

142 移植ヌードマウスに悪液質を誘導するヒト卵巣癌培養細胞株の樹立とその解析

獨協医大¹, 同医学総合研究所², 同越谷病院³深澤一雄¹, 安田眞一², 亀森 哲¹, 桜井 秀¹, 香坂信明¹, 坂本尚徳¹, 吉仲 昭¹, 田中光臣¹, 太田順子³, 林 雅敏³, 大藏健義³, 稲葉憲之¹

【目的】進行癌患者の多くは悪液質を呈するが, この病態は生存期間や化学療法の治療効果と密接に関連しており重要な予後因子の一つである。婦人科領域では腹水貯留を伴った悪液質の発生頻度が比較的高い。そこで実験モデル作製として患者腹水より初代培養を試み細胞株を樹立してその特性を検討した。

【方法】平成9年7月卵巣漿液性嚢胞腺癌患者より了解のもと, 化学療法施行前に採取した腹水より細胞成分を回収し, RPMI1640+10%FBS培地を用いて初代培養を開始した。現在に至るまで安定した増殖を示し, 増殖細胞形態, 増殖曲線, および癌悪液質に関しては培養細胞において interleukin (IL) -6, IL-1 α , leukemia inhibitory factor (LIF), tumor necrosis factor (TNF) - α , vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor (TGF) - β の mRNA の発現を RT-PCR 法で, 培養上清中の上記サイトカインを ELISA 法にて検索した。また BALB/c ヌードマウスへの異種移植により, 悪液質の表現型としてマウスの体重減少を観察した。

【成績】培養細胞は単層に増殖し細胞間接着は比較的低く, 増殖曲線より倍加時間は約48時間で染色体は正常であった。ヌードマウス皮下移植では腫瘍の増殖とともにマウスの体重減少が認められ, 腹腔内移植では早期に腫瘍死した。培養細胞において IL-6, IL-1 α , LIF, VEGF, TGF- β mRNA の発現を認め, 培養上清中では IL-6, VEGF が高濃度に検出された。

【結論】樹立した培養細胞株は悪液質関連サイトカインを有し, 移植ヌードマウスに悪液質の病態を再現しており, 癌悪液質の特性を解明していく上で有用な実験モデルであると考えられた。

143 浮遊増殖性卵巣癌細胞株の樹立とこれを用いた足場非依存性増殖能の獲得機序解明の試み

福井医大

西川有紀子, 黒川哲司, 吉田好雄, 小辻文和

【目的】細胞の癌化や癌転移機構を明らかにする上で, 足場非依存性増殖能の獲得機序解明は重要な課題である。従来この研究は主に遺伝子導入細胞を用いて行われてきているが, 本研究では, これをより生体に近い環境で明らかにすることを目的として, 浮遊増殖性卵巣癌細胞株を培養樹立し, その特性を検討した。

【方法】同意の得られた多発肝転移を有す卵巣癌患者腹水より細胞を集め, 10%FBS 添加 RPMI1640培地にて培養を開始した。通常のシャーレにて単一な癌細胞の増殖を確認後, 培地中に浮遊してくる細胞のみを分取し, これをコラーゲンコートシャーレにて培養した。通常のシャーレ上での培養細胞は急速にその増殖能を失っていったがコラーゲン上での培養細胞は長期継代培養が可能であり細胞株 TAC3 を樹立した。

【成績】本細胞株はコラーゲン上では接着性に増殖するが, 通常のシャーレでは浮遊性に増殖するという非常に特徴的な性質を示した。集団倍加時間は接着時17時間, 浮遊時29時間であった。本細胞株における接着因子からの細胞内シグナル伝達物質を Western blot にて解析し, 現在までに, 接着情報を伝える FAK の異常な活性化は認めないこと, 増殖シグナルである ERK の活性は接着時, 非接着時共に亢進していること, を確認している。

【結論】浮遊増殖性卵巣癌細胞株の培養樹立に成功した。この特性は, 原発巣から離脱した癌細胞が腹水や血液中を生きのまま移動し癌性腹膜炎や遠隔転移を引き起こす, という卵巣癌の生体内動態を反映するものと考えられる。今後この細胞の特性を検討することにより, 足場非依存性増殖能の獲得機序解明が期待される。

144 LargeT 抗原, hTERT, Ha-ras, c-erbB2 遺伝子導入によるヒト卵巣上皮細胞 (OSE) の不死化ならびに癌化とその機能解析

京都大

草刈孝史, 刈谷方俊, 鶴田優子, Atia Akhtar Hamid, 八木治彦, 小西光長, 東辻久子, 北 正人, 南部香成子, 万代昌紀, 高倉賢二, 藤井信吾

【目的】上皮性卵巣癌発生過程解明の目的で, 上皮性卵巣癌で高頻度に異常が報告されている遺伝子の, ヒト卵巣上皮細胞 (OSE) の不死化, 癌化への影響を遺伝子導入法を用いて検討した。

【方法】患者の同意を得て採取したヒト OSE に lipofection 法で SV40 largeT 抗原および hTERT を導入後, 同法にて変異 Ha-ras, c-erbB2 のいずれかを導入した。life span 延長効果を population doubling level (PDL) で, 腫瘍化を軟寒天培地中でのコロニー形成, nude マウスでの腫瘍形成の有無で検討した。

【成績】largeT 抗原および hTERT 導入群の PDL は100以上と非導入群の3に比べ有意な life span 延長を認めた。軟寒天培地中でのコロニー形成数は非導入群では 1.2 ± 1.7 個, largeT 抗原および hTERT 導入群では 6.0 ± 1.5 個に対し, さらに Ha-ras, c-erbB2 を導入すると各 21.8 ± 3.3 個, 43.4 ± 5.0 個と有意に増加した ($p < 0.05$)。largeT 抗原および hTERT に加え Ha-ras ないし c-erbB2 遺伝子導入細胞の皮下移植により各々6匹中2匹に腫瘍形成が認められた。C-erbB2 遺伝子を導入して形成された腫瘍のうち一例は組織学的に上皮様の分化を示し, CA125 が陽性であったが, その他の腫瘍はすべて未分化癌と診断された。

【結論】largeT 抗原および hTERT 遺伝子導入によりヒト OSE は不死化し, さらに変異 Ha-ras ないし c-erbB2 遺伝子の導入により足場非依存性の増殖能の獲得, nude マウスでの腫瘍形成を示し, その癌化が確認された。