

氏名(本籍)	酒井紀恵(茨城県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第1,277号		
学位授与年月日	平成6年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	補体第一成分 C1s の腫瘍原性に及ぼす影響		
主査	筑波大学教授	医学博士	大川治夫
副査	筑波大学教授	医学博士	小形岳三郎
副査	萬有製薬株式会社	理学博士	西村 暹
	つくば研究所長		
	(筑波大学客員教授)		
副査	筑波大学教授	医学博士	三輪正直
副査	筑波大学助教授	医学博士	白杵 愨

論文の要旨

〈研究の目的〉

補体第一成分 C1s は、補体古典経路における活性化の役割のみを担うものと考えられて来た。しかし最近になり、ハムスター悪性線維芽細胞 Ni12C2 から産生・分泌される C1s が、細胞外基質を構成する I 型コラーゲンや基底膜の構成成分の IV 型コラーゲンを分解すること、ヒト C1s が I 型及び II 型コラーゲンを分解し、更に IV 型コラーゲンの分解酵素 MMP-9 を活性化することが判明し、基質蛋白分解酵素としての C1s の役割が注目されている。

癌が増殖、浸潤さらに転移する際には、癌細胞は原発巣周囲の細胞外基質、血管壁基底膜、転移巣の細胞外基質を破壊する必要がある。C1s もその際に基質蛋白分解酵素の 1 つとして、働いている可能性が考えられる。実際に C1s を産生する高転移性の Ni12C2 細胞は、in vivo での抗 C1s 抗体の投与によってその肺転移は 1/5 に抑制されることが報告されている。本研究は、癌細胞から産生される C1s が癌の増殖、浸潤さらに転移に関与するかどうかを明らかにするという最終目標のもとに行われた。

〈方法〉

C1s 非産生性のマウス線維芽細胞株 A31 にハムスター C1s cDNA をトランスフェクトし、C1s cDNA トランスフェクタントを樹立した。そしてその C1s 産生能の確認を行った。

更にヌードマウスを用いてこのトランスフェクタントの in vivo における腫瘍原性の確認を行った。

形成された腫瘍については病理学的に同定すると共に、腫瘍組織における Cls の発現を検索した。更に形成された腫瘍細胞を再分離し *in vitro* で培養し、培養上清のウエスタン解析により Cls 分泌の確認を行った。

〈結果と考察〉

Cls cDNA トランスフェクタントの樹立に関しては、13種類のトランスフェクタントが得られた。このうち12株はウエスタン解析により Cls の産生の確認ができた。産生の高かったのは3株では、プラスミド数は細胞あたり A3CS9 10コピー、A3CS12 2~3コピー、A3CS13 80コピーであった。この3株はノーザン解析により正常サイズの ClsRNA の産生が確認された。無血清培養上清をウエスタン解析することにより、正常のサイズの Cls 蛋白の合成が確認され、一部 Cls が活性化していることは、人工基質 AGNLE を分解するエステラーゼ活性でも確認できた。トランスフェクタント3株の生物学的特徴は親細胞 A31とほとんど差はなく、*in vitro* では細胞のトランスフォーメーションは認められなかった。

得られた Cls トランスフェクタントの *in vivo* 腫瘍原性に関しては、ヌードマウスに接種した時に、親細胞A31およびベクターのみのトランスフェクタントでは造腫瘍性は見られなかったのに対して、3種類の Cls cDNA トランスフェクタントでは腫瘍の形成が認められた。すなわち A3CS9 12/21 (57%)、A3CS12 5/14(36%)、A3CS13 10/17(59%)である。なお転移巣は全く見られなかった。腫瘍細胞は大きな細胞と小さな紡錘形細胞の2種類から構成されていた。病理組織学的には未分化な間葉系腫瘍と考えられた。

ヌードマウス腫瘍より再分離して培養した腫瘍細胞から Cls の産生が確認出来た。

特に A3CS13から得た腫瘍細胞 A3CS13-T2は正常の Cls を産生していたが、培養すると重積像が見られ *in vitro* でトランスフォーメーションが起こっていることが確認された。また A3CS13-T2の分泌する Cls のみは還元下、非還元下にかかわらず3種類の抗体のすべてと反応した。

以上のように、マウス線維芽細胞株から樹立された Cls 産生トランスフェクタントの *in vitro* での検索並びにその細胞の形成したヌードマウス腫瘍への腫瘍形成能の検索から Cls の過剰産生が腫瘍原性の獲得に寄与しているものと考えられた。腫瘍原性獲得への原因解明の詳細な検討は今後続くべき課題である。

審 査 の 要 旨

酒井氏の研究では、最近明らかになった補体第1成分 Cls の持つ基質蛋白分解酵素としての役割に注目し、癌細胞から産生される Cls が癌の増殖、浸潤、転移などにどのように関与するかという問題を解決するべく進められた。親細胞として非腫瘍性のマウス胎児線維芽細胞株を用いて Cls トランスフェクタントを樹立した。そして *in vitro* および *in vivo* における検討を行い、Cls cDNA トランスフェクタントの腫瘍原性を示した。この細胞を用いて将来 Cls の癌浸潤、転移における直接の影響を明らかにして行くことが望まれる。

本研究は補体成分の一つの C1s が補体経路以外でも働いていることを示し、又 C1s の過剰産生が腫瘍原性の獲得に寄与しているという結果より腫瘍原性の研究における補体の関与という新しい局面をも開いたものとして評価できる。C1s 産生モデルを作成出来たことにより、今後免疫複合体によらない補体古典経路の活性化機構の解明にも役立ち得るものと考えられる。

以上より本論文は博士（医学）論文として十分なものと判定する。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。