

## 学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
覚野芳光	主査 教授 芝山 雄老
	主査 教授 鳴海 善文
	副査 教授 大道 正英
	副査 教授 大槻 勝紀
	副査 教授 谷川 允彦
主論文題名 Establishment and characterization of a cell line (OMC-9) originating from a human endometrial stromal sarcoma (ヒト子宮内膜間質肉腫由来培養細胞株(OMC-9)の樹立とその性状)	
学位論文内容の要旨	
<p>《緒言》</p> <p>子宮内膜間質肉腫は、現在治療に採用可能な薬剤に抵抗性で、放射線感受性も低く、特異的な腫瘍マーカーも見いだされていないため、診断および治療が今なお困難な腫瘍であり、基礎的研究のためにその細胞株の樹立が重要である。申請者はヒト子宮内膜間質肉腫由来細胞株(OMC-9)の樹立に成功したので、その樹立経過および細胞生物学的特性について報告する。</p> <p>《対象および方法》</p> <p>原腫瘍は 55 歳女性の子宮内腔に突出するように発育した子宮内膜間質肉腫で、摘出腫瘍組織片を細切後 0.25% trypsin 溶液で処理し、培養液(Ham's F12 培地+10%牛胎児血清+抗生剤)に浮遊させ、CO<sub>2</sub> インキュベーター内に静置して培養した。</p> <p>培養細胞の形態学的検討は、倒立顕微鏡による観察、エタノール固定・パパニコロウ染色標本の検鏡および透過型電子顕微鏡像の観察によって行った。細胞増殖能は培養細胞の増殖曲線から求めた。染色体分析は 30 個の分裂中期細胞について、An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN 1995) に準じて行った。異種移植として、浮遊単離細胞をヌードマウス背部皮下に接種して 2 週間後形成された直径 5mm の腫瘍を採取して光顕および電顕で観察した。</p> <p>腫瘍細胞の発現する腫瘍マーカーとして、培養上清中の AFP、CA125、CA19-9、CEA、HCG、SCC、TPA を測定した。また、抗癌剤(ACD、ADM、BLM、CBDCA、CDDP、CPA、5-FU、MMC、MTX、PEP、VCR、VLB、VP-16)の感受性を MTT assay 法で行い、50%増殖抑制濃度(EC50)を算定した。</p> <p>《結果》</p> <p>細胞株の樹立過程で、初代培養後しばらくは線維芽細胞の混在を認めたが、継代を重ねるにつれて消失した。培養細胞は紡錘形ないし多稜形で、細胞増殖の接触阻止は認められなかった。卵円形の核</p>	

に核小体を複数個有し、多核巨細胞も観察された。隣接する細胞間にデスモゾーム結合は認められなかった。これらの所見は、本培養細胞が非上皮性由来であることを示唆していた。継代5代目と29代目の増殖速度を検討したところ、継代するにつれて成長は速くなった。染色体数は、大半は2倍体であったが、一部にトリソミーが認められた。また、異種移植可能で、形成された腫瘍は原腫瘍と類似の組織像を呈した。電顕的観察でも原腫瘍と類似の所見であった。免疫組織化学染色では原腫瘍、異種移植腫瘍のいずれも、CD10 および vimentin が陽性であった。

術前の本患者の血清中の腫瘍マーカーは、上記マーカーのいずれも基準値範囲内であった。培養上清中のマーカーは、上記のうち、TPA のみが 233 U/L と上昇を示した。

抗癌剤の検討では、上記薬剤のうち、ACD、ADM、CBDCA、CDDP、VP-16 に MTT assay 法による薬剤感受性が認められた。

#### 《考 察》

樹立細胞は下記の特性を示した：①培養材料がヒト子宮内膜間質肉腫由来である。②198 ヶ月間、50 回以上にわたり継代可能である。③細胞異型を示し、接触阻止を示さず容易に重積する。④染色体検査では、核型がヒト型である。⑤ヌードマウスに移植可能で、原腫瘍と類似の腫瘍を形成する。以上のことから、OMC-9 がヒト子宮内膜間質肉腫由来培養細胞と確認された。

CD10 は本来、正常子宮内膜間質細胞や内膜間質由来の腫瘍細胞で免疫染色陽性となるが、今回の検討では原腫瘍細胞、異種移植腫瘍細胞で、ともに陽性を示した。このことは、本培養細胞が、高い可能性で内膜間質の性質を有することを示唆するものと考えられる。

なお、子宮内膜間質肉腫由来の培養細胞の樹立に関する研究には、本件を除いて、現在までに3つの報告があるが、CD10 の免疫染色、抗癌剤への感受性を検討しているのは、本研究のみである。

申請者が樹立した細胞株は、子宮内膜間質肉腫に有効な抗癌剤が未だ確立されていない現在、薬剤の開発を含め基礎的研究に有用であると考えられる。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙 第 号	氏 名	覚野芳光
論文審査担当者		主査 教授	芝山 雄老
		主査 教授	鳴海 善文
		副査 教授	大道 正英
		副査 教授	大槻 勝紀
		副査 教授	谷川 允彦
<p>主論文題名</p> <p>Establishment and characterization of a cell line (OMC-9) originating from a human endometrial stromal sarcoma (ヒト子宮内膜間質肉腫由来培養細胞株(OMC-9)の樹立とその性状)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>子宮内膜間質肉腫は、特異的な腫瘍マーカーが確定されておらず、薬剤に抵抗性で放射線感受性も低く、診断および治療が困難な腫瘍である。申請者は摘出子宮内膜間質肉腫を初代培養して、腫瘍細胞株(OMC-9)の樹立に成功し、以下の細胞生物学的特性を明らかにした。196 ヶ月、50 代以上継代されている OMC-9 は細胞異型を示し、接触阻止を示さず容易に重積する。染色体検査では概ね 2 倍体、一部3倍体を示すヒト型であり、細胞増殖の接触阻止は認められない。異種移植可能である。培養細胞の形態学的所見及び、CD10 と vimentin が陽性である免疫組織化学所見は、本腫瘍株が非上皮性細胞由来であることを示している。MTT assay 法による薬剤感受性試験では、ACD、ADM、CBDCA、CDDP、VP-16 に感受性が認められた。</p> <p>子宮内膜間質肉腫に有効な抗癌剤が未だ確立されていない現在、申請者が樹立した細胞株は薬剤の開発を含め基礎的研究に有用であると考えられる。</p> <p>以上により、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌)</p> <p>Human Cell 21: 46-55, 2008</p>			