原 著

ヒト卵巣粘液性嚢胞腺癌細胞株 (MN-1) の樹立と そのクローニングより得られた2種の亜株 (MN-1 A, MN-1 B) の性状

星ヶ丘厚生年金病院産婦人科¹⁾, 久留米大学医学部産婦人科学教室²⁾, 東大阪市立中央病院産婦人科³⁾

奈良県立医科大学第2病理学教室⁴⁾, 同 産婦人科学教室⁵⁾

吉田 雅代¹⁾ 清塚 康彦²⁾ 野田 恒夫³⁾ 今井 俊介⁴⁾
一 條 元彦⁵⁾

卵巣粘液性嚢胞腺癌患者の手術時摘出腫瘍組織から, *in vitro* で継代可能な細胞株 (MN-1) の樹立に成功した。さらに, MN-1 の single cell cloning より細胞学的特性の異なる2種類の亜株細胞 MN-1 A, MN-1 B を分離, 樹立した。親株 MN-1 は, 初代培養開始後, 1年8ヵ月を経て, 1991年1月現在, 第113代に, また, 亜株 MN-1 A は第90代, 亜株 MN-1 B は第76代にいたっている。

MN-1 細胞の倍加時間は29.4時間, 染色体数は94~104に分布し, 高4倍体領域の102にモードを認めた。一方, MN-1 A の染色体数分布は低3倍体領域に低下, 倍加時間は40.0時間, また, MN-1 B では親株と同様に高4倍体領域にモードを有するが, 倍加時間は32.0時間であった。形態学的観察でも, MN-1 A が敷石状に配列し重積性に乏しいのに対し, MN-1 B では紡錘型細胞が著しい重積を示し, 両者に明らかな差を認めた。また, 両亜株細胞とも nude mouse に移植可能であるが, MN-1 A が高分化型腺癌像を呈したのに対し, MN-1 B では低分化像が観察された。

以上より, 親株細胞 MN-1 より細胞学的特性の異なる2種類の亜株細胞が樹立され, 複数の細胞クローンで構成されると予想される癌組織の特性を検討する上で有用な株細胞系であると考えられる。

Key words : Ovary—Established cell line—Mucinous cystadenocarcinoma—Human

Establishment and characterization of human cell line derived from mucinous cystadenocarcinoma of ovary

Masayo YOSHIDA¹⁾, M.D., Yasuhiko KIYOZUKA²⁾, M.D., M.I.A.C., Tsuneo NODA³⁾, M.D., M.I.A.C., Shunsuke IMAI⁴⁾, M.D., M.I.A.C., Motohiko ICHIJO⁵⁾, M.D.

¹⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Hoshigaoka-kouseinenkin Hospital

²⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Kurume University School of Medicine

³⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Higashiosaka-Chuo Hospital

⁴⁾The second Department of Pathology, ⁵⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Nara Medical College

論文別刷請求先: ☎ 573 大阪府枚方市星ヶ丘4の8の1 星ヶ丘厚生年金病院産婦人科 吉田雅代

平成4年5月14日受付

平成4年10月30日受理

I. 緒 言

近年, 卵巣癌化学療法全体の一次奏効率は Cis-platinum を主体とする多剤併用療法によって著しく改善されたが, それは, 必ずしも長期予後には反映されていない。特に組織型別では, 臨床進行期ごとの評価において, 漿液性嚢胞腺癌に比較し, 粘液性嚢胞腺癌の予後は不良とされ, これは化学療法抵抗性に由来すると考えられている。

一方, これらの卵巣癌組織の細胞学的性状の解析に必要な培養細胞株の樹立は, 本邦では卵巣癌全体で55例 (1982~1990年) 報告されているが, うち, 粘液性嚢胞腺癌株は5例が知られているにすぎない。

い⁴⁻⁸).

今回、われわれは卵巣癌患者の手術時摘出標本より採取した検体を用い、新しい粘液性嚢胞腺癌株細胞(MN-1)の継代、樹立を行った。さらに、親株細胞の single cell cloning から2種の亜株細胞を分離することに成功した。

両株細胞の細胞学的比較検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

II. 研究方法

1. 培養材料および培養方法

1) 培養材料

患者は66歳の女性で、骨盤内腫瘍および腹水貯留を主訴に受診した。1989年5月9日、卵巣癌の診断のもとに、準広汎性子宮全摘術、両側付属器摘出術、骨盤内リンパ節廓清術、大網切除術を施行した。術後、Cis-platinumの腹腔内投与などの化学療法を実施するも効なく、同年7月より腹水の再貯留を認め、同時にDICを併発、8月17日に死亡した。この手術時摘出標本を無菌的に採取し培養材料とした。術後の病理診断は卵巣粘液性嚢胞腺癌であった(Stage III c)(写真1)。

2) 培養方法

培養は細胞分散法によった。すなわち、摘出材料を、10% FCS (Flow labo., USA) 加 Dulbecco Eagle 変法培地(以下 DMEM, 日水(株))を入れたシャーレ内で3回洗浄後、剪刀で細切した。浮遊した細胞成分を含む上清をナイロン・メッシュで濾過後、1250 rpm で5分間遠心した。その沈渣を15% FCS 加 DMEM に再懸濁させ、 1×10^5 個/ml の濃度で

写真1 原腫瘍の病理組織像(右: H-E 染色, 左: PAS 染色, $\times 200$)

culture frasc 内での初代培養を開始した。培養条件は 37°C 、湿度 100% の 5% CO_2 incubator 内での静置培養とした。培養初期は1週間ごとに培養液を交換した。継代培養時の細胞分散は 0.125% トリプシン・0.012% EDTA (in PBS) 溶液で行った。この培養株細胞を MN-1 とし、その後、継代 17 代で限外希釈法による cloning 操作を行い亜株 MN-1 A を得た。さらに継代 31 代における同操作により亜株 MN-1 B を得た。

2. 樹立株細胞の性状に関する検討

1) 光学顕微鏡による形態観察

MN-1 細胞 1×10^5 個/ml を懸濁した培地 0.5 ml を、tissue culture chamber (ラプテック®, 三光純薬(株)) 内に3日間培養後、細胞が mono-layer になったところで、95% エタノールで固定した。これに H-E 染色, Periodic Acid Schiff 染色(以下 PAS 染色)および Papanicolaou 染色(以下 Pap. 染色)を行い、光学顕微鏡で形態観察を行った。また、culture frasc 内の培養状態での細胞を位相差倒立顕微鏡で観察した。

2) 電子顕微鏡による形態観察

単層培養された細胞を frasc 低面より scraper で剥離し、培養液ごと遠心して得られた沈渣を Karnovsky 液で固定した。さらに、0.1 M の cacodylated buffer で24時間洗浄した後、1% osmium tetroxide で 4°C 、2時間固定した。エタノール脱水後、propylene oxide で置換し、Quetol 812 で包埋した。超薄切片は LKB 8800 型 microtome で作成し、uranium acetate, lead nitrate による二重染色を行い、透過型電子顕微鏡(JEM-100 CX)で観察・撮影した。

3. 増殖曲線・倍加時間

MN-1 細胞は第10代目および第47代目の細胞を、亜株 MN-1 A 細胞は cloning 後、第22代目、亜株 MN-1 B 細胞は同様に cloning 後、第9代目の細胞を用い、増殖能を検討した。細胞をトリプシン・EDTA 溶液で単離細胞とし、10% FCS 加 DMEM にて、24-multi well plate (Corning glass work, Corning, N. Y.) の各 well に 1×10^5 個に細胞数を調整して培養した。培養液交換は3~4日周期で行った。継代的にトリプシンで細胞分散し、生細胞数を測定した。測定は3個の well で行い、これらの平均値を表示し、増殖曲線を作成した。また、この増殖曲線から対数増殖期を設定し、

$$\text{Doubling time} = (t - t') \log 2 / \log N - \log N'$$

写真 2 培養中の親株 MN-1 細胞の位相差顕微鏡写真。偽腺管様の構造を示しながら、一部に隆起性の発育をみせる (×200)

写真 3 培養中の親株 MN-1 細胞。一部に粘液空胞を有し PAS 染色陽性を示す (右: Pap. 染色, ×400, 左: PAS 染色, ×400)

(t , t' : 細胞数を計測した時間, N' : t' 時での細胞数, N : t 時での細胞数) の式に従い倍加時間を求めた。

4. 細胞密度の検討

MN-1 細胞は第 47 代目, 亜株 MN-1 A 細胞は第 22 代目, 亜株 MN-1 B 細胞は第 9 代目の細胞を用いた。25 cm² tissue culture frasc (Corning glass work, Corning, N.Y.) に 1×10^5 個の細胞を接種し, 3~4 日周期で培養液交換を行った。2 週間後, 細胞が confluent cell layer になったのを確認し, トリプシンで単離細胞とした。その生細胞総数より細胞密度 (Saturation density) を計算した。

5. nude mouse への移植能

MN-1 細胞は第 19 代, および第 52 代目を, MN-1 A 細胞は cloning 後, 第 31 代目, MN-1 B 細胞は同様に cloning 後, 第 18 代目の細胞を用い異種移植能を検討した。4 週齢の BALB/C nu-nu (♀) (日本クレア) の背部皮下に, 各株細胞 1×10^7 個/mouse を 0.2 ml の PBS に懸濁し接種した。

6. 染色体分析

細胞を 0.2% colcemide 含有 10% FCS 加 DMEM で培養し M 期 arrest を誘発した後, 火災固定した。標本を Giemsa 染色後, 有糸分裂状態を写真撮影し染色体分析用標本とした。MN-1 細胞は第 3 代および第 50 代で, MN-1 A 細胞は第 27 代, MN-1 B 細胞は第 13 代で染色体数ならび核型分析を行った。

7. 無血清培地培養

組織培養用無血清培地 ASF (味の素(株)) に MN-1, MN-1 A, MN-1 B 細胞を 1×10^5 個/20 ml に浮遊させ, 増殖中の形態を位相差顕微鏡で観察した。

III. 研究成績

1. 株細胞の樹立

培養開始当初より fibroblast の混入は明らかでなく, 培養開始後 2 週間目より, 敷石状配列を呈する, ほぼ均一な上皮性細胞集塊として pile-up するのが観察された。培養開始後 20 日目に full seat の状態となり第 1 回目の継代を行った。以降, 1:3 の splitting で, 継代は 3~5 日ごとに行っており 1991 年 1 月 23 日現在, 1 年 8 ヶ月を経過し MN-1 細胞は第 113 代に, また, cloning によって得られた亜株 MN-1 A 細胞は第 90 代, MN-1 B 細胞は第 76 代にいたっている。

2. MN-1 細胞の形態学的特徴

培養状態の MN-1 細胞は, 位相差顕微鏡下での観察では敷石状配列を呈しながら pile-up し, 一部に偽腺管様の細胞配列を示すのを特徴とする (写真 2)。Pap. 染色標本では, 細胞質はレース状でライトグリーンに染色され, 細胞質内に粘液空胞を認める。細顆粒状のクロマチンを有する核は大小不同が著しく, 核縁は肥厚し, 数個の明瞭な核小体を有する。PAS 染色では, 細胞質内に PAS 陽性顆粒を認めるが, ジアスターゼ消化試験で陰性化しない (写真 3)。電子顕微鏡所見では, 核内に微細なクロマチンが瀰漫性にみられ, 肥厚した核縁に沿って euchromatin の増量するのが観察された。核膜の invagination は著明ではない。細胞膜には豊富な micro villi が存在する一方, mitochondria, endoplasmic reticulum などの細胞内小器官の発育が明らかで, 比較的, 分化した細胞像を

写真 4 親株 MN-1 細胞の電子顕微鏡像 (×2000)

写真 5 敷石状配列を呈しながら主に単層状態で発育する亜株 MN-1 A 細胞 (左) に対し、亜株 MN-1 B 細胞では、短紡錘型細胞が、著しい重積性を示して発育する (右) (位相差顕微鏡像, ×200)

呈していると考えられた (写真 4)。

3. 亜株 MN-1 A・MN-1 B 細胞の形態学的特徴

位相差顕微鏡的観察では、亜株 MN-1 A 細胞は親株 MN-1 に比較し、大きさは小型で重積性は軽度であった。一方、亜株 MN-1 B 細胞は、やや紡錘型を呈する細胞が互いに錯綜するように配列し、著しい重積性を示した (写真 5)。H-E、Pap. 染色で比較すると、亜株 MN-1 A 細胞は円形ないし類円形で淡い細胞質を有し、核クロマチンは比較的均一、核縁の肥厚も軽度であった。しかし、MN-1 B 細胞では、核は多形性に富み、クロマチンは増量し、細胞質縁はやや

写真 6 培養状態での MN-1 A 細胞での MN-1 A 細胞 (左)、MN-1 B 細胞 (右) (H-E 染色, ×400)

菲薄化、elongate するのを特徴としていた (写真 6)。このように、両亜株細胞間で形態学的に明らかな差異が認められたが、PAS 染色では両者とも、消化試験で陰性化しない PAS 陽性顆粒を細胞質内に認めた。

4. 異種移植能

第 19 代の MN-1 細胞を用いて異種移植能を検討したところ、移植後 4 週間で nude mouse 背部皮下に腫瘤が形成された (写真 7)。移植腫瘍は肉眼的には充実性の腫瘍としての発育形態を示すが、組織学的には少数ながら一部に腺腔形成を伴う、全体的に中等度分化型の粘液性腺癌像を呈し、一部、未分化な部位も混在する多彩な組織像を示した (写真 8)。亜株 A、B

写真7 ノード・マウス移植腫瘍の発育状態の比較。親株MN-1（上段）、亜株MN-1A（中段）、亜株MN-1B（下段）

細胞とも同様に移植後4週間で背部皮下に腫瘍が形成されたが、腫瘍径から判定した両株細胞の発育速度に大きな差を認めた。すなわち、亜株A細胞の腫瘍発育は遅く、4週後でも直径1cm弱の腫瘍しか形成されなかったが、亜株B細胞では同期間に腫瘍径が3cmに達した(写真7)。また、両株細胞の組織標本の比較では、亜株Aは腺腔形成が著しく、高分化型の粘液性腺癌像を呈したのに対し、亜株Bでは短紡錘型の腫瘍細胞が充実性に発育する未分化な像が観察された(写真8)。これら両亜株細胞の異種移植腫瘍組織における所見は、それぞれの *in vitro* での培養形態の特徴と一致した。

5. 増殖曲線・倍加時間・細胞密度の検討

親株および亜株細胞の増殖曲線より対数増殖期を設定し、それぞれの倍加時間を計算した。親株MN-1の倍加時間は29.4時間、亜株Aは40.0時間、亜株Bは32.0時間で、亜株Aにおいて、親株に対し1.4倍の倍加時間の延長がみられたが、亜株Bは親株とほぼ同等の倍加時間を示した。一方、細胞密度は親株が 28.2×10^4 個/cm² であるのに対して、亜株Aでは 85.2×10^4 個/cm² と親株の約3倍の高密度を示し、また亜株Bでは 38.8×10^4 個/cm² と親株とほぼ同等

写真8 ノード・マウス移植腫瘍の細胞像の比較。親株MN-1(上段, 左: PAS染色, 右: H-E染色, $\times 200$)、亜株MN-1A(中段, H-E染色, $\times 400$)、亜株MN-1B(下段, H-E染色, $\times 400$)

の細胞密度を呈した(図1)。

6. 染色体分析

それぞれの株細胞の59~79個の細胞のmetaphaseから染色体数を測定した(図2)。親株の染色体数は94~104に分布し、高4倍体領域の102にモードを認めた。しかし、亜株Aではモードが低3倍体領域に移

図1 樹立株細胞の *in vitro* 増殖曲線および細胞密度

動し、また、亜株Bでは親株とほぼ同一のモードを示したが、ともに親株の染色体数分布領域内での分散であった。Gバンド法による核型分析の結果、親株MN-1のすべての細胞に共通して1p⁻, 6p⁺, 7q⁺の構造異常と、8, 10, 11, 14番の染色体のトリソミーおよび4番のテトラソミーを認めた。MN-1Aのすべての細胞に共通したのは親株と同様に1p⁻, 6p⁺, 7q⁺の構造異常のみであるが、MN-1Bではこれに16p⁻が付加された結果となった。

7. 無血清培地培養

MN-1および亜株A, B細胞ともに無血清培地(ASF:味の素(株))培養での増殖は可能であった。DMEMでの培養条件下と比較すると、三者とも壁附着能が低下し、球形状の細胞集塊を呈しながら培養液中に浮遊して発育する像を示した(写真示さず)。DMEM培地中で認められたような三者間の著しい発育形態上の差異は観察されなかった。

IV. 考 察

卵巣悪性腫瘍はその発生母地を反映して、多彩な組織型を呈し、それぞれの組織型により化学療法剤に対する反応性が異なり、その組織型が予後を左右する重要な因子の一つであることが知られている。臨床進行期を考慮しない単に組織型別の予後をall overで評価

図2 樹立株細胞間の染色体数分布の比較

すると、粘液性癌は早期癌で発見される頻度が高いとはいえ、比較的良好な予後を示す⁹⁾。しかし、これを臨床進行期別に評価したMalkashianら¹⁰⁾の報告では、I期では漿液性腺癌の5年生存率が78%であるのに対し、粘液性癌で77%と両者に著しい差を認めないが、III期のそれは漿液性腺癌の62%に比し、粘液性腺癌では31%と格段に予後不良となっている。この理由の一つとして、粘液性腺癌が抗癌剤に抵抗を示す症例が多く、漿液性腺癌に比べて難治性であることが考えられる⁹⁾。

特定の腫瘍が共通した抗癌剤感受性を有するという仮定のもとに、対象とする腫瘍を限定して薬剤感受性を網羅しようとする方法はAlleyら¹¹⁾の提唱により、disease oriented screen system (DOSS) として知ら

表 1 亜株A, Bの *in vitro*, *in vivo* における特徴

		核 クロマチン 核小体		細胞質 態 PAS		腫瘍細胞の配列 or 組織構成
垂株A	<i>in vitro</i> での特徴	核内は均一 核縁の肥厚(－)	明瞭 数個	小型 円形～類円形	＋	敷石状
	<i>in vivo</i> での特徴	同上	同上	円柱形 粘液空胞有り	＋	著しい腺腔形成
垂株B	<i>in vitro</i> での特徴	Aより増量 粗大顆粒状 核縁の肥厚(＋)	明瞭 数個	短紡錘形 末端が菲薄, elongated	＋	重積性あり 錯綜して配列
	<i>in vivo</i> での特徴	同上	同上	短紡錘形	＋	充実性

れるが、特に卵巢癌の組織型による抗癌剤感受性の差を明確にするためには、より多くの株細胞を樹立しその性状を研究する必要がある。現在までに、本邦で樹立された卵巢癌株55種(1980～1990)のうち¹⁻³⁾、漿液性腺癌由来の株は15種であるが^{1-3,12)}、粘液性腺癌由来株は5種にすぎない⁴⁻⁸⁾。粘液性腺癌株細胞の樹立の報告が少ない理由としては、比較的、細胞成分が少なく培養が困難であることが考えられる。今回、われわれは、幸運にも手術時の摘出腫瘍組織より粘液性腺癌細胞株MN-1の樹立に成功した。MN-1株細胞は病理的検索において多彩な組織像を呈することから、分化度の異なるいくつかの細胞集団が混在することが予想された。MN-1の細胞集団の構成要素を明確にする目的で2回のsingle cell cloningを行った結果、亜株A, B細胞を分離することに成功した。

亜株A細胞とB細胞を比較すると*in vitro*において、亜株Aは、比較的均一な小型円形細胞が敷石状に配列し、その核も異型性が乏しいのに対し、亜株Bでは、短紡錘形の細胞が重積して発育し、核の大小不同や異型が明らかで、亜株A細胞に比べると、形態学的に著しい差を認めた。また、nude mouse 移植腫瘍においても、腺腔形成の著しい亜株A細胞に対し、亜株B細胞では腫瘍細胞が充実性に増殖するという差が観察された(表1)。このような形態学的差異に加えて、染色体数および分布モードからは、亜株Aではモードが74、亜株Bでは100と違いがみられ、親株細胞集団中の特定の染色体領域を有する細胞集団が強調された結果と考えられた。*in vitro*での倍加時間に関しては、亜株Aが40時間と最も早い増殖能を有し、次いで亜株B、親株の順であったが、nude mouse 移植腫瘍形成能では、同一の接種細胞量であるにもかかわらず、亜株Bが最も発育が早く、次いで親株、亜株Aとなり*in vitro*とは異なる結果が得られた。それぞれの

株細胞が、その成育環境(*in vitro/in vivo*)下で異なる分裂速度を有することも推測されるが、細胞密度の評価では、亜株Aが親株、亜株Bに比較し、約3倍程度の高い細胞密度を示したことより、移植腫瘍の大きさそのものを、細胞数から評価した*in vitro*の倍加時間と同一に比較することは不可能とも考えられる。

一般に、cloning 前の株細胞をnude mouse に移植した場合、細胞接種量が同一であっても発育形成された腫瘍塊に大小の違いが生じるのは、よく経験するところであり、これも、ある特定のcloneがselectionされた結果と考えられる。移植腫瘍を用いた抗癌剤の感受性試験において、その厳密な評価を求めた場合、特に注意を要する問題点として捉えられる。

以上の各所見は、親株MN-1がheterogeneityを有し、分化度の異なる細胞集団が混在していることを反映していると考えられた。また、親株MN-1の細胞集団としての性質は、比較的分化度の低い(亜株Bに代表される)成分によって規定されている可能性が高いと思われた。MN-1および亜株A, B細胞は、1) 形態学的観察においてN/C比が大きく、核の大小不同、不整を認め、複数の各小体を有する悪性細胞像を呈する。2) 染色体分析において染色体の異数性、核型の構造異常を認める。3) 異種移植能があり、その組織像はPAS染色陽性顆粒を有する粘液性嚢胞腺癌で原腫瘍を反映している。4) *in vitro*における安定した継代能を有している。の、以上4点において腫瘍細胞としての特徴を満たしていると考えられた。

以上より、われわれは卵巢粘液性嚢胞腺癌株MN-1を樹立し、この親株よりそれぞれ異なる形態、性質を有する亜株A, B細胞を分離し、MN-1が複数の細胞クローンによって構成されていることを証明した。クローニング操作を経ずに樹立されたと報告されている他の多くの卵巢癌株細胞も、このように複数の

クローンによって構成されていると予想される。本株細胞系は、クローン細胞間での相違に由来すると思われる薬剤耐性機構、転移機構などにおいて、腫瘍組織を構成する各細胞クローンが、互いにどのように関連し作用しあうかを解明するうえでの有用なモデルになると考える。

Summary

Human ovarian mucinous cystadenocarcinoma cell line (MN-1) was established and then cultured 113 times during a period of about 20 months. Furthermore by single cell cloning of the MN-1 cell line, two different morphological and cytological cell lines (MN-1 A, MN-1 B) have been established. MN-1 cells were found to form a jig-saw puzzle, pavement-like pattern showing no contact inhibition. It was observed that the cells had variable shapes; especially conspicuous among these were a small round type and an elongated spindle type. The population doubling time of MN-1 cells was about 29.4 hours at the 47th passage of culture. Karyotype analysis of the MN-1 cells showed that the number of chromosomes was hypertetraploidic: the modal number being 102. Following heterotransplantation of MN-1 cells into BALB/C nude mice, the tumor developed and came to have cystic and solid components, which were similar to those of the original tumor.

MN-1 A cells showed a pavement-like pattern, with individual cells being small and round in shape. Their doubling time was about 40.0 hours at the 22nd passage of culture. According to our analysis, a hypotriploid tendency was observed in the chromosomal number. MN-1 B cells, on the other hand, had an elongated spindle shape, showing a jig-saw puzzle pattern. Their doubling time was about 32.0 hours at the 9th passage of culture, and the number of chromosomes showed a hypertetraploid tendency. After MN-1 A and MN-1 B cells had been separately transplanted into nude mice, the MN-1 B cell tumor was observed to develop more rapidly than that of the MN-1 A cells. The tumor figure for the MN-1 A consisted mainly of cystic components, which were similar to well differentiated mucinous cystadenocarcinoma. On the other hand, the tumor figure for the MN-1 B line was

composed of solid parts analogous to poorly differentiated mucinous cystadenocarcinoma.

We have now established a human ovarian mucinous cystadenocarcinoma cell line (MN-1), and separated two distinct morphological cytological cell lines, i.e., MN-1 A and MN-1 B. As a result, it has been demonstrated that MN-1 is made up of more than one clone.

文 献

- 1) 培養細胞株の紹介: Human cell, 1(3): 333~353, 1988.
- 2) 培養細胞株の紹介: Human cell, 1(4): 442~447, 1988.
- 3) 培養細胞株の紹介: Human cell, 2(1): 86~87, 1989.
- 4) 早川 修, 津村典利, 小泉基生: ヒト卵巣ムチン性嚢胞腺癌細胞株 (OMC-1) の樹立とその性状, 札幌医誌, 55: 153~160, 1986.
- 5) 木寺義郎, 吉村隆宏, 大隅良成・他: ヒト卵巣ムチン性嚢胞腺癌由来培養株 MCAS の樹立とその性状, 日産婦誌, 37: 89~98, 1985.
- 6) 野澤志郎, 中沢桂子, 酒依元子・他: 新たに樹立した卵巣癌株 (RMUG) の性状, Human cell, 1: 342~343, 1988.
- 7) 宇田川康博, 野澤志郎, 陳 啓子・他: hCG 産生性上皮性卵巣癌株 (RTSG) の樹立とその細胞特性, Human cell, 3: 70~75, 1990.
- 8) 山田隆司, 植田政嗣: CA19-9産生能を有するヒト卵巣ムチン性嚢胞腺癌細胞株 (OMC-3) およびヒト子宮頸部腺癌細胞株 (OMC-4) の樹立とその性状, 日産婦誌, 39: s~306, 1987.
- 9) 葉師寺道明, 清塚康彦: 卵巣粘液性腺癌の化学療法—その現況と展望—, Oncology and Chemotherapy, 8: 57~62, 1992.
- 10) Malkashian, G.D., Melton, L.J., O'Brien, P.C., et al.: Prognostic significance of histologic classification and grading of epithelial malignancies of the ovary, Am. J. Obstet. Gynecol., 149: 274~284, 1984.
- 11) Alley, M.C., Scudiero, D.A., Monks, A., et al.: Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay, Cancer Res., 48: 589~601, 1988.
- 12) 清塚康彦, 今井俊介, 野田恒夫・他: CA-125 および TPA 産生性卵巣漿液性嚢胞腺癌培養株の樹立とその性状, 日臨細胞誌, 27: 926~935, 1988.