

Patho-biological characterization of a newly established human cell line (KA) derived from a giant cell carcinoma of the lung

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小川, 博 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/921

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 68号	学位授与年月日	平成 元年 3月27日
氏名	小川 博		
論文題目	Patho-biological characterization of a newly established human cell line (KA) derived from a giant cell carcinoma of the lung (新しく樹立されたヒト肺巨細胞癌由来培養細胞株(KA)の細胞生物学的性状)		

Patho-biological characterization of a newly established human cell line (KA) derived from a giant cell carcinoma of the lung
(新しく樹立されたヒト肺巨細胞癌由来培養細胞株(KA)の細胞生物学的性状)

論文の内容の要旨

近年、肺癌による死亡は増加傾向が著しく、全悪性腫瘍による死亡者中、男性で19%、女性で10%を占めるに至っている。肺癌の早期発見・早期治療を確立する上で、その生物学的特性を知ることは、きわめて重要である。肺癌は、病理組織学的に腺癌、扁平上皮癌、大細胞癌および小細胞癌の4つに大きく分類される。本研究で取り上げる肺巨細胞癌は、大細胞癌に含まれ、肺癌の中でも小細胞癌と同様に悪性度の高いことで知られている。本研究は(財)癌研究会癌研究所細胞生物部において新しく樹立された、ヒト肺巨細胞癌由来培養細胞株(KA)の細胞生物学的特性を明らかにする目的で、その形態的特徴、増殖曲線、可移植性、染色体およびc-myc増幅の有無について検討した。

KA細胞の培養には、DM 160 とMCD B 152 を4:1に混合したものに、1%透析ウシ胎児血清、上皮成長因子、インシュリン、トランスフェリン、亜セレン酸ナトリウムおよびヒドロコルチゾン添加培養液を用いた。この条件下において、KA細胞は、主に浮遊状態で増殖する。

KAは、リンパ球様の小さな細胞から巨細胞まで様々の大きさの細胞から構成されていた。これらの細胞では、間接蛍光抗体法により、上皮性マーカーのひとつであるケラチンが陽性であった。電顕的には、著明な核小体、豊富なミトコンドリアおよびトノフィラメントが観察された。増殖曲線から倍加時間を求めると、1%透析血清添加培地では、62時間であった。また、KA細胞は、軟寒天培地中でコロニーを形成し、ヌードマウスへの皮下移植も可能であった。以上から、KA細胞は、1%透析ウシ胎児血清添加培地中において、良好に増殖する上皮性悪性腫瘍細胞であり、著しい大小不同を示す細胞より構成されていることが明らかとなった。

KA細胞の染色体数は、33から195まで広く分布し、低2倍体領域と高3倍体領域にピークが認められた。モードは36本だった。肺小細胞癌細胞の中には、低2倍体領域にモードをもつものもあるが、非小細胞癌では、このような細胞は今までに報告例はない。KA細胞の染色体にGバンドを施し、カリオタイプを行うと、様々の構造異常が認められた。肺小細胞癌においてしばしば認められている、第3染色体の短腕の欠失も含まれていた。

KAの中の数パーセントの細胞は、微小染色体をもっていた。肺小細胞癌細胞では、微小染色体とc-mycの増幅との関係が示唆されているので、KA細胞についてもc-mycの増幅の有無を検索した。KAでは、c-mycの増幅が認められた。全RNAを抽出し、ドットプロットにより、その発現を調べると、KAでは、対照にくらべ、約4倍の発現増加が認められた。c-mycの増幅を示す肺小細胞癌は、大細胞癌に似た形態を示し、予後が不良になると考えられている。これらの結果は、大細胞あるいは巨細胞の出現とc-myc増幅が深く関係していることを示唆する。

以上より、新しく樹立されたヒト肺巨細胞癌由来培養細胞株(KA)は、巨細胞形成を伴う肺癌における、背景となる小細胞の性質と巨細胞形成のメカニズムを知る上で有用な細胞株である。

論文審査の結果の要旨

ヒト肺巨細胞癌は組織学的には未分化の小細胞と不規則な多核巨細胞が混在する悪性腫瘍で、また臨床的にはリンパ行性、血行性転移をしやすい、抗癌剤抵抗性の予後不良の疾患として知られている。しかしこの癌細胞の起源や、細胞生物学的特性については未だ不明の点が多い。

申請者は58歳の男性に発生した肺巨細胞癌から樹立された細胞株(KA)について、電子顕微鏡、細胞培養、免疫組織化学、移植、染色体遺伝子解析等の技法を用いてその細胞生物学的特性を検索した。

その結果明らかとなった本細胞株の主な特徴は、

- 1) 1%透析ウシ胎児血清添加培地中で良好に増殖(倍加時間62時間)する。
- 2) 上皮性マーカーの1つであるケラチン陽性であることから上皮性腫瘍細胞である。
- 3) 著明な核小体と豊富なミトコンドリアのほか、少量のトノフィラメントを有するが、分泌顆粒は陰性である。
- 4) ノードマウスに移植可能である。
- 5) 染色体数の分布は33~195までの範囲で、低2倍体、高3倍体領域にピークが存在する。
- 6) 著明な染色体異常(微小染色体、構造異常)を認める。
- 7) 癌遺伝子c-mycの増幅および発現増加がみられる。

等である。

審査委員会では

- a) 培養液の組成、添加増殖因子
- b) 培養条件と細胞特性の変化
- c) ノードマウス移植後の細胞特性の変化
- d) 染色体標本の作成条件
- e) 染色体構造異常と発癌の関連
- f) 巨細胞形成の機構
- g) KAが1つの細胞由来という根拠

等について質疑応答が行われた。

その結果、本研究に用いられた技法はいずれも適切で、優れたものであり、申請者はこれらの技法を広く修得していることが確認された。

また、本研究の成果は、肺巨細胞癌の起源、癌細胞の分化、巨細胞形成の機序、癌転移の機序等を説明するにあたって示唆に富む内容であることが高く評価され、本論文が医学博士の学位授与に値するものと審査委員全員が判定した。

論文審査担当者	主査	教授	吉見輝也			
	副査	教授	市山新	副査	教授	松下寛
	副査	助教授	小出幸夫	副査	助教授	森田豊彦