移植が成功していないこと，更に培養細胞系が樹立されていないことからその特性，特にその分化能については現在に至るまで知られていない。我々はヒト精巣 seminoma の scid-nude<sup>streaker</sup> マウス (scid, severe combined immunodeficiency) への移植に成功し，この移植腫瘍から培養細胞系を樹立した。これらの組織像，LDH アイソザイムパターン，染色体分析よりヒト seminoma の分化能について調べた。

#### 【方 法】

31歳男子より摘出した精巣 seminoma を C. B17-scid マウスと AKR/J-nu<sup>str</sup> マウスより遺伝交配により作製した scid-nu<sup>str</sup> 二重変異マウス (移植 1, 2, 3 と 5) および C. B17-scid マウス (移植 4 と 5) の背部皮下に 0.77% tri-bromoethanol 麻酔下で継代移植した。移植を行ったマウスの血中 IgM, IgG 値は検出限界以下 (< 1 μg/ml) である。第 5 代腫瘍片より Dulbecco 変法 Eagle 培地 (10% fetal bovine serum) を用いてヒト seminoma の培養細胞系を樹立した。摘出 seminoma, マウスへの移植腫瘍, 転移巣および培養細胞を HE 染色, PAS 染色し顕微鏡下に形態変化を観察するとともに，これらの homogenate を用いて LDH アイソザイムパターンを TitanIII 電気泳動法で調べた。電気泳動は tris-citrate buffer (pH8.3) を用い 4℃ で 120ボルト, 40分間行なった。これらの電気泳動パターンをヒト精子とヒト腎臓より得た homogenate の LDH アイソザイムパターンと比較した。移植腫瘍と培養細胞から G-バンド染色体標本を作成し，患者末梢リンパ球より得た染色体と比較した。

#### 【成 績】

(1) Scid-nu<sup>str</sup> マウスを用いヒト seminoma の継代移植に初めて成功した。全例で腫瘍は遠隔臓器に転移した。転移臓器はリンパ節，肺および腎である。第 4 と第 5 代では腫瘍は 18匹の C. B17-scid マウスに移植したが，2匹で移植腫瘍は大きく成長し，リンパ節或は肺に転移した。組織所見では移植腫瘍はやや小型化し第二精母細胞に類似した seminoma 細胞からなり，一部に核濃染した小型細胞をも含んでいた。リンパ節は移植腫瘍と同様の細胞分布を

示したが、小型の核濃染細胞の占める割合が増大した。

(2) Seminoma 培養細胞系が新たに確立できた。Seminoma 培養細胞は培養液中で球形の cluster を形成し浮遊状態で発育した。Cluster は PAS 染色で強陽性であった。

(3) 電気泳動上、ヒト精子に特異的なアイソザイム LDH-X バンドが患者の seminoma では出現しなかったが、移植腫瘍で発現した。また患者の seminoma では LDH<sub>1</sub>、LDH<sub>2</sub>、LDH<sub>3</sub>が主であったが、移植腫瘍では LDH<sub>3</sub>、LDH<sub>4</sub>、LDH<sub>5</sub>が主となった。リンパ節転移巣でも移植腫瘍と同じく LDH-X が発現した。LDH-X は培養 seminoma 細胞では発現しなかった。

(4) 第一染色体の精子形成異常に関与した部位での腕間逆位 inv (1) (p13q21) が患者末梢リンパ球、移植腫瘍および培養細胞で認められた。

#### 【総括】

(1) ヒト seminoma のマウスでの継代移植の確立と移植腫瘍からの seminoma 培養細胞系の確立に初めて成功した。

(2) 形態変化に加え、精子形成過程で見られるようなヒト精子に特異的なアイソザイム LDH-X が移植 seminoma 細胞で発現することを見つけた。しかし LDH-X は培養細胞系で消失した。

(3) 第一染色体の腕間逆位と seminoma 発生の関連が考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

ヒト seminoma は、これまでの異種移植が不可能であったため、実験的研究がなされ得なかった。

本研究ではヒト精巣 seminoma を scid-nude<sup>streaker</sup> 二重変異マウスへ移植することにより、継代移植と培養細胞系の樹立に初めて成功した。これによりヒト seminoma がマウス体内でリンパ行性転移をすること、また患者 seminoma では発現しないヒト精子に特異的なアイソザイム LDH-X が移植腫瘍とリンパ節転移巣で発現し、形態的にも変化することがわかった。しかし培養細胞では LDH-X は消失した。細胞形態の変化に加え LDH アイソザイム活性の変化より、ヒト seminoma がマウス体内で精子発生過程に沿った形で分化する可能性と培養により seminoma 細胞が脱分化する可能性が示唆された。

本研究はヒト seminoma の移植系、培養系を確立することによりヒト seminoma の分化能及びその特性を研究する実験系を初めて確立したものであり、学位に値するものと考えられる。