<短 報>

新しいウッドチャック肝癌細胞株の樹立

大西 真^{*1} 青山 弘^{*2} 志賀 淳治^{*2} 板井 悠二^{*3}
 森山 貴志^{*1} 石川 隆^{*1} 佐々木伸雄^{*4} 山本 孝史^{*5}
 輿水 馨^{*5} 金子 周一^{*6} 村上 清史^{*7} 服部 信^{*6}
 井廻 道夫^{*1}

緒言：ウッドチャック肝細胞癌培養株としては、ヌードマウスへ移植した腫瘍を介して Unoura らが樹立した WH257GE10 が知られているが¹⁾、もとの肝癌組織から直接培養株を樹立した報告はない。

今回著者らは、手術により摘出したウッドチャック肝癌組織より、直接肝癌培養株を樹立することに成功したので報告する。

方法：ウッドチャックは、Hazleton Dutchland (Denver, U.S.A.) より購入した体重4,700gのWHVキャリアーの雄を使用した。既報のごとく²⁾、腹部エコーにて定期観察中、肝右葉に径1cmのhyperechoic な space occupying lesion が出現。49日後には径2.2

cm となった為、肝右葉切除術を施行した。肝癌組織をハサミで細切し、0.1%collagenase (Type IV, Sigma) にて37℃30分間処理後、10%FCS 添加 HAM-F12培地 (GIBCO) にて、37℃ 5 %CO₂存在下で培養した。週1回培養液を交換した。

樹立した細胞株の染色体分析、肝酵素活性の測定、アルブミン及びWHsAgの産生の有無、WHV-DNA integrationの有無は、既報に準じて¹⁾、検討した。

結果：切除したウッドチャック肝癌は、主腫瘍の径が2.2cmで、小さな腫瘍を伴っていた。被包を伴わな

Fig. 1 Phase-contrast micrograph of the established cell line, T3-HEP-W1 (×250).

Fig. 2 WHV DNA in the cell line. DNA samples were applied onto a gel without digestion (lane 1) or after digestion with PvuII (lane 2), with HindIII (lane 3), or with EcoRI (lane 4). Molecular markers are shown on the right (Kb; kilobase).

^{*1} 東京大学医学部第3内科
^{*2} 東京大学医学部病理学教室
^{*3} 東京大学医学部放射線科
^{*4} 東京大学農学部家畜外科
^{*5} 東京大学医学部動物実験施設
^{*6} 金沢大学第1内科
^{*7} 金沢大学がん研究所生物物理部

い白色の結節型肝細胞癌で、非癌部は慢性非活動性肝炎の像を呈した。肝癌の組織像は、高分化型の索状型肝細胞癌であった。

培養開始2カ月後には、fibroblastが脱落しはじめ、培養3カ月後には、ほぼ均一な上皮様細胞を得、安定した増殖を示し、T3-HEP-W1と名付けた(Fig. 1)。

T3-HEP-W1は単層を形成し、数石状に配列し、核が大きく核小体を目立つ。又、細胞質には微細な顆粒や空胞を認めた。染色体数は、約100本前後にピークを認めた。細胞増殖の倍加時間は約24時間であった。肝のミトコンドリアに豊富に存在する酵素である、OAT (ornithine aminotransferase) 及び、TAT (tyrosine aminotransferase) は、それぞれ6.48 (n moles/min/mg) 及び0.598 (n moles/min/mg) と高い活性を示した(徳島大学医学部酵素研、木南英紀氏測定)。アルブミンやWHsAgの産生は認められなかった。

WHV-DNA integrationは認められた(Fig. 2)。HindIII 及びEcoRIによるdigestionでは、少なくとも5本のbandを認め、PvuII digested laneでは、3本のbandを認め、内1本は1.6kb付近に認めた。これら

の結果は、T3-HEP-W1では、少なくとも3カ所にWHV genomeの組み込みがあり、かつ再編成を伴ったgenomeが組み込まれていると考えられる。

考察：今回著者らが樹立した新しいウッドチャック肝癌細胞株T3-HEP-W1は、ヌードマウスへの移植を介さずに直接もとの肝癌組織から樹立した点に大きな特徴がある。WH257GE10と比較して、形態学的にも肝細胞に近く、染色体数も100本と多く、肝酵素活性も高い。培養株の樹立が成功した大きな要因は、腹部エコーにて腫瘍径が小さい時点で、生きの良い肝癌組織が得られた点があげられる。

T3-HEP-W1は、B型肝炎ウイルス関連の肝癌の研究に、きわめて有用な細胞株と考えられる。

本研究の一部は、文部省科学研究費(No. 59015023, No. 60480254) によった。

索引用語：ウッドチャック肝癌, T3-HEP-W1

文 献：1) Unoura M, et al: Hepatology 5:1106-1111, 1985 2) 志賀淳治, 他: 肝臓 26:1420, 1985

Establishment of a new cell line from a woodchuck hepatocellular carcinoma

Shin OHNISHI^{*1}, Hiromu AOYAMA^{*2}, Junji SHIGA^{*2}, Yuji ITAI^{*3}, Takashi MORIYAMA^{*1},
Takashi ISHIKAWA^{*1}, Nobuo SASAKI^{*4}, Koshi YAMAMOTO^{*5}, Kaoru KOSHIMIZU^{*5},
Shuichi KANEKO^{*6}, Seishi MURAKAMI^{*7}, Nobu HATTORI^{*6}
and Michio IMAWARI^{*1}

^{*1} The Third Department of Internal Medicine, University of Tokyo (Tokyo)

^{*2} Department of Pathology, University of Tokyo (Tokyo)

^{*3} Department of Radiology, University of Tokyo (Tokyo)

^{*4} Department of Veterinary Surgery, Faculty of Agriculture, University of Tokyo (Tokyo)

^{*5} Division of Animal Research, Faculty of Medicine, University of Tokyo (Tokyo)

^{*6} The First Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University (Kanazawa)

^{*7} Division of Biophysics Cancer Research Institute, School of Medicine, Kanazawa University (Kanazawa)