

となる原因は不明である、

4. 札幌医大、工藤先生に対する回答

① 人および Rat 誘発腫瘍の電顕上の共通所見は、まず核に於いて thread-like nucleolonema を有する核小体を認めること、次いで細胞質内の豊富な ribosome, よく発達した r-ER 細胞質内に多数認められる円形均一無構造物質である。異なる所見は人の腫瘍の方が退行変性の所見が多くみとめられることである。

② 基底膜上に認められる basement membrane material は電顕による蛍光抗体法を用いないとはつきり断定出来ないが、細胞質内に認められる円形均一無構造顆粒と同一の物質で AFP とみて良いと思われる。

68. 分化誘導による癌治療のモデル—ヒト embryonal carcinoma (EC) 細胞について

(千葉大)

関谷 宗英, 大崎 達也, 河田 誠
岩沢 博司, 稲葉 憲之, 高見沢裕吉

マウス奇形癌の幹細胞は embryonal carcinoma (EC) 細胞と呼ばれ、悪性細胞の諸性格を有すると共に、初期胚と同様の多分化能を有する極めてユニークな細胞である。マウス EC 細胞と類似したヒト EC 細胞が存在し、最近 in vitro における培養細胞株がいくつか樹立されているので、今回ヒト EC 細胞の特性をマウス EC 細胞と比較しつつ検討した。

用いたヒト EC 培養細胞株は睾丸 embryonal carcinoma 由来 NEC 8, NEC 14, NEC 15, ITO の 4 株と卵巣 teratocarcinoma 由来 PA 1 の計 5 株である。各細胞株とも RPMI 1640 に牛胎児血清 10% を添加したメジウムを用いて、5% CO₂ 培養器内で静置単層培養した。

ヒト EC 細胞とマウス EC 細胞の類似点は、① 形態、② 増殖、③ 胚様体の形成、④ 細胞表面高分子量糖ペプチドの存在等であり、相違点はヒト EC 細胞における、① 染色体数のモードが 3 倍体附近と 2 倍体附近 (PA 1) にみられる。② HLA 抗原が検出される。③ プラスミノーゲン治性化酵素を分泌している等である。

以上ヒト及びマウス EC 細胞と類似点と相違点を明らかにし、分化の指標を検討した。

質問 (富山医薬大) 泉 隆一

臨床では未熟奇形腫の転移巣が化学療法の結果分化している状態や、Nude mouse に germ cell tumor を

移植し、腸上皮化生を認める事を経験しております。なぜ、そうなるのかそのメカニズムについて、先生の実験モデルに期待しているのですが…

臨床的に以上のような経験をしている先生は多いと思いますが…

回答 (千葉大) 関谷 宗英
分化するか否かを究極の目的としている。

質問 (北海道大) 和氣 徳夫

1) 今回のヒト EC cell が Totipotent stem cell とする根拠は?

2) 位相差顕微鏡の所見はむしろ Endoderm で分化したものと思われませんか?

3) Embryoid body は Endoderm の中に Totipotent の細胞塊をふくむが、今回のものにはその細胞塊が存在しない。

回答 (千葉大) 関谷 宗英

1) コロニーの辺縁に形態的分化が現われる細胞株と均一な細胞から構成されるコロニーとがある。前者はマウスの EC 細胞と類似している。

2) ヒト EC 細胞の cell aggregates はマウスの embryoid body と少し違うようである。

3) ヒト EC 細胞が分化する証拠は現在まで得られていない。

回答 (千葉大) 関谷 宗英

未知の環境因子の影響でヒト embryonal carcinoma (EC) が分化する可能性がある。serum-free の培養から分化誘導因子を探りたい。

69. ヒト子宮頸部正常及び異常上皮培養細胞の形態学的研究

(札幌医大)

早川 修, 工藤 隆一, 橋本 正淑

目的: In vitro の発癌実験や癌細胞が浸潤能を獲得する際におこる変化を研究するための基礎的実験として、ヒト子宮頸部正常扁平上皮、異形成上皮、上皮内癌、浸潤癌の初代組織片培養・継代培養を行い、これらの増殖形態と核 DNA 量・染色体数を観察し、in vivo の細胞の特徴を保持しているかどうかを検討した。

方法: 細胞診・コルポ診で検討した症例の手術摘出物・生検材料を用いた。採取した組織片の半分を組織診断に使用し、残りを間質から切り離して細切し静置培養した。培養液は fibroblast の増殖を抑制するため、L-valine を D-valine で置換した 10% FBS 添加 MEM を作製し使用した (以下 DVM)。

成績：DVMの使用により子宮頸部間質のfibroblastの増殖が通常のMEM使用時の20～50%に抑制され、lag phaseも延長した。このDVMを使用し培養方法を改良することによつて、正常扁平上皮、異形成上皮、上皮内癌を3回継代することに成功した。培養細胞の顕微鏡観察では、病変が高度になるにつれて核の大小不同、hyperchromasiaが著明となり、超微形態学的には正常扁平上皮初代・継代培養細胞ではtonofibrils, desmosome結合, microridgeなどの扁平上皮細胞の特徴を保持しており、継代によつても変化は認められなかつた。核DNA量は軽度異形成上皮では正常扁平上皮に近い分布を示すが、中等度異形成上皮から上皮内癌への病変が高度になるにつれて高4倍体以上の細胞が増加した。染色体数は正常扁平上皮初代・継代培養で $2n=46$ が90%以上で、培養系のnormalityは高かつた。浸潤癌では上皮内癌に比べ核DNA量と染色体数の幅広い分布に加えて、diploidからhypotriploid領域へ移行・集中する傾向がみられた。正常および異常上皮の初代・継代培養細胞はin vivoの各々の細胞の特徴を保持しており、In vitroの発癌実験などに応用可能と考えられる。

質問 (富山医大) 泉 陸一

同一症例のCIS部分、dysplasia部分からの増殖培養細胞での検討はどうでしょうか。

回答 (札幌医大) 工藤 隆一

上皮内癌の同一症例で異形上皮の部分と上皮内癌の両者の培養はしていない。すべて1症例、1病変の培養です。

培養した症例は、コルポ診で均一な病巣が広範囲に存在するものについて行なっている。

ひとつの症例からは、例えば最高病変が上皮内癌で他の部位に異形成上皮を伴う場合でも最高病変のみを採取している。

70. 子宮頸癌株における腫瘍マーカーの誘導

(慶応大)

野沢 志朗, 小島 雅彦, 蔡 篤仁
鄭 成輝, 高橋 峰夫, 飯野 孝一
太田 博明, 筒井 章夫, 栗原 操寿

目的：腫瘍マーカーによる癌の生化学的診断の進歩は著しいが、検出率は未だ十分とはいえない。そこで本研究では癌細胞による腫瘍マーカーの産生を増強させ得る可能性があるか否かをin vitroでの基礎的実験を行い検討し、興味ある結果を得たので報告する。

材料および方法：培養細胞としては当研究室で樹立

したSKG-IIIaを使用し、腫瘍マーカーとしては β -hCG, ferritin, 耐熱性 alkaline phosphatase (HSAP)を選び、前2者については培養液中および細胞内濃度をRIA, EIAにより、またHSAPは細胞のbutanol抽出液中濃度を catalytic assayにより測定した。また誘導物質としては遺伝子発現に関与するといわれている sodium butyrate (3mM)あるいはprednisolone (5 μ g/ml)を細胞がほぼconfluentになつた時点で培養液中に添加した。また上記生化学的データを形態学的に確認するため、抗 β -hCG抗体(Mochida), 抗ferritin抗体(DAKO), 抗HSAP抗体(当研究室で作成した単一クローン性抗体)を用いた免疫細胞化学的染色を行つた。

成績：① sodium butyrate添加により、培養液中および細胞内の単位細胞蛋白当たりの β -hCG, ferritin量は増加したが、prednisolone添加では大きな変化はみられなかつた。② prednisolone添加により細胞中の単位細胞蛋白当たりのHSAP活性は増加した。③ 免疫細胞化学により β -hCG, ferritinは細胞内に、またHSAPは細胞膜および細胞内に観察され、①, ②に対応して陽性細胞数が増加した。

考察：癌細胞の腫瘍マーカー産生能の増強させ得る可能性のあることを生化学的手法ばかりでなく、従来困難とされてきた培養細胞の免疫細胞化学に改良を加え、形態学的にも証明した。

質問 (新潟大) 笹川 基

子宮頸癌株細胞が誘導物質により、 β -hCG耐熱性アルカリフォスファターゼなど、trophoblastに特徴的なmarkerを産生するように変化しているが、これはtrophoblast細胞に向かつた先祖がえりの現象とみてよいのでしょうか。

回答 (慶応大) 野沢 志朗

SKG-IIIaが β -hCG, HS-ALPetcを有するのは、oncoplacental geneのre-expressionによるものと考えております。

質問 (神戸大) 丸尾 猛

sodium butyrate, prednisoloneによる腫瘍マーカーの発現誘導を示されたが、その際の細胞の形態学的変化はどうであつたか、cell differentiationとの関連で知見があれば御教示いただきたい。

回答 (慶応大) 野沢 志朗

Sodium butyrate prednisoloneとも形態学的な変化はおこしますが、その変化と分化との関連は明らかではありません。