

学位授与番号	医博甲第1022号		
学位授与年月日	平成4年3月25日		
氏名	太田安彦		
学位論文題目	特異的DNA増幅反応法を用いたヌードマウスにおけるヒト転移腫瘍細胞の定量的検出		
論文審査委員	主査	教授	佐々木 琢磨
	副査	教授	渡辺 洋宇
		教授	原田 文夫

内容の要旨および審査の結果の要旨

ヌードマウスを用いたヒト腫瘍の転移実験系は種々報告されているが、転移腫瘍の定量的検出方法は未だ確立されていない。ヌードマウスを用いた転移実験系をヒト腫瘍の転移巣に対する治療実験モデルとして応用するためには、定量性と迅速性を兼ね備えた検出法を確立する必要がある。

本研究では、転移ヒト腫瘍細胞の特異的かつ定量的な検出方法として、ヒト腫瘍細胞に含まれるヒトに特異的な β -グロビン遺伝子配列をPolymerase Chain Reaction (PCR)法により増幅した後、サザンブロット法にて検出及び解析する方法を検討した。

実験転移系では、ヒト線維肉腫細胞HT-1080細胞 (5×10^6 個)をヌードマウス (ICR nu/nu)の尾静脈内に移植し、自然転移系では右鼠径部皮下に移植した。移植後、経時的に肺及びリンパ節を摘出し、抽出したDNAを鋳型として β -グロビン遺伝子に対する特異的プライマー、Hu β -1及びHu β -8を用いてPCR法による増幅反応を行い、サザンブロット法により増幅DNA断片の検出・解析を行なった。その結果、実験転移系では1週目よりヒト β -グロビン遺伝子の増幅断片 (576bp)が検出され、肺転移を確実にとらえることができた。さらに臓器当りの転移腫瘍細胞数は経時的に増加することが明らかとなった。自然転移系では5週目より肺、リンパ節転移が検出された。ヌードマウスによる転移実験系にPCR法を応用した検出法を適用することによって、肉眼的観察では検出不可能な微小転移レベルでの転移巣の定量的検出が可能となった。

本法を用い、肺転移巣に対する抗癌剤の効果判定試験を施行した。HT-1080細胞を尾静脈内に移植後1週目にAdriamycin (ADM) 8 mg/kgまたはCisplatin (CDDP) 2 mg/kgを投与し、投与後1週目に肺を摘出し、DNAを抽出した。PCR法による β -グロビン遺伝子の増幅とそれに引き続くサザンブロット法により増幅DNA断片の検出・解析を行なった。その結果、抗癌剤投与後1週目において、ADMとCDDPの腫瘍増殖阻止率はそれぞれ39%、60%であり、HT-1080の肺転移巣はADMに感受性が高く、CDDPに感受性が低いことが明らかとなった。PCR法を応用した本検出法を適用することによりヌードマウスにおいても、腫瘍移植後2週間というきわめて短期間で薬剤の転移巣に対する治療効果の判定が可能であることが示された。

以上、本研究はヒト癌の転移、浸潤の機構解明及び癌転移巣に対する薬剤の開発に有用な方法を提供したもので、転移研究の進歩に寄与する有意義な論文と評価された。