

# 肝動脈塞栓術施行或は非施行ヒト肝癌組織の初代培養と株化

岡山大学医学部癌源研究施設病理部門（主任：佐藤二郎教授）

日下 泰徳，常盤 孝義，佐藤 二郎

岡山大学医学部第一外科学教室（主任：折田薫三教授）

津下 宏，浜崎 啓介，三村 久，折田 薫三

（昭和63年10月25日受稿）

**Key words** : TAE, ヒト肝癌, 初代培養, 株化

## 緒 言

原発性肝癌に由来する細胞株は、肝細胞癌発生に対する肝炎ウイルスの関与や、腫瘍マーカーの発現を初め、肝細胞癌あるいは胆管細胞癌の発生、病因、診断、治療等の諸研究に欠かすことのできない材料である。現在までに肝細胞癌に由来する細胞株を中心に数十例報告されている<sup>1)~17)</sup>が、研究の一層の進展には未だ不十分である。一般に肝癌の培養内株化は現在かなり困難であると考えられている。肝癌の組織としての特異性もあるが、最大の理由として、現在は種々の治療を経た手術材料が中心となるため、細胞生存率の低下が避けられない<sup>18)</sup>ことによると考えられる。今回、我々は、20例の肝動脈塞栓術 (transcatheter arterial embolization 以下 TAE と略す) 施行あるいは非施行手術材料を入手し、細胞分散法あるいは培養条件を可能なかぎり変化させて初代培養を試み、 $\alpha$ -フェトプロテイン (AFP) やアルブミン (ALB) 産生の推移などの観察を行うとともに、一系の株化に成功したので報告する。

## 材 料 と 方 法

### 1. 症 例

培養には、Table 1 に示した様に20例の手術材料を用いた。

### 2. 培養方法

採取された腫瘍組織を、メスにて細片し、さらに Hanks'液にて洗浄後、0.05% コラゲナーゼ (sigma), 1000u/ml デスパーゼ (合同酒精) それぞれ37°C, 30分, あるいは500u/ml トリプシン (持田製薬) 4°C 20分から24時間処理しさらにその後150 $\mu$ m pore のメッシュに通した。最終濃度10%牛胎児血清または20%成牛血清 (56°C 30分非動化以下 BS と略す) と最終濃度0.2% ラクトアルブミンハイドロリゼイト (GIBCO) を加えた RPMI-1640 (日水) を主な培養液とし (以下 RL と略す), 初代培養の場合は、全細胞収量を1~2枚の35mm シャーレ (Falcon) あるいは35mm コラーゲンディッシュ (岩城ガラス) に播種し、株細胞の場合は原則的には、10万/ml 4ml を60mm シャーレに播種し、5% CO<sub>2</sub> インキュベーター内で静置培養を行った。

### 3. 染色体分析

対数増殖期にある細胞に0.3% コルヒチンを添加した後、常法<sup>19)</sup>に従い作製し、同定可能な分裂像について分析を行った。

### 4. 生化学的検索

初代培養あるいは継代培養後、適当な時点で培養液を交換し、さらに2日間培養液を1200回転5分遠心した後、その上清について AFP 並びに ALB を ELISA 法<sup>20)</sup>にて、また、Ferritin, Elastase-1, Tissue Polypeptide Antigen (TPA),  $\beta_2$ -microglobulin (BMG), Carbo-

Table 1 PRIMARY CULTURE OF HUMAN HEPATOMA

	Age	Sex	Patient Diagnosis	HBV infection	TAE*
HuH-15	58	M	H.C.C.**	+	-
HuH-16	62	M	H.C.C.	-	+
HuH-17	73	M	H.C.C.	-	+
HuH-18	58	M	H.C.C.	-	+
HuH-19	62	F	H.C.C.	-	+
HuH-20	44	F	H.C.C.	-	-
HuH-21	51	M	H.C.C.	+	+
HuH-22	49	M	H.C.C.	-	-
HuH-23	63	M	H.C.C.	-	-
HuH-24	57	M	H.C.C.	-	+
HuH-25	57	M	H.C.C.	+	-
HuH-26	67	M	H.C.C.	-	-
HuH-27	71	M	H.C.C.	-	-
HuH-28	37	F	C.C.C.***	-	-
HuH-29	53	M	H.C.C.	+	+
HuH-30	77	M	H.C.C.	+	-
HuH-32	53	M	H.C.C.	+	+
HuH-33	68	F	H.C.C.	+	-
HuH-34	68	F	H.C.C.	-	-
HuH-35	68	F	H.C.C.	-	-

\* Transcatheter arterial embolization

\*\* Hepatocellular carcinoma

\*\*\* Cholangiocellular carcinoma

hydrate Antigen (CA) 19/9, CA-125, Pancreatic Secretory Trypsininhibitor (PSTI), Immunosuppressive Acidic Protein (IAP) を radioimmunoassay kit にてそれぞれ測定をおこなった。また、培養上清中のアルカリフォスファターゼ (ALP) を King ら<sup>21)</sup>の方法で、また  $\gamma$ -glutamyltransferase (GGT) を Laishes<sup>22)</sup>の方法で、さらに、細胞中の ALP 活性を、0.93mol/l AMP 緩衝液 (PH10.5) 中の P-ニトロフェニイトから、P-N-ニトロフェニールの遊離を比色することにより測定した。

#### 5. 異種移植性

ヌードマウス BALB/C の背部に、酵素による分散細胞ないしは細切した組織片として接種した。播種材料は、HuH-15~24, 26~30, 33の16例である。株化した HuH-28については、継代9代にも接種した。

#### 6. 増殖曲線

細胞株として樹立された HuH-28については、7代(植え込み数 $1.5 \times 10^4$ cells/well および $2.5 \times 10^4$ cells/well) および12代( $4.5 \times 10^4$ cells/well)において、また、亜株 HuH-28-1については、33代( $3 \times 10^5$ cells/well)において、細胞を24穴マルチウエルディッシュ (Falcon) に播種し、2週間にわたり、細胞数を計測した。

### 結 果

#### 1. 細胞分散

腫瘍組織からの細胞収量ならびに生存率は、酵素の種類に関係なく非常に低く(細胞収量は、多い例で $10^4$ cells/g wet tissue, 生存率は約1%)、カウント不能な例が多かった。これは、TAE 非施行例2例を除き、材料の TAE 施行の有無にはとくに関係しなかった。HuH-28, HuH-33の2例については、トリプシン処理により比較的

高い生存率（両者とも約15%）が得られた。

## 2. 初代培養における細胞形態

単層培養では、TAE 施行例 1/8、非施行例 4/12 に上皮性細胞を認めた。一方、移植片培養法では、TAE 施行例 1/8、非施行例 3/12 に上皮性細胞の遊出を認めた (Fig. 1)。HuH-28 と HuH-33 を除いて、上記の上皮性細胞のほとんどは、1週間から3ヵ月間の間に変性消失した。HuH-28 は、紡錘形細胞が主であり、一部に多角

形細胞が存在した。HuH-33 は多角形細胞とやや細い角形細胞が3ヵ月以上存在し、1988年10月1日現在増殖中である。

## 3. 細胞増殖

ほとんどの細胞系は、継代に到る前に死滅した。HuH-28 は、ゆっくりとした増殖性を示しながら継代可能となり細胞株となった<sup>23)24)</sup>。その後、本細胞株より BS 濃度を順次低下させ、1% BS 添加培地で継代可能な亜株 (HuH-28-1) を得た。

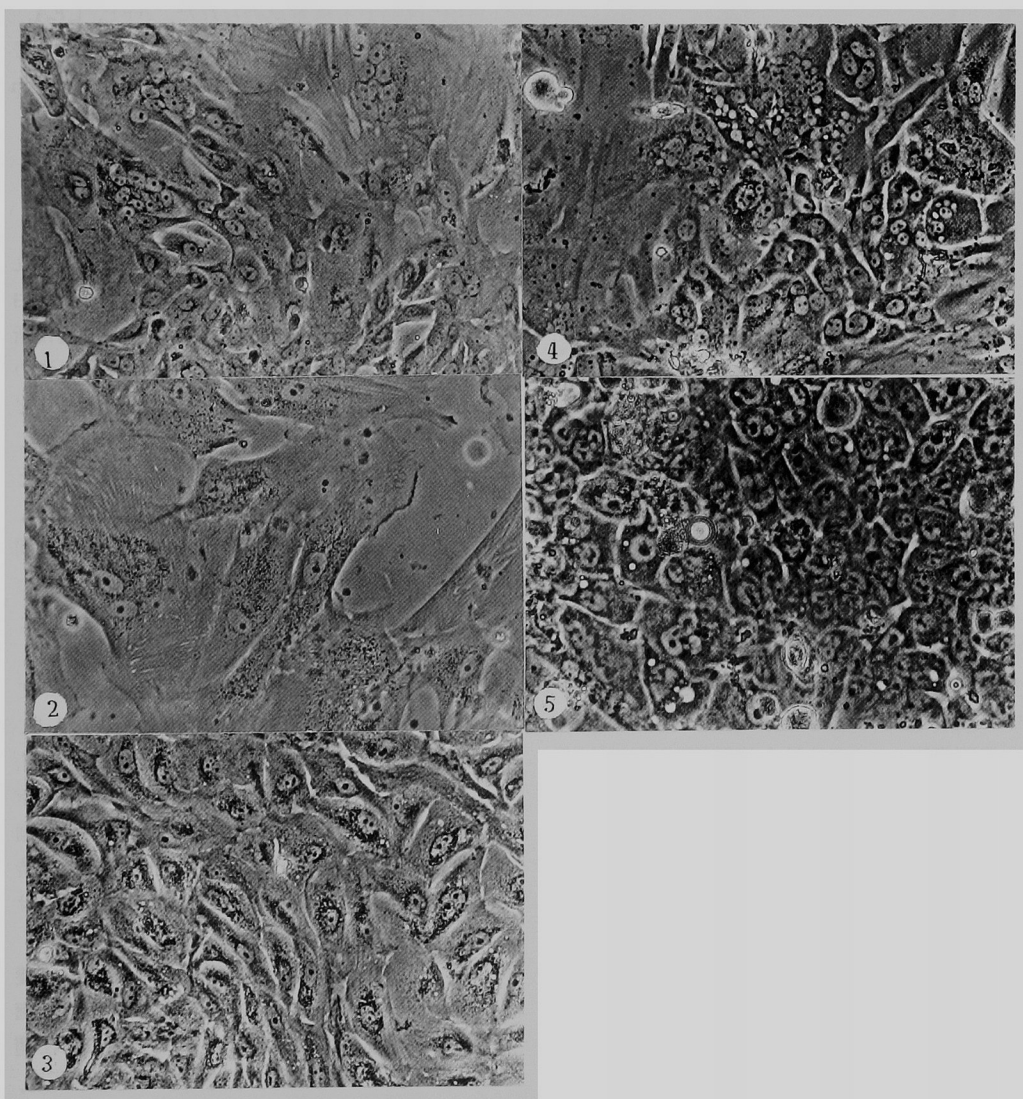


Fig. 1 Epithelial-like cells derived from human primary liver cancer tissues treated with or without TAE. Phase contrast.  $\times 100$ . 1, HuH-21 (TAE+); 2, HuH-15 (TAE-); 3, HuH-27 (TAE-); 4, HuH-28; (TAE-); 5, HuH-33 (TAE-).

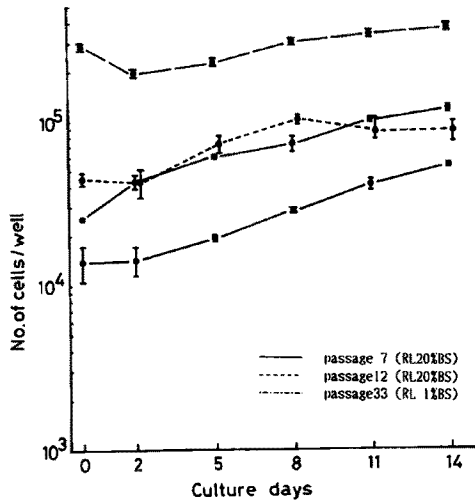


Fig. 2 Growth curves of HuH-28 cultured in RPMI-1640 supplemented with 0.2% lactalbumin hydrolysate and 20% BS (—, ·····) and its subline HuH-28-1 cultured in RPMI-1640 supplemented with 0.2% lactalbumin hydrolysate and 1% BS (—·—). Bars, Mean  $\pm$  SD.

Fig. 2には、HuH-28 (RL+20% BS) およびその亜株 HuH-28-1 (RL+1% BS) の増殖曲線を示した。HuH-33は、初代培養後、108日目に第一回目の継代が可能となった。また、以下に示す様に初代培養後22日目に染色体作製可能となり、将来樹立細胞系となることが、期待される。

#### 4. AFP ならびに ALB の推移

肝癌細胞のマーカーとして AFP および ALB の推移を調べた (Table 2)。培地中の AFP は、1週間から1ヵ月間検出可能であった。多くの細胞系は、細胞の変性ととも AFP 量、ALB 量とも未検出となった。

HuH-33は101日現在、微量ながら AFP および ALB ともなお検出可能であり観察される上皮性細胞は、肝癌細胞であることが考えられた。

#### 5. 染色体分析

HuH-28および HuH-33が染色体作製可能となった。HuH-28では、継代3代ならびに14代において、染色体はすべて人型で、染色体数は、40-90の範囲に分布し、モードは、いずれも59であ

った。HuH-33では、初代培養後22日目に染色体作製を行い、異数体性が観察された (Fig. 3)。

#### 6. 異種移植性

移植後2ヵ月から6ヵ月の時点で腫瘍形成を認めていない。

#### 7. 生化学的検査

HuH-28およびその亜株 HuH-28-1 の培養上清について生化学的検査を行った結果、Ferritin, Elastase-1, BMG, TPA を検出した。また、ALP, GGT も微量認められた。AFP, CEA, CA-19/9などは検出されなかった (Table 3)。また、ALP の細胞内活性は、165mU/mg protein であった。

## 考 察

ヒト肝癌組織の培養、株化に関する報告は、その多くが1985年までになされているが、それ以後は、やや少なくなる傾向にある。その理由として、神代らが述べている<sup>18)25)</sup>様に、診断技術の向上、外科的手術、化学ならびに免疫療法の発達等が上げられるが、特に化学療法剤やリビオドールと併用される TAE の普及<sup>26)~33)</sup>により、生きた肝癌細胞を得がなくなったことによると考えられる。著者らが知りうる限りにおいては、TAE 施行に言及した初代培養あるいは株化に関する報告は未だ無い。今回行った TAE 施行または非施行肝癌組織の初代培養の試行結果をもとに以下に問題点を上げ、考察を加える。

#### 1. 初代培養法 (細胞分散法、培養法) について

入手材料の大きさ、部位その他に制限があり、系統的な実験は不可能であったが、細胞分散法に関しては、コラゲナーゼあるいはデスパーゼ法に比し、トリプシン法により生存率がやや増加する例を認めた。トリプシンでは、低温長時間処理が可能であり、それだけ細胞傷害が避けられるのかもしれない。

培養法に関しては、各材料について単層培養法と移植片培養法の二法を適用した。上皮性細胞の出現、AFP あるいは ALB の消長などに関し、両培養法の間に大きな差異を認めなかった。今後、コラーゲンゲル内培養法など、マトリックスを考慮した培養法も検討されなければならないと考えられた。

Table 2 Production of  $\alpha$ -fetoprotein and albumin in human hepatoma cells after primary culture

	Pre-operation AFP (ng/ml)		Time after primary culture				
			0	1w.	1m.	2m.	3m. (ng/ml)
HuH-15	415	AFP			ND*		
		ALB			35	4	1
HuH-16	21.3	AFP		ND			
		ALB		>100			
HuH-17	6.8	AFP			ND		
		ALB			4		
HuH-18	14	AFP		ND	ND		
		ALB		14	3	2	
HuH-19	742	AFP				2	
		ALB				2	
HuH-20	508	AFP				4	
		ALB				2	
HuH-21	61.6	AFP		ND	2	ND	
		ALB		77	3	1	
HuH-22	34.5	AFP			2		
		ALB			5		
HuH-25	20.3	AFP		ND			
		ALB		>100			
HuH-26	5600	AFP		9			
		ALB		>100			
HuH-27	111.9	AFP			22		
		ALB			2		
HuH-33	4300	AFP		ND	ND		5
		ALB		ND	ND		4

\* Not detected

## 2. TAE 施行の影響について

単層培養法において（移植片培養法においてもほぼ同様の傾向であったが）、上皮性細胞の出現の割合が、TAE 施行例 1/8 に対し、非施行例 4/12 と非施行例が上回った。さらに、継代の可能性に関しても、可能となった二系 (HuH-28, HuH-33) はいずれも TAE 非施行例である。TAE 非施行例においても当然のことながら制癌剤処置がなされており、その影響が残存していると考えられるが、上記の結果より、TAE 施行が肝癌細胞の傷害をより強く残していることが示唆され、今後、肝癌の手術材料としては可能な限り TAE 非施行例の使用が望ましいと思われる。

3. HuH-28 の株化について<sup>23)-24)</sup>

今日までに報告のあった胆管細胞癌株は著者らの知りうる限りでは、数例<sup>15)-17)</sup>しか無く、ま

たいずれも上皮様形態を保持している。HuH-28 は、in vivo を反映する形態、すなわち紡錘型を主とし多角型細胞の混在も認められ、新しいタイプの胆管細胞癌株と思われる。また、他の胆管細胞癌株と比較して、低い増殖率ながら、早期より安定な増殖性を示す一方で、染色体は、3代においてすでに異常を示し、モード59は14代においても維持されていた。このことは、HuH-28が長期培養においても in vivo における生物学的性状を比較的良好に保持していることを示しているのかもしれない。

胆管細胞癌の予後は日本肝癌研究会<sup>34)</sup>をはじめとして、種々の報告<sup>35)36)</sup>でいずれも非常に予後不良とされている。しかしながら、本 HuH-28 の宿主たる患者は、リンパ節転移や再発を認めながら4年以上も存命中であることより予後は比

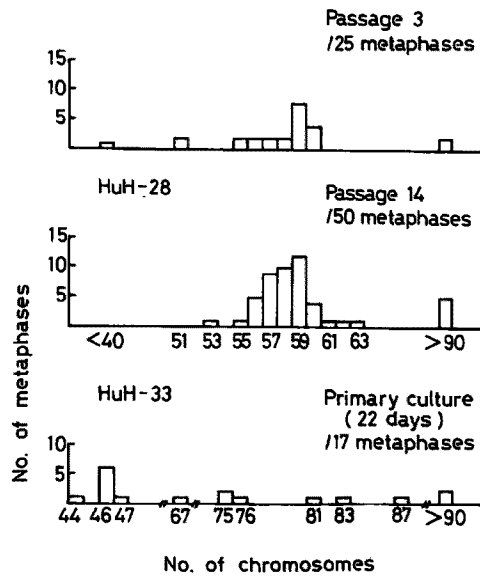


Fig. 3 The distribution of chromosome numbers in HuH-28 at passage 14 and in HuH-33 at primary culture.

較的良好と考えられ、低い増殖性ならびに異種移植性の欠如とも併せて in vivo と in vitro の関連性という点で興味深い。

HuH-28は、胆道系酵素群である ALP ならびに GGT 陽性であった。また、培養上清中には、AFP CEA CA19-9 は認めず、BMG Ferritin TPA Elastase-1 を認め、機能的にも特徴的な胆管細胞癌株であると思われる。

結 論

我々は、最近の種々の治療を施された手術材料 (19例の肝細胞癌と1例の胆管細胞癌) を用いた場合のヒト肝癌細胞株を得る可能性を探るため、初代培養を行った。

1. 酵素処理による細胞分散時の生存率は、TAE 施行の有無に関わらず 1% 以下であった。
2. 単層培養法では、TAE 施行 8 例中 1 例、非施行 12 例中 4 例に上皮性細胞を認めた。一方移植片培養法では TAE 施行 8 例中 1 例、非施行 12 例中 3 例に上皮性細胞の遊出を認めた。これら上皮性細胞は 1 週間～1 ヶ月の間 AFP

Table 3 Tumor markers in spent media by HuH-28 and its subline HuH-28-1

HuH-28 (passage 3, RL+20%BS)		
CEA	<0.5 ng/ml	
CA19-9	<5.0 u/ml	
BMG	700 μg/l	10 μg/10 <sup>4</sup> cells
Ferritin	9 ng/ml	0.19ng/10 <sup>4</sup> cells
TPA	99 mu/ml	2.06mu/10 <sup>4</sup> cells
Elastase-1	6000 ng/ml	125 ng/10 <sup>4</sup> cells
PSTI	<2.0 ng/ml	
IAP	<50 μg/ml	
CA12-5	<5.0 u/ml	
γ-GTP	4.01mu/ml	0.081u10 <sup>4</sup> cells
ALP *	12.3 lu/ml	
AFP *	<3.0 ng/ml	

\* Examined at passage 1 (ALP) and 6 (AFP), respectively.

HuH-28-1 (passage 28, RL+1%BS)		
CA19-9	<5.0 u/ml	
BMG	322 μg/l	1.40μg/10 <sup>6</sup> cells
Ferritin	8 ng/ml	34.8 ng/10 <sup>6</sup> cells
TPA	36 mu/ml	156.5 mu/10 <sup>6</sup> cells
Elastase-1	1110 ng/l	4.8 ng/10 <sup>6</sup> cells

産生能とともに培養内で維持された。

3. 上皮性細胞を認めた7例中、継代可能となったものは、単層培養法由来のTAE非施行例2例のみであった。そのうち1例はCCCであり、その後CCCの諸性質を有する細胞株の樹立に到った。
4. ノードマウスへの移植性は調べられたすべ

ての例で陰性であった。

以上の結果は、TAE施行例のみならず非施行例においても継代可能な上皮性細胞を得るには、相当な困難を伴い、培養条件その他に関し特別な工夫がなされなければならないことを示している。

#### 文 献

- 1) Doi I, Namba M and Sato J: Establishment and some biological characteristics of Human Hepatoma cell lines. *Gann* (1975) **66**, 385—392.
- 2) Alexander JJ, Bey EM, Geddes EW and Lecatsas G: Establishment of a continuously growing cell line from primary carcinoma of the liver. *S Afr J Med J* (1976) **50**, 2124—2128.
- 3) Doi I: Establishment of a cell line and its clonal sublines from a patient with hepatoblastoma. *Gann* (1976) **67**, 1—10.
- 4) Chen JM, Chu TH, Yen HJ and Shen TW: The establishment and some characteristics of a human liver carcinoma cell line (BEL-7402) in vitro. *Acta Biol Exp Sin* (1978) **11**, 37—50.
- 5) Aden DH, Fogel A, Plotkin S, Damjianov I and Knowles BB: Controlled synthesis of HBs-Ag in a differentiated human liver carcinoma-derived cell line. *Nature* (1979) **282**, 615—616.
- 6) Chen JM, Chu TH, Yen HJ, Shen TW and Lu YH: Establishment of three human liver carcinoma cell lines and some of their biological characteristics in vitro. *Sci Sin* (1980) **23**, 236—251.
- 7) HuH N and Utakoji T: Production of HBs-antigen by two new human hepatoma cell lines and its enhancement by dexamethasone. *Gann* (1981) **72**, 178—179.
- 8) Nakabayashi H, Taketa K, Yamane T and Sato J: Growth of Human Hepatoma cell lines with Differentiated Function in chemically Defined medium. *Cancer Res* (1982) **42**, 3858—3863.
- 9) Watanabe T, Morizane T, Tsuchimoto K, Inagaki Y, Munakata Y, Nakamura T, Kumagai N and Tsuchiya M: Establishment of a cell line (HCC-M) from a human hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* (1983) **32**, 141—146.
- 10) He L, Isselbacher KJ, Wands JR, Goodman HM, Shin C and Quarori A: Establishment and Characterization of a new Human Hepatocellular Carcinoma cell line. *IN VITRO* (1984) **20**, 493—504.
- 11) 村上龍夫: ヒト肝癌細胞株 (KIM-1) の樹立と性状. *肝臓* (1984) **25**, 1—8.
- 12) Yano H, Kojiro M and Nakashima T: A new human hepatocellular carcinoma cell line (KYN-1) with a Transformation to adenocarcinoma. *IN VITRO* (1986) **22**, 637—646.
- 13) 蓮村 哲, 永森静志, 藤瀬清隆, 本間 定, 筋野 甫, 松浦知和, 清水恵一郎, 新谷 稔, 亀田治男, 里見信子, 原中勝征: ヒト肝癌細胞株に対する tumor necrosis factor の影響. *医のあゆみ* (1987) **143**, 655—656.
- 14) Yano H, Maruiwa M, Murakami T, Fukuda K, Ito Y, Sugihara S and Kojiro M: A new human pleomorphic hepatocellular carcinoma cell line, KYN-2. *Acta Pathol Jpn* (1988) **38**, 953—966.
- 15) Yamaguchi N, Morioka H, Ohkura H, Hirohashi S and Kawai K: Establishment and Characterization of the Human Cholangiocarcinoma cell line HChol-Y 1 in a serum-free, Chemically defined medium. *J Natl Cancer Inst* (1985) **75**, 29—32.

- 16) 宮際 幹, 市田隆文, 佐々木博, 常盤孝義, 佐藤二郎: CA19/9 高産生性ヒト胆管細胞癌由来細胞の樹立とその性状. ヒト細胞研究会抄録集 (1987) 5, 46—49.
- 17) 松浦知和, 永森静志: ヒト肝・胆・膵細胞の樹立株; JHC—1. 第四回人細胞研究会シンポジウム抄録集 (1987) 70.
- 18) 神代正道, 中島敏郎: 病理: 肝癌, 末舛恵一, 服部 信編, メジカルビュー社, 東京 (1986) pp114—122.
- 19) Rothfels KH and Siminovitch L: An air drying technique for flattening chromosomes in mammalian cells grown in vitro. *Stain Technol* (1958) 33, 73—77.
- 20) Uotila M, Ruoslahti E and Engvall E: Two site sandwich enzyme immunoassay with monoclonal antibodies to human alpha-fetoprotein. *J Immunol Methods* (1981) 42, 11—13.
- 21) King EJ, Haslewood GAD, Delory GE and Beall D: Micro-chemical methods of blood analysis. *Lancet* (1942) 1, 207—209.
- 22) Laishes BA, Ogawa K, Roberts E and Farber E: Gamma-Glutamyl Transpeptidase: A Positive Marker for Cultured Rat Liver Cells Derived from Putative Premalignant and Malignant Lesions. *J Natl Cancer Inst* (1978) 60, 1009—1016.
- 23) Kusaka Y, Tokiwa T and Sato J: Establishment and characterization of a cell line from a human cholangiocellular carcinoma. *Res Exp Med* (1988) 188, 367—375.
- 24) 日下泰徳, 村岡 篤, 常盤孝義, 佐藤二郎: ヒト胆管細胞癌由来細胞株 HuH-28の樹立と性状. *Human Cell* (1988) 1, 92—93.
- 25) 神代正道: 肝細胞癌培養株の機能分化維持. *医のあゆみ* (1987) 141, 193.
- 26) 打田日出夫: Interventional Angiography: とくに腹部領域における Transcatheter arterial embolization による治療. *日独医報* (1979) 24, 475—479.
- 27) 市田隆文, 小島 隆, 中野 護, 井上恭一, 佐々木博, 曾我憲二, 野本 実, 市田文弘: 肝細胞癌に対する Transcatheter Arterial Embolization 療法の臨床病理学的検討. *肝臓* (1981) 22, 1264—1275.
- 28) 中村仁信, 田中 健, 崔秀美, 川本誠一, 森本耕治, 堀 信一, 吉岡寛康: 肝悪性腫瘍に対する Transcatheter Embolization: 切除例からみた効果判定. *脈管学* (1982) 22, 335—339.
- 29) 佐々木洋, 今岡真義, 松井征雄, 石川 治, 谷口健三, 岩永 剛, 寺沢敏夫, 大川元臣, 石黒信吾, 堀 信一: 肝細胞癌における術前 Transcatheter arterial embolization therapy の意義について: 組織学的検討を中心に. *日癌治療会誌* (1982) 17, 1917—1924.
- 30) 平井賢治, 熊谷雅信, 大久保和典, 川副良治, 酒井輝文, 長崎嘉和, 阿部雅秀, 久保保彦, 谷川久一: 肝細胞癌における肝門部門脈側副路の臨床的意義. *臨放線* (1984) 29, 451—455.
- 31) 池田健次, 小宅映士, 熊田博光, 竹内和男, 中島正男, 吉場 朗, 煎本正博: 肝癌に対する transcatheter arterial embolization therapy の評価. *日消外会誌* (1984) 81, 249—253.
- 32) 木村通雄, 小林敏生, 大藤正雄: 成績からみた TAE 療法の検討. *臨外* (1984) 39, 987—993.
- 33) 長島 通, 滝 崇正, 向井 稔, 菊池俊之, 有我隆光, 高 在完, 奥山和明, 山本義一, 小高通夫, 佐藤 博: 肝悪性腫瘍に対する lipiodol-adriamycin 動注療法の検討. *日消外会誌* (1985) 18, 1664—1670.
- 34) 日本肝癌研究会: 原発性肝癌に関する追跡調査第7報. *肝臓* (1986) 27, 1161—1169.
- 35) 水戸勉郎, 近藤啓史, 沢 雅之: 胆管細胞癌. 肝癌, 末舛恵一, 服部 信編メジカルビュー社, 東京 (1986) pp173—181.
- 36) Foster JH: Survival after liver resection for cancer. *Cancer* (1970) 26, 493—502.



**Primary culture of human primary liver cancer tissues treated with or without transcatheter arterial embolization and establishment of a cell line**

**Yasunori KUSAKA<sup>1)</sup>, Takayoshi TOKIWA<sup>1)</sup>, Hiroshi TSUGE<sup>2)</sup>**

**Keisuke HAMASAKI<sup>2)</sup>, Hisashi MIMURA<sup>2)</sup>, Kunzo ORITA<sup>2)</sup>**

**and Jiro SATO<sup>1)</sup>**

**1) Division of Pathology, Cancer Institute, Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

**2) First Department of Surgery, Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

**(Director : Prof. J. Sato)**

**Primary culture of human primary liver cancer tissues treated with or without transcatheter arterial embolization (TAE) was performed with the following results.**

- 1. The yield and viability were very low in cells from primary liver cancer tissues dissociated with enzymes.**
- 2. Epithelial-like cells were found from TAE-treated cancer tissues at a ratio of 1/8 in both monolayer and explant culture and from TAE-nontreated tissues at a ratio of 4/12 in monolayer culture and 3/12 in explant culture. The AFP-producing capacity of these epithelial-like cells has been maintained from one week to one month in culture.**
- 3. Cells derived from two TAE-nontreated cancer tissues were subculturable. One was established as a cholangiocellular carcinoma cell line.**
- 4. No heterotransplantability of primary cultured cancer cells into nude mice was found.**