

学位授与番号：乙 3 1 4 6 号

氏 名：山下 重雄

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 28 年 5 月 25 日

学位論文名：

Establishment and characterization of a cell line (IGSK-3) secreting human chorionic gonadotropin, adrenocorticotropic hormone and parathyroid hormone-related protein derived from primary poorly differentiated adenocarcinoma of the stomach.

学位論文名（翻訳）：

(hCG, ACTH, PTH-rP 産生胃低分化型腺癌細胞株 (IGSK-3) 樹立とその特徴)

学位審査委員長：教授 颯川 晋教授

学位審査委員：教授 馬目佳信教授 教授 炭山和毅教授

## 論 文 要 旨

論文提出者名	山下 重雄	指導教授名 矢永 勝彦
<p>主論文</p> <p>Establishment and characterization of a cell line (IGSK-3) secreting human chorionic gonadotropin, adrenocorticotrophic hormone and parathyroid hormone-related protein derived from primary poorly differentiated adenocarcinoma of the stomach.</p> <p>(hCG, ACTH, PTH-rP 産生胃低分化型腺癌細胞株 (IGSK-3) 樹立とその特徴)</p> <p>Shigeo Yamashita, Naoto Takahashi, Hisashi Hashimoto, Toshiaki Tachibana, Taka Nakahara, Akihiro Ohyama, Katsuhiko Yanaga</p> <p>Human Cell 21: 88-94, 2008</p> <p>低分化型腺癌由来で hCG, ACTH, PTH-rP、EGF を分泌する胃癌細胞株 IGSK-3 を確立することに成功したので、その生物学的特徴、特にホルモン分泌と形態学的な点を検討した。</p> <p>症例は 59 歳女性。多発骨転移と多発肝転移を併発した胃低分化型腺癌の診断にて幽門側胃切除を施行された原発巣を材料とした。初代培養から約 8 週間後、IGSK-3 細胞株が樹立された。細胞株の通常の観察は倒立顕微鏡で行い、さらに電子顕微鏡での観察も行った。IGSK-3 細胞の培養を行い、成長曲線から細胞分裂時間が決定した。6 継代目の IGSK-3 細胞を処理し G 分染法で染色体分析を行った。IGSK-3 細胞を 4 頭のヌードマウスの皮下に移植し移植 8 週後に切除し HE 染色を行い観察した。さらに IGSK-3 細胞と移植片は抗 hCG-<math>\beta</math> 抗体、抗 EGFR 抗体、抗 VEGF 抗体で染色した。また、培養液中の CA19-9, CEA, AFP, ADH, hCG-<math>\beta</math>, ACTH, PTH-rP, EGF の濃度をそれぞれ測定した。</p> <p>初代培養から約 8 週間後、IGSK-3 細胞株が樹立された。倒立位相差顕微鏡の観察では IGSK-3 細胞は 2 つの形態学的なサブタイプがあることが明らかになった。第 1 のタイプは核小体が確認でき鮮明な核を持つタイプ。第 2 のタイプは核も核小体も見えないタイプ。細胞分裂の倍加速度は 43 時間。4 日間培養した IGSK-3 細胞の培養液を分析すると、IGSK-3 は hCG-<math>\beta</math> (0.5ng/ml) , ACTH(5.5pg/ml), PTH-rP(3.4pmol/ml), EGF(14.2pg/ml)を分泌することが明らかになった。IGSK-3 細胞の移植片の病理学的診断ではオリジナルの腫瘍に似た低分化型腺癌を形成した。さらに、IGSK-3 の細胞株は免疫細胞化学的に hCG-<math>\beta</math> と EGFR に陽性で VEGF に陰性であった。近年、EGFR をターゲットとした治療薬が様々な腫瘍で臨床的に重要となってきたため、本 IGSK-3 細胞株は EGFR をターゲットとする薬剤治療の研究に資すると思われる。</p>		

## 学位審査の結果の要旨

東京慈恵会医科大学 外科学講座消化器外科分野、山下重雄氏提出のティークシスは「hCG, ACTH, PTH-rP 産生胃低分化型腺癌細胞株 (IGSK-3) 樹立とその特徴」と題する Human Cell に誌上発表された論文 (Establishment and characterization of a cell line (IGSK-3) secreting human chorionic gonadotropin, adrenocorticotrophic hormone and parathyroid hormone-related protein derived from primary poorly differentiated adenocarcinoma of the stomach. Human Cell 2008;21, 88-94) を元にしたものです。ここではその論文要旨と審査内容を報告致します。

山下氏らは 59 歳女性の、多発性骨転移と肝転移を有する胃低分化腺癌 幽門側胃切除検体の原発巣を材料として、初代培養より約 8 週間後に IGSK-3 細胞株を樹立し、その characterization を行いました。同細胞には 2 種の形態学的なサブタイプが混在しており、核小体が確認でき鮮明な核を持つタイプ、そして、核も核小体も見えないタイプに分類できました。細胞分裂の倍加時間は 43 時間、4 日間培養した同細胞の培養液の検討では hCG-beta, ACTH, PTH-rP, EGF を分泌していることが明らかになりました。免疫組織学的検討では hCG-beta と EGFR が陽性、VEGF は陰性でした。さらに同細胞の移植片の病理学的診断ではオリジナルの腫瘍類似の低分化腺癌が形成されました。このように複数のマーカーを同時に産生しているヒト胃癌細胞株は IGSK-3 細胞株が最初のものであり、今後の薬剤治療検討のモデルとなりえると考えられました。

本論文に対する審査会は、平成 28 年 4 月 28 日に馬目佳信教授、炭山和毅教授のご出席のもと開催され、両教授より多くの貴重なご意見、ご示唆を頂きました。席上、2 種類の細胞サブタイプが混在することの意味はなにか、クローニングの予定はあるのか、蛋白レベルではなく mRNA レベルの検討をしようか、抗がん剤感受性試験など今後の展望はどうか、次世代シーケンスによる検討はどうか、原発巣と転移巣の違いを検討したか、内視鏡標本を用いて同様の細胞株樹立は可能かなどにつき多くのご示唆ならびに質問がありましたが、これらについて山下氏は的確な回答と意見を述べました。その後、審査会の同意に基づき、希少な報告であることをより強調するための邦文タイトルの訂正、図の挿入位置の確認、ヒト由来の細胞株であるとの根拠の説明文の再確認などいくつかの修正を依頼、修正稿を再度慎重審査致しました。結果、本論文を学位請求論文として十分に価値あるものと認定した次第であります。ご審議のほどよろしくお願い申し上げます。