

氏名	足 達 敏 博 あ だち とし ひろ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 博 第 440 号
学位授与の日付	昭 和 48 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻
学位論文題目	Spontaneous Neoplastic Transformation on Splenic Reticulum Cells of A/Jax Strain Mouse by Long-term Tissue Culture in Vitro (A/Jax 系マウス脾臓細網細胞の長期培養による試験管内自然発癌)
論文調査委員	(主 査) 教 授 菅 原 努 教 授 翠 川 修 教 授 花 岡 正 男

論 文 内 容 の 要 旨

A/Jax 系成熟マウス脾臓組織を、比較的単純な栄養組成液を使って試験管内で培養することを試みた結果、脾臓細網細胞の培養が可能であることが見出され、この細胞系 (MR cells) を長期間にわたって培養環境で継代し、試験管内で悪性細胞に変異させることを目的として実験を行った。

従来から、線維芽細胞の試験管発癌については多くの報告がみられるが、脾臓細網細胞を試験管内で長期間培養することによって腫瘍細胞に変異させる試みはなされていないので、この系統の細胞の腫瘍細胞への変異の過程は、形態学的に十分研究されていない領域である。

実験材料は、A/Jax 系成熟マウス (生後 150 日) の脾臓を使い、KU 培養液に不活化仔牛血清を 20% 加え、TD-40 培養瓶で 37°C で静置培養を行った。培養液は週 2 回定期的に交換し、細胞増殖に応じて 0.25% トリプシン液による分散継代を行い、培養細胞は、位相差顕微鏡、各種染色標本、電子顕微鏡等により観察を行い、染色体の分析も試みた。脾臓組織は、試験管内で培養すると、主として細網細胞が培養される。細胞配列は網状で、核は大型、細胞質に多数の顆粒を含み、貪食能もみられる。

培養開始後 2~3 ヶ月間は殆んど増殖しない状態で経過し、4 ヶ月頃から始めて継代が可能になった。培養 6~9 ヶ月頃までは、細胞はゆっくりと増殖し、9~12 ヶ月頃より急速に増殖を示すようになり、多核巨細胞が多く出現し始めた。培養 18 代 (450 日) 頃までは同系マウスに移植しても腫瘍は形成されなかったが、培養 20 代、培養 466 日頃より、培養細胞 1×10^7 個を同系マウス皮下に移植した所、移植部位に腫瘍を形成し (MR Sarcoma)、試験管内発癌が確認された。腫瘍の病理組織所見は、構成している細胞が大型で多型性が著しく、多数の多核細胞がみられた。細胞は網状配列を示し、腫瘍細胞は細網線維と密接な関係を有し、貪食像もみられた。病理学的に細網肉腫 (多型網状型) と考えられた。この腫瘍は A/Jax 系マウスに移植が可能で、95% 以上の移植率を示し、平均 47 日で被移植マウスは腫瘍死する。この腫瘍を再び培養系に移すと細胞形態は、移植前の脾臓細網細胞系と同じ形態学的特性を示し、A/Jax 系マウスに戻すと移植部位に腫瘍を形成する。

以上の実験結果から、脾臓由来細網細胞は、試験管内で培養を行うと、培養環境下で悪性細胞に変異することが明確になった。また、悪性細胞に変化する過程が形態学的に観察され、悪性細胞に変化する過程で細胞核の異型性が増し、分裂異常、染色体異常を伴って、細胞が腫瘍形成能を獲得していくことも認められた。

なお、脾臓細網細胞の形態学的特性と比較するために、胎仔線維芽細胞を培養し、試験管内発癌による線維肉腫形成実験も併せて行った。

その結果、線維芽細胞系と細網細胞系の間で、培養細胞の形態、細胞増殖、腫瘍組織形態等で、両細胞系に著しい差異がみられた。線維細胞と細網細胞の異同、線維肉腫と細網肉腫の組織発生についても考察を加えた。

論文審査の結果の要旨

A/Jax 系成熟マウス脾臓組織を組成が比較的単純な KU 培地で培養すると細網細胞の選択的培養が可能となる。この細網細胞は培養下においても線維芽細胞とは全く異なる細胞系であることを位相差顕微鏡、細胞化学、電子顕微鏡の所見等から明らかにした。また細網細胞の長期培養を行ったが培養 9~12 ヶ月頃より細胞増殖が盛んになり、異型性が出現するとともに多核巨細胞がみられるようになり、培養 20 代 (466 日) 頃より同系マウスに移植が可能となる。そして本腫瘍は組織学的に多型細胞肉腫の像を示すことを明らかにした。この腫瘍は同系マウス 95% 以上の移植率を示し、平均 47 日で宿主を腫瘍死させる。この細網肉腫細胞は再培養が可能で、また同系マウスに戻し移植を行った場合腫瘍を形成する。しかし、このような細網肉腫細胞をさらに培養し続けると *In Vitro* における細胞増殖は一層旺盛になるにも拘らず成熟マウスに腫瘍を形成しえない細胞に変異することを見出した。試験管内発癌のみられた初期すなわち培養 20 代の細胞の染色体数分布はモードが広く低 3 倍体、低 4 倍体以上のものが多く異常染色体も見られた。本実験は再現性があり、発癌、腫瘍細胞の変異の機序解明について貢献するところが甚だ大きい。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。