

氏名	雑賀興慶 さいが たつよし
学位の種類	医学博士
学位記番号	論医博第872号
学位授与の日付	昭和56年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	An improved method to calculate colony forming ability in soft agar (軟寒天でのコロニー形成能の新しい計算法について)
論文調査委員	(主査) 教授 伊藤洋平 教授 市川康夫 教授 翠川 修

論文内容の要旨

Part (1)

悪性腫瘍にみられる種々の悪性性質の遺伝的調節機構の解明には、まず悪性性質としての phenotype の決定とその定量的研究が必要である。本論文では腫瘍細胞にみられる軟寒天培地上での増殖性が、悪性性質の phenotype として利用できるかどうか、又定量化が可能かどうかについて検討した。この実験ではハツカネズミ由来の悪性細胞株8種 (Ht, F, Mc, m, L, MRCB, ME, SY) と人間胎児由来の正常細胞株 (HEL), ハツカネズミ胎児由来の正常細胞 (MEb) を使った。これ等の細胞株にみられる腫瘍形成能, 細胞増加時間, 飽和細胞密度と軟寒天培地における細胞増殖能との相関を調べた。コロニー形成率は (i) 0% (ii) 0.15% (iii) 0.30% (iv) 0.40% の寒天培地で求めた。次にコロニー形成能は

$$Y = \frac{1}{a} \int_0^a f(x) dx \text{ の近似式で求めた。}$$

[X: 寒天濃度, $f(x)$: コロニー形成能]

この方法により(1)0.3%又は0.4%の寒天培地で増殖をみない細胞の悪性度をさらに細かく数値として表わす事が出来た。(2)コロニー形成能と腫瘍形成能, コロニー形成能と saturation density の間に密接な相関がみられた。(3)腫瘍の悪性性質の定量的研究の可能性が開けた。従来のように, 軟寒天培地での増殖性を0.3%の一点だけで表すよりも, いくつかの点での増殖性を我々の方法により, 一つの数値として表すことの方が, 悪性度のより細かな分類が可能であることが判った。又この方法により, 正常でもないが悪性でもないと考えられていた細胞株 (m, Htc 1-4) に一定の評価を与える事が可能となった。しかし, この方法においても尚, 矛盾と考えられる現象が ME 株, SY 株にみられた。今後この点について検討する必要がある。さらにこの方法の悪性性質の遺伝的調節機構の解明への応用についても検討を加える予定である。

Part (2)

悪性腫瘍細胞の集団構造は, 軟寒天の増殖性を指標にした場合不均一である事が判った。私は本論文の

Part (1) において、軟寒天の増殖性を指標にして悪性腫瘍細胞の集団構造を示しうる可能性についても論議した。

Part (2) においては、悪性腫瘍細胞の遺伝解析の方法について検討した。Rabinowitz et al., Block-satcher et al., Harris et al. は悪性腫瘍培養細胞株の染色体解析、細胞融合等の技術を用いて悪性性質は、いくつかの suppressor factors と expressor factors によって調節されている可能性を示した。しかし、このような研究は、染色体数が正常に近い場合を除けば、expressor factors と suppressor factors の数を決定する事は不可能であった。本論文では(1)expressor factors と suppressor factors が悪性腫瘍細胞集団においてはある確率分布に従って存在する、(2)expressor factors と suppressor factors が軟寒天での増殖性を調節している。(3)軟寒天での増殖性を指標にした場合に示される、不均一な細胞集団構造は、これらの factors の同時確率分布に従って決定されている、等の仮定に基づいて、expressor factors と suppressor factors の数を算出する方法について記述した。次に悪性性質 (tumorigenicity, transformed properties) の異なる細胞株 (m, Htc 1-4, Htc773, F, MC) の expressor factors と suppressor factors の数の決定を試みた。この方法によって得られた結果について若干の考察を加えた。

論文審査の結果の要旨

本論文では、悪性度の異なるマウス間葉系腫瘍細胞株を用い、種々の濃度の軟寒天内でのコロニー形成能を移植性との相関において検索した成績について記載されている。そして高移植性で腫瘍形成能の高い細胞株は0.3%~0.4%の高濃度の寒天内でも増殖しうるが、腫瘍形成能の低い細胞では0.15%以下の低濃度でしかコロニーを形成しないことを見出し、種々の濃度における寒天内のコロニー形成率を数値で表現することが可能であることを明らかにした。また各種細胞株はそれぞれコロニー形成率に関して不均一な細胞集団から構成されている事実をも見出した。これらの成績を基礎にして、種々の濃度の寒天培地での増殖性を規定している要因を想定し、促進因子と抑制因子との概念を導入して統計学的解析を行い、いろいろの腫瘍細胞株における両因子の数を推定しうることを明らかにした。本研究は従来の方法では扱うことのできない悪性度の低い腫瘍細胞を含め、腫瘍細胞の軟寒天内コロニー形成能を定量的に表示することを可能にした。そして悪性度のより詳細な判定ならびに悪性度を規定する因子の解析にも貢献するところが大きく医学博士の学位論文として価値あるものと認める。