



Title	Effect of dibutyryl cyclic AMP on morphologic features and marker production of human cervical argyrophil small-cell carcinoma cell line
Author(s)	清水, 廣
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38685">https://hdl.handle.net/11094/38685</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"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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	し 清 水 ひろむ 廣
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 1 6 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 15 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	<b>Effect of dibutyryl cyclic AMP on morphologic features and marker production of human cervical argyrophil small-cell carcinoma cell line</b> (ヒト子宮頸部銀好性小細胞癌培養株の形態およびマーカー物質産生能に及ぼす dibutyryl cyclic AMP の効果)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 谷 澤 修 (副査) 教 授 遠 山 正 弥 教 授 早 川 徹

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

子宮頸部銀好性小細胞癌 (ASCC) は早期に転移しやすく予後の悪い腫瘍であるが、稀な腫瘍であるため、いまだ有効な治療法が見つかっていない。我々は、ASCC の生物学的特性の詳細な検討と、効果的治療法の開発をめざし、ヌードマウス移植系ならびに in vitro 培養株 TC-YIK を樹立し、これら実験系がヒト ASCC のモデルとして用いることを報告してきた。本論文は、分化誘導物質として知られている dibutyryl cyclic AMP (dB-cAMP) 投与による、TC-YIK 細胞の細胞形態ならびに機能 (ホルモン、酵素などの産生能) の変化について検索し、ASCC の発生起源について考察を加えた。

#### 【方法】

対数増殖期にある TC-YIK 細胞に、dB-cAMP を 1, 3, 5 mM の濃度になるように添加し、対照群には蒸留水のみを添加した。対照群および dB-cAMP 添加群の細胞を位相差顕微鏡下にて観察し、胞体の約 2 倍以上の長さの突起伸長が 1 つ以上みられる細胞を stellate cell とし、その細胞の全細胞中に占める割合を算出した。観察は、薬剤添加後 0 - 5 日後に行った。さらに、dB-cAMP 5 mM 添加 48 時間後に dB-cAMP を除去する条件を設定し、dB-cAMP による細胞形態変化の可逆性を検討した。また、dB-cAMP の TC-YIK 細胞の増殖に及ぼす影響と、stellate cell が増殖抑制による形態変化ではないことを無血清培地にて検討した。

dB-cAMP 5 mM 添加群と無添加群の 48 時間培養後の TC-YIK 細胞を透過型電子顕微鏡と走査型電子顕微鏡で観察した。また、各群の細胞内の neuron-specific enolase (NSE)、セロトニン、ガストリンを測定し、microtubule associated protein (MAP2) を免疫蛍光抗体法にて観察した。

#### 【成績】

TC-YIK に dB-cAMP を添加すると、12 時間後より 1 - 数本の細胞突起の伸長が位相差顕微鏡下にて観察された。stellate cell の割合の経時的変化では、dB-cAMP 添加後 2 - 3 日目にほぼピークとなり、以後は横ばいであった。dB-cAMP の濃度との関係では濃度依存性に stellate cell の割合は増加した。また、培養液より dB-cAMP を除去すると 24 時間後には急速に stellate cell の割合は減少した。この結果より、dB-cAMP 添加による細胞形態の変化は可逆的であると考えられた。さらに、dB-cAMP 3, 5 mM 添加にて TC-YIK 細胞の増殖は抑制されたが、無血清培地では細胞の形態変化は認められず、stellate cell は細胞の増殖抑制による形態変化ではないと考えられた。

細胞形態の変化は、透過型電子顕微鏡による観察では細胞質の伸長、細胞内の神経内分泌顆粒や微小細管、微細線維の増加として、また、走査型電子顕微鏡による観察では細胞表面よりの突起の伸長として確認された。

dB-cAMP 5 mM 添加72時間後の細胞  $1 \times 10^6$  個当たりの NSE, セロトニン, ガストリン値は、それぞれ対照群で  $5.7 \pm 0.6$ ,  $9.4 \pm 2.6$ ,  $21.5 \pm 11.2$  ng, 添加群では  $55.8 \pm 9.5$ ,  $50.0 \pm 5.2$ ,  $53.0 \pm 19.5$  ng といずれも著明な増加が認められた。また、MAP2 抗原の発現が免疫蛍光抗体法にて認められた。

#### 【総括】

ASCC 細胞株 TC-YIK に対して、分化誘導物質として知られている dB-cAMP を添加することにより、神経系細胞に特徴的な細胞内構造の変化ならびに神経突起様の形態変化が認められた。この変化は可逆的であるという点において不完全な分化であるかもしれない。しかし、dB-cAMP の添加、除去、再添加によりこの形態変化が繰り返されたこと、腫瘍細胞より産生される神経細胞に特徴的な酵素、活性アミン、ペプチドホルモンなどの著明な増加がみられたことは単に形態のみならず機能的にも本細胞が神経系への分化能を有することを明示したものと考えられる。従って、本実験結果は、ASCC の起源が APUD (amine precursor uptake and decarboxylation) 系細胞であることを示唆するものといえよう。

### 論文審査の結果の要旨

婦人科領域において予後不良とされているヒト子宮頸部銀好性小細胞癌の *in vivo*, *in vitro* 培養株を作製し、種々の手法を用いてその細胞学的性格を解析したことは、同腫瘍の生物学的特性の検討と有効な治療方法の確立のために、非常に価値のある研究であると考えられる。

さらに、分化誘導物質を作用させることで、未だ諸家の一致した見解が得られていないその組織発生源の追求を行っている。これは今後、APUD 系腫瘍の分化誘導のメカニズムの解明のモデルとなり、この一連の研究は、学位の授与に値すると考えられる。