The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Consecutive Maintenance of Human Solitary and Hereditary Colorectal Polyps in SCID Mice.
Author(s)	川口, 学永
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40364
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

【 63 】

氏　　名	川　口　学　永（かわ　ぐち　たか　のり）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　12773　号
学位授与年月日	平成 9 年 1 月 16 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	Consecutive Maintenance of Human Solitary and Hereditary Colorectal Polyps in SCID Mice. （SCID マウスに長期継代移植したヒト大腸ポリープに関する研究）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授 松田　暉 （副査） 教 授 野村　大成　　教 授 髙井新一郎

論 文 内 容 の 要 旨

【目　的】

我々は，C.B17-scid マウスを selective inbreeding により改良し，ヌードマウスには生着しないヒト良性腫瘍及び正常組織の長期継代移植に成功した。

一方，大腸における発癌過程は，多段階発癌のモデルとして遺伝子レベルでも明らかにされつつある。その経時的変化を明らかにするために，大腸ポリープの培養細胞株等が用いられてきたが，既に不死化の過程を経ており，適切なモデルになり難い。そこで，SCID マウスにヒト大腸ポリープを移植し，ヒト大腸 adenoma-carcinoma sequence 研究システムの確立を行い，経時的な形態学的変化について検討し，癌遺伝子 K-*ras* の解析も併せて行った。

【方　法】

ヒト材料：外科的または内視鏡的に切除した大腸ポリープ 2 症例からの大腸ポリープ 2 検体，Puetz-Jeghers 症候群（PJ）2 症例からの大腸ポリープ 4 検体と胃癌，直腸癌各 1 検体，家族性大腸ポリポーシス（FAP）1 症例からの大腸ポリープ，polypoid lesion，大腸癌各 1 検体を用いた。

SCID マウス：selective inbreeding により改良した，血清 IgG，IgM 値が検出限界以下（$<1\ \mu g/ml$）の C.B17-*scid*/*scid* mouse を用いた。

ヒト大腸ポリープの移植・継代：切除した材料の粘液層を物理的に除去し，抗生剤添加生理食塩水及び培養液で振蕩洗浄した後，材料を 2 mm 角に細切し，0.77% tribromoethanol 麻酔下，手術的にマウスの背部皮下に移植した。腫瘍体積は Houchens の式により求めた。

病理学的観察：移植腫瘍は継代時に肉眼的観察を行うと共に生検を行った。original tumor と生検材料に対し，H&E 染色と PAS 染色により組織学的観察を行った。

K-*ras* 遺伝子の解析：original tumor 9 検体と継代時の生検材料24例のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用い，K-*ras* exon 1 及び 2 領域を PCR にて増幅し，SSCP-direct sequence 法にて塩基配列を決定した。

【成　績】

1．検体の大腸ポリープと polypoid lesion を27匹の SCID マウスに初代移植したところ，15匹の SCID マウスに生着したが，初代移植時，PJ と FAP の大腸ポリープ各 1 検体を移植したすべての SCID マウスを含む12匹では *E. coli* の micro-infection が認められたため 2 代目以降の継代を中止した。初代移植に成功した大腸ポリープは 2 代目以降では全例がゆっくりとした増殖を示し，2 年以上（5 代）の長期にわたる維持に初めて成功した。現在も継代中である。

大腸ポリープに併発していた悪性腫瘍はすべてが SCID マウスに生着し急速な増殖を示した。

2．移植した大腸ポリープは緩徐ではあるが確実に増殖し，倍加時間は平均28.9日と大腸癌（2.9日）の約10倍であった。

3．移植した大腸ポリープは肉眼的には粘稠半透明で柔らかく，組織学的には結合織に乏しく，細胞内に多量の粘液を貯留していた。移植した悪性腫瘍は胃癌，大腸癌ともに original tumor と殆ど同様の組織像を示した。

4．K-*ras* 遺伝子の異常は，大腸ポリープの original tumor では検出されなかったが，移植後 8 例中 4 例において，exon 1，codon 12 の変異［G<u>G</u>T → G<u>A</u>T（Gly → Asp）3 例，<u>G</u>GT → <u>T</u>GT（Gly → Cys）1 例］を認めた。

【総　括】

1．SCID マウスを selective inbreeding によって改良することにより，これまで実験動物には生着しなかった大腸ポリープの継代維持に初めて成功した。更に 2 年以上（数世代）にわたる継代維持にも成功した。

2．SCID マウスに継代維持した大腸ポリープの増殖能は同一患者の大腸癌の約10分の 1 であった。

3．移植大腸ポリープは形態学的には粘液産生能等の特性を維持していた。

4．経時的に採取した移植大腸ポリープでは K-*ras* 遺伝子の変異が認められた。

論文審査の結果の要旨

本研究では，selective inbreeding により改良した SCID マウスに，これまで実験動物には生着しなかったヒト大腸ポリープを移植し，3 年以上にわたる継代維持に初めて成功した。SCID マウスに継代維持された大腸ポリープが緩徐ではあるが確実に増殖し，同一患者の大腸癌の約10分の 1 の増殖速度である事，移植大腸ポリープの上皮細胞がその機能（粘液産生能）を維持している事，経時的に採取した移植大腸ポリープの一部では K-*ras* 遺伝子の変異が認められる事等を明らかにした。

本研究は，大腸 adenoma-carcinoma sequence 研究のための新しいシステムを確立し，発癌過程の連続的研究及びヒト発癌機構の解明に今後役立つものと考えられ，学位に値するものと考える。