

## ヒト甲状腺髄様癌細胞株に対する分化誘導の試み

保田健太郎

分化度の異なる2種類のヒト甲状腺髄様癌細胞株 (TT細胞株およびHMCa細胞株) を用い、cholera toxin, TPA, dexamethasone 投与および254 nmの紫外線照射を行い、その形態、増殖能、ホルモン分泌能を指標として分化誘導を試みた。

その結果、低分化型髄様癌細胞株 (HMCa細胞株) に対する紫外線照射のみが分化誘導効果を示した。 (平成元年2月25日採用)

### Induction of Cytodifferentiation of Human Medullary Carcinoma Cell Lines by Various Compounds and Ultraviolet Radiation

Kentaro Yasuda

The induced effect of cholera toxin, 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate (TPA) and dexamethasone as well as ultraviolet radiation on cultures of highly differentiated type (TT cells) and poorly differentiated type (HMCa cells) human medullary carcinomas was investigated.

Induction of cytodifferentiation was determined by observation of morphological changes and by increases in cell proliferation and the ability to release hormones.

The results showed that an induction effect occurred only in HMCa cells following ultraviolet radiation. (Accepted on February 25, 1989) *Kawasaki Igakkaishi* 15(3): 405-414, 1989

**Key Words** ① **Cytodifferentiation** ② **Human medullary carcinoma**  
③ **TT cells** ④ **HMCa cells** ⑤ **Ultraviolet**

#### はじめに

近年の癌治療の進歩は、目をみはらせるものがあるが、現在なお癌はわが国における死因の第1位を占めている。癌治療の根本方針は、どのような方法であれ生体内の癌細胞を除去あるいは死滅させることである。しかし、癌細胞の悪性を減弱させ、可能な限り正常細胞に近い状態に戻すこともまた一つの方法であらう。

最近、白血病細胞や、ある種の癌細胞は生理活性物質や免疫賦活剤、抗癌剤などにより正常細胞に類似の細胞に分化することが明らかにされた。<sup>1)~5)</sup>

本論文は、その基礎的研究の一環として分化度の異なる二種類のヒト甲状腺髄様癌細胞株に対して、薬剤投与や紫外線照射を行い、その形態、増殖能およびホルモン分泌能を指標として癌細胞の分化誘導を試みたので報告する。

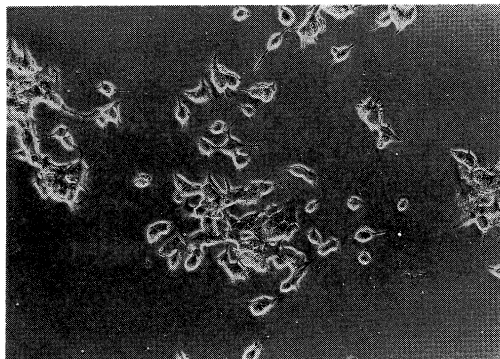
### 実験材料

甲状腺髄様癌患者より樹立された TT 細胞<sup>6)</sup> と HMCa 細胞<sup>7)</sup> を, RPMI 1640 (Sigma Co.) に 10% heat-inactivated fetal bovine serum (Hyclone Lab.), 100 unit/ml penicillin, 100  $\mu$ g/ml streptomycin (Sigma Co.) を添加した培養液を用い, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 95% air (Bio Labo 5200) 条件下で培養した. 実験に先立ち TT 細胞は, コロニー形成法にて, HMCa 細胞は, 96 wells micro plate (Corning Co.) を使用した限界希釈法にてクローニングを行った. 培養液は TT 細胞では週 2 回, HMCa 細胞では週 3 回交換した. また細胞数算定は, 0.4% trypan blue を用いた色素排除法により血球計算盤下で算定した. なお TT 細胞の calcitonin 分泌能は 22000 pg/ml/1.5  $\times$  10<sup>6</sup> cells/5 ml/48 hours, CEA 分泌能は 100 ng/ml/1.5  $\times$  10<sup>6</sup> cells/5 ml/48 hours, HMCa 細胞の calcitonin 分泌能は 60 pg/ml/2.6  $\times$  10<sup>6</sup> cells/5 ml/48 hours, CEA 分泌能は 0.5 ng/ml 未満/2.6  $\times$  10<sup>6</sup> cells/5 ml/48 hours である.

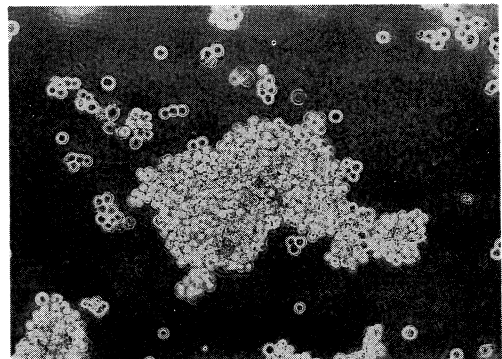
### 実験方法

#### a. 形態学的検討

培養中の形態学的検討は位相差顕微鏡を用いて行った (Fig. 1).



(a)



(b)

Fig. 1. Phase-contrast photomicrograph of TT cells (a) and HMCa cells (b) in culture ( $\times$ 250)

- (a) Morphological characteristics are fusiform in shape and grow to high density.  
 (b) Morphological characteristics are round in shape and grow in suspension.

また, 超微形態学的検討は, 以下のごとく行った.

TT 細胞は, 4°C 2.5% glutaraldehyde (GA) 0.1 M pH 7.4 sodium phosphate buffer (SPB) で 30 分間前固定後, 4°C 1% OsO<sub>4</sub> SPB で 1 時間後固定し, 通常の方法<sup>8)</sup> を用い透過型電子顕微鏡 (JEOL-1200 EX) にて観察を行った. HMCa 細胞は, 4°C 2.5% GA 0.1 M pH 7.4 SPB 中に 5 分間浮遊させた後, Cytopsin (Shandon Co.) にてアルブミンスライド (albumin-coated slides) に付着させ, 再度 30 分間 4°C 2.5% GA 固定液で前固定した後, TT 細胞と同様の方法にて後固定を行い観察した (Fig. 2).

#### b. 免疫組織化学的検討

TT 細胞は, 培養液を除去した後, 4°C 0.01 M pH 7.2 phosphate-buffered saline (PBS) で数回洗浄し, 4°C 4% periodate-lysine-paraformaldehyde SPB (PLP) で 30 分間固定した. そして酵素抗体法 (間接法)<sup>9)</sup> にて calcitonin および carcinoembryonic antigen (CEA) (Dako Co.) を染色した. HMCa 細胞は, 培養液を除去した後, 4°C の PBS で数回洗浄し, 4°C の PLP 固定液中に 5 分間浮遊させた後, Cytospin (Shandon Co.) にてアルブミンスライドに付着させた. そして再度 30 分間 4°C の PLP 固定液で固定した後, TT 細胞と同様の方法にて染色を行った.

c. ホルモン分泌能の検討

両細胞の細胞数を調整した後、各実験を行い、経時的に細胞数を算定しつつ48時間および96時間後の培養液中に分泌された calcitonin, CEA をRIA 法にて測定した。

分化誘導を惹起させるための操作並びにその効果の指標は、以下のごとくである。

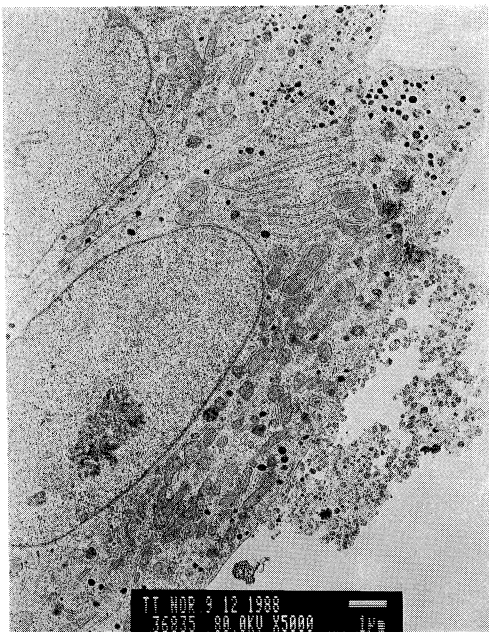
1) cholera toxin 投与による形態、増殖能およびホルモン分泌能の変化；cholera toxin を 1, 10, 100 ng/ml となるよう培養液中に添加し、経時的に細胞数を算定、48時間および96時間後の培養液中の各ホルモンの定量と両細胞の形態学的検討を行った。

2) TPA 投与による形態、増殖能およびホルモン分泌能の変化；12-0-tetradecanoyl phorbol 13-acetate (TPA) を 0.6, 6, 60 ng/ml ( $10^{-9}$ ~ $10^{-7}$ M) となるよう培養液中に添加し、

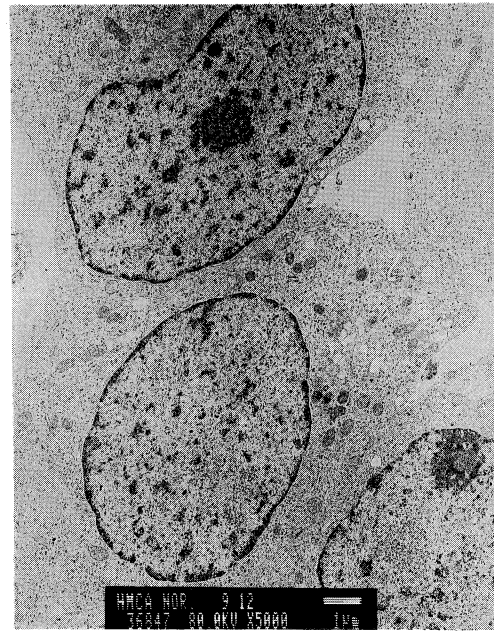
経時的に細胞数を算定、48時間および96時間後の培養液中の各ホルモンの定量と両細胞の形態学的検討を行った。

3) dexamethasone 投与による形態、増殖能およびホルモン分泌能の変化；dexamethasone を 39, 390 ng/ml ( $10^{-7}$ ~ $10^{-6}$ M) となるよう培養液中に添加し、経時的に細胞数を算定、48時間および96時間後の培養液中の各ホルモンの定量と両細胞の形態学的検討を行った。

4) 紫外線 (254 nm) 照射による、形態、増殖能およびホルモン分泌能の変化；0.25% trypsin 0.02% EDTA 溶液 (Sigma Co.) にて遊離させた TT 細胞と HMCa 細胞を PBS 中に浮遊させ、0.5, 1, 2.5, 10 および 30 J/m<sup>2</sup> の紫外線 (254 nm GL-15 東芝製) を照射した。直ちに両細胞を培養液中に戻し、経時的



(a)



(b)

Fig. 2. Electron micrograph of TT cells (a) and HMCa cells (b). Uranyl and lead stain ( $\times 5000$ ).

- (a) Well developed cytoplasmic organelles and abundant secretory granules are observed.
- (b) Poorly developed cytoplasmic organelles and few small secretory granules are observed.

に細胞数を算定し、培養液中の各ホルモンの定量と両細胞の形態学的検討を行った。

## 結 果

### a. 形態の変化

cholera toxin, TPA および dexamethasone 各濃度の投与では、両細胞とも、形態の変化は認められなかった。紫外線照射では、TT 細胞の形態の変化は、0.5, 1, 2.5, 5, 10 および 30 J/m<sup>2</sup> において認められなかった。HMCa 細胞の形態の変化は、0.5, 1 および 2.5 J/m<sup>2</sup> 照射において認められなかったが、5 J/m<sup>2</sup> 照射では、照射後 96 時間頃より球状の浮遊細胞から樹枝状突起を有する付着細胞へと変化した細胞の出現が認められた。電子顕微鏡による観察では、核内のヘテロクロマチンの含有量の低下と細胞質内小器官の成熟傾向および少数ながら分泌顆粒の出現も認められた (Fig. 3)。10 および 30 J/m<sup>2</sup> 照射では、ほとんどの細胞が死滅した。

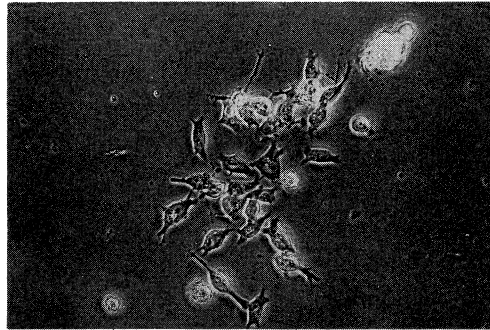
### b. 増殖能の変化

細胞数の変化は、cholera toxin 1ng/ml 投与 48 時間後では、TT 細胞は  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml), HMCa 細胞は  $2.6 \times 10^6$  cells (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) と増殖能の変化は認められなかった。cholera toxin 10 ng/ml 投与 48 時間後では、TT 細胞は  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml) で、増殖能の変化は認められなかったが、HMCa 細胞は、 $3 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) と 15% の上昇が認められた。100 ng/ml 投与では両細胞とも死滅した。

TPA 0.6 ng/ml 投与 48 時間後では、TT 細胞は  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml), HMCa 細胞は  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) と増殖能の変化は認められなかった。TPA 6 ng/ml 投与 48 時間後では、TT 細胞は  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml) と増殖能の変化は認められなかったが、HMCa 細胞は  $1.6 \times 10^6$

cells/5 ml (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) と 40% 前後の低下が認められた。60 ng/ml 投与では、両細胞とも死滅した。

dexamethasone 39 ng/ml 投与 48 時間後では、TT 細胞は  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml (control



(a)



(b)

**Fig. 3.** Morphological change at 96 hours after ultraviolet radiation (5 J/m<sup>2</sup>) on HMCa cells

- (a) Phase-contrast micrograph: Suspension cell changes to adherent cell with dendrites in culture ( $\times 250$ ).  
 (b) Electron micrograph: A few of small secretory granules are observed (arrows) (Uranyl and lead stain,  $\times 5000$ )

$1.5 \times 10^6$  cells/5 ml), HMCa 細胞は  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) と増殖能の変化は認められなかった。

dexamethasone 390 ng/ml 投与 48 時間後では, TT 細胞は  $1.5 \times 10^6$  cells/5ml (control  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml), HMCa 細胞は  $2.7 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) と増殖能の変化は認められなかった (Figs. 4, 5).

紫外線 0.5, 1, 2.5, 5 (Fig. 4) および  $10 \text{ J/m}^2$  照射では, TT 細胞は  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml 前後 (control  $1.5 \times 10^6$  cells/5 ml) と差は認められなかった。  $30 \text{ J/m}^2$  照射では,  $0.9 \sim 1.3 \times 10^6$  cells/5 ml と  $14 \sim 36\%$  低下した。 HMCa 細胞は,  $1 \text{ J/m}^2$  照射では  $1.6 \sim 2.2 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) と  $15 \sim 38\%$ ,  $2.5 \text{ J/m}^2$  照射では  $0.8 \sim$

$1.3 \times 10^6$  cells/5 ml (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) と  $50 \sim 70\%$ ,  $5 \text{ J/m}^2$  照射では  $4.9 \sim 7.5 \times 10^5$  cells/5 ml (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) (Fig. 5) と  $71 \sim 81\%$ ,  $10 \text{ J/m}^2$  照射では  $4.9 \sim 7.5 \times 10^5$  cells/5 ml (control  $2.6 \times 10^6$  cells/5 ml) と  $77 \sim 86\%$  低下し,  $30 \text{ J/m}^2$  照射ではほとんどの細胞が死滅した。

c. ホルモン分泌能の変化

cholera toxin 1 ng/ml 投与では, TT 細胞の calcitonin 分泌は, 48 時間後が  $21000 \text{ pg/ml}$  (control  $22000 \text{ pg/ml}$ ) と  $5\%$ , 96 時間後は  $15000 \text{ pg/ml}$  (control  $26000 \text{ pg/ml}$ ) と  $42\%$  低下した。 CEA 分泌は差が認められなかった。 HMCa 細胞の calcitonin および CEA 分泌は差が認められなかった。 cholera toxin 10 ng/ml 投与では, TT 細胞の calcitonin 分泌は 48 時間後が  $20000 \text{ pg/ml}$  (control  $22000$

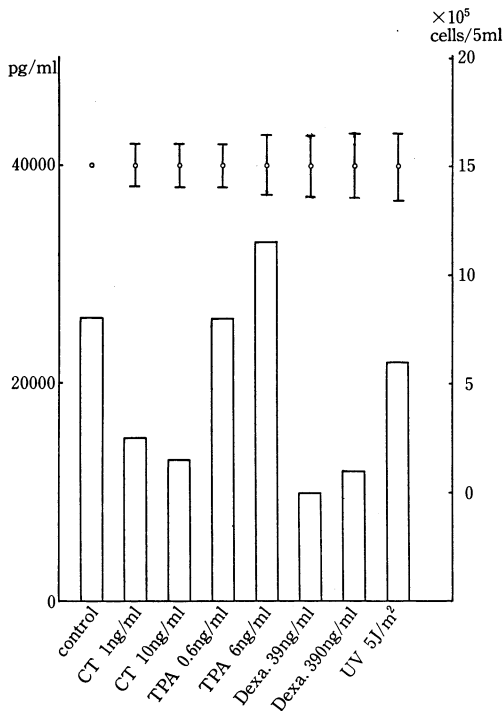


Fig. 4. The effect of cholera toxin (CT), TPA, dexamethasone and UV radiation on TT cells on calcitonin release into the medium for 96 hours.

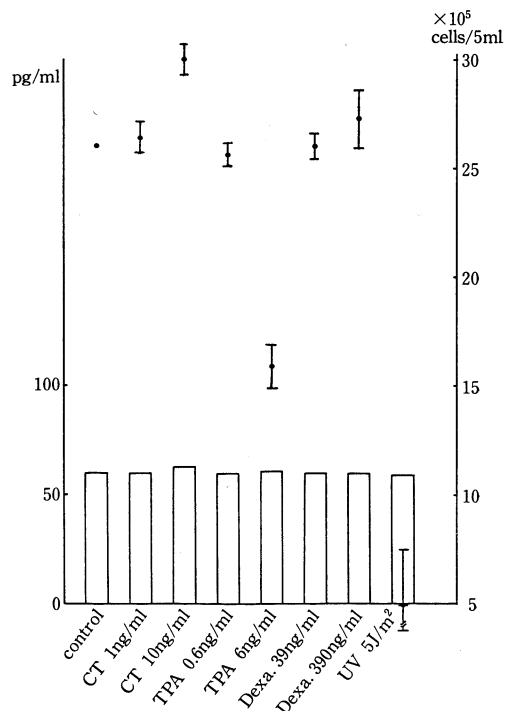


Fig. 5. The effect of cholera toxin (CT), TPA, dexamethasone and UV radiation on HMCa cells on calcitonin release into the medium for 96 hours.

pg/ml)と9%, 96時間後は13000 pg/ml(control 26000 pg/ml)と50%低下した。しかし HMCa 細胞の calcitonin 分泌は、48時間後 60~63 pg/ml(control 60 pg/ml)と差は認められなかった。CEA 分泌は両細胞とも差は認められなかった。cholera toxin 100 ng/ml 投与では、両細胞とも calcitonin および CEA 分泌はほとんど認められなかった。

TPA 0.6 ng/ml 投与では、両細胞の calcitonin 分泌は、control に比べ差が認められなかった。しかし TPA 6 ng/ml 投与では、TT 細胞の calcitonin 分泌が、48時間後は 24000 pg/ml (control 22000 pg/ml)と9%, 96時間後は 33000 pg/ml (control 26000 pg/ml)と50%上昇した。HMCa 細胞は、細胞数が  $3.1 \times 10^5$  cells (control  $5.1 \times 10^5$  cells)と40%低下したが、calcitonin 濃度は 61 pg/ml (control 60 pg/ml)と変化が認められなかった。CEA 分泌は両細胞とも差は認められなかった。TPA 60 ng/ml 投与では、両細胞とも calcitonin および CEA 分泌はほとんど認められなかった。

dexamethasone 39 ng/ml 投与では、TT 細胞の calcitonin 分泌は、48時間後が 20000 pg/ml (control 22000 pg/ml)と9%, 96時間後には 10000 pg/ml (control 260000 pg/ml)と55%低下した。CEA 分泌は差が認められなかった。HMCa 細胞の calcitonin および CEA 分泌は 48, 96時間とも、すべて差は認められなかった。dexamethasone 390 ng/ml 投与では、TT 細胞の calcitonin 分泌は、48時間後は 25000 pg/ml (control 22000 pg/ml)と14%増加したが、96時間後は 12000 pg/ml (control 26000 pg/ml)と45%低下した。CEA 分泌は差は認められなかった。HMCa 細胞は、48, 96時間とも calcitonin, CEA 分泌に差は認められなかった。

紫外線 0.5, 1 J/m<sup>2</sup> 照射では、TT 細胞の calcitonin および CEA 分泌は、48, 96時間とも control と比べて差は認められなかった。HMCa 細胞の calcitonin 分泌は、細胞数の減少にともない低下した。CEA 分泌は、差が

認められなかった。紫外線 5 J/m<sup>2</sup> 照射では、TT 細胞の calcitonin 分泌は、96時間後 22000 pg/ml (control 26000 pg/ml)と15%低下した。CEA 分泌は 96時間後 94 pg/ml (control 114 pg/ml)と18%低下した。HMCa 細胞の calcitonin 分泌は、96時間後、細胞数が  $2.9 \times 10^5$  cells/5 ml (control  $8.1 \times 10^5$  cells/5 ml)と65%低下しているにもかかわらず、59 pg/mlと変化なく、その後細胞数を control と同数にして48時間培養すると、110 pg/mlと control に比べ83%上昇した。また免疫組織化学的検討でも、control ではほとんど認められなかった calcitonin が、形態の変化した細胞では、明らかに認められた。しかし、CEA は認められなかった。また CEA 分泌にも差は認められなかった。紫外線 10 J/m<sup>2</sup> 照射では、TT 細胞の calcitonin 分泌は、96時間後、control に比べて44%低下した。HMCa 細胞では、細胞数が95%低下したにもかかわらず、calcitonin 分泌は 48 pg/mlと31%の低下にとどまった。両細胞とも CEA 分泌に差は認められなかった。紫外線 30 J/m<sup>2</sup> 照射では、両細胞とも calcitonin および CEA 分泌はほとんど認められなかった。

## 考 察

甲状腺髄様癌は、旁濾胞細胞より発生し、calcitonin, somatostatin, ACTH などの peptide hormone や、CEA, neuron-specific enolase (NSE) などの腫瘍蛋白を産生する。<sup>10)</sup> その頻度は甲状腺悪性腫瘍中、本邦では1.7%と比較的まれな疾患である。<sup>11)</sup> 悪性度は症例によりかなりの差があるが、摘出術以外の治療に対しては抵抗性が強い。

本実験に使用したヒト甲状腺髄様癌細胞株は、1983年に Leong らにより樹立された TT 細胞<sup>6)</sup>と、1987年に Nakamura らにより樹立された HMCa 細胞<sup>7)</sup>である。

TT 細胞は、樹枝状突起を有する付着細胞の形態をとり、calcitonin, somatostatin および CEA を産生し、細胞質内に多数の分泌顆粒を

認め、doubling time は 83 時間と比較的長い、分化度の高い細胞である。HMCa 細胞は、球状の浮遊細胞の形態をとり、calcitonin, somatostatin および CEA をほとんど産生せず、細胞質内にほとんど分泌顆粒を認めず、doubling time は 48 時間と比較的短い、分化度の低い細胞である。

分化誘導の実験は、白血病、神経芽細胞腫、奇形腫、黒色腫、乳癌、大腸癌および扁平上皮癌などの細胞で行われている。<sup>11-6)</sup> 広く知られているのは Ichikawa の骨髄性白血病由来の M1 細胞が、マウス胎仔細胞の培養液中に含まれる分化誘導因子によりマクロファージおよび顆粒球様細胞に分化するという報告<sup>12)</sup> と、Friend の Friend 白血病細胞が dimethylsulfoxide (DMSO) によりヘモグロビン合成能を有する赤血球様細胞に分化するという報告<sup>13)</sup> である。分化誘導の実験に際し、まず問題となるのは、何を以て細胞の分化誘導を行うかということである。現在までに、分化誘導効果を有すると報告されている物質は、タンパク質、脂質、グルココルチコイドホルモン、ビタミン、プロスタグランジン、核酸、免疫賦活剤、極性化合物、抗生剤および抗癌剤<sup>14)-24)</sup> など数多くある。今回の実験に用いた細胞の一つである TT 細胞では、de Bustros らが、cAMP と TPA を用いて実験を行っていて、増殖能の低下と calcitonin 分泌能の上昇、並びに calcitonin および calcitonin gene related peptide (CGRP) mRNA の増大<sup>25), 26)</sup> を、また Cote らは dexamethasone を用いて、増殖能の低下と calcitonin mRNA の増大と CGRP mRNA の減少<sup>27), 28)</sup> を、また Nakagawa らは viral Harvey ras (v-Ha-ras) oncogene を用いて、増殖能の低下と calcitonin 分泌の上昇<sup>29)</sup> を報告している。しかしながら HMCa 細胞については、著者の知る限りでは、この種の実験は行われていない。<sup>7)</sup> 本実験では、cholera toxin, TPA, dexamethasone および紫外線照射を用いた。cholera toxin は、細胞のホルモン分泌に関与している C-AMP 濃度を上昇させる作用を有する。<sup>30)</sup> TPA は、細胞のホルモン

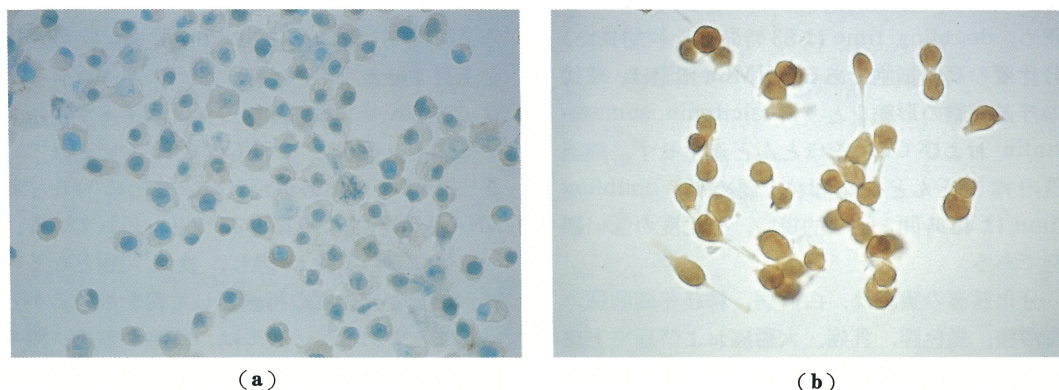
分泌に関与している protein kinase C の濃度を上昇させる作用を有する。<sup>31)</sup> グルココルチコイドホルモンは、細胞のステロイドホルモンレセプターを介して作用する<sup>32)</sup> といわれている。254 nm の紫外線照射は、核内に存在する DNA を選択的に障害する<sup>33)</sup> といわれている。

分化誘導の実験に際し、次に問題となるのは、細胞の分化度の指標として何を以てるかということである。一般には、細胞の形態、核や核内のクロマチンの形態および割合、細胞内小器官や顆粒の数および成熟度、増殖能、走化能や貪食能などが使用されている。<sup>11)-5)</sup> 本実験では分化度の指標として、形態と増殖能だけでなく、髄様癌細胞株の特色であるホルモン分泌能を使用した。

本実験においては、cholera toxin 投与では、TT 細胞の増殖能は変化せず、calcitonin の分泌は減少し、CEA の分泌は変わらなかった。HMCa 細胞の増殖能は軽度上昇したが、元来ほとんどホルモン分泌の認められない分泌能に関しての差は認められなかった。また形態の変化も、両細胞において認められなかった。よって CT 投与では、両細胞に対しての分化誘導効果はないと考えられる。TPA 投与では、TT 細胞の増殖能は変化せず、calcitonin の分泌は増加したが、CEA の分泌は変わらなかった。HMCa 細胞の増殖能は低下したが、calcitonin および CEA 分泌は差が認められなかった。形態の変化も両細胞において認められなかった。よって TPA 投与では、TT 細胞の calcitonin 分泌能を上昇させる働きがあるが、両細胞に対して、分化誘導効果はないと考えられる。

dexamethasone 投与では、TT 細胞の増殖能は変化せず、calcitonin 分泌は減少し、CEA 分泌は変わらなかった。HMCa 細胞の増殖能は変化せず、calcitonin および CEA 分泌は変わらなかった。形態の変化は両細胞において認められなかった。よって dexamethasone 投与では、両細胞において分化誘導効果はないと考えられる。

254 nm の紫外線照射では、TT 細胞の増殖



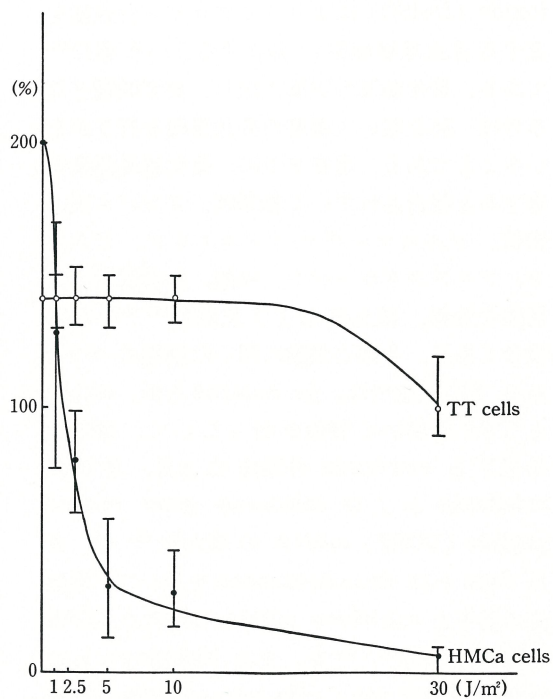
**Fig. 6.** Calcitonin immunoreactivity of HMCa cells, before UV radiation (a) and 96 hours after UV radiation (b)

(a) Not stained ( $\times 600$ )

(b) Stained as dark immunoreaction deposits in the cytoplasm (immunoperoxidase stain,  $\times 600$ )

能は変化せず, calcitonin および CEA 分泌は減少した. また形態の変化は認められなかった. HMCa 細胞の増殖能は低下したが, calcitonin 分泌能は微量ながら有意に上昇し, 細胞の形態は, 球状の浮遊細胞が, より高分化な TT 細胞のような樹枝状突起を有する付着細胞に変化し, 超微形態学的検討でも核内のヘテロクロマチンの含有量の低下や細胞質内小器官の成熟傾向, 少数ながら分泌顆粒の出現などが認められ, 分化誘導効果が生じたと考えられる.

Setlow らによると, ヒトの細胞に紫外線照射すると, DNA 鎖にピリミジンダイマーが生じ, それを認識して修復する機構が遺伝子に備わっている<sup>34), 35)</sup>といわれている. 本実験で用いた TT 細胞と HMCa 細胞は, 紫外線に対する感受性が著しく異なっている (**Fig. 6**). 分化度の高い TT 細胞には分化誘導効果は生じず, 分化度の低い HMCa 細胞に分化誘導効果が生じたことは注目し得る所見であり, 紫外線照射による分化誘導の機序に対する解明の糸口が存在する可能性が考えられる. 紫外線照射による calcitonin 分泌能の上昇が, DNA, m-RNA, peptide hormone の産生や分泌など, どのレベルにおいて生じているのか, またその効果が一時的か否か, 形態の変化がどのようにして生ずるのかなどの点に関しては, 今後の検討を待ちたい.



**Fig. 7.** Viability of TT cells and HMCa cells, 24 hours after UV radiation

## 結 語

高分化型 (TT 細胞) と低分化型 (HMCa 細胞) の 2 種類のヒト髄様癌細胞株を使用し, cholera toxin, TPA, dexamethasone 投与および 254 nm の紫外線照射を行い, その形態,



増殖能，ホルモン分泌能を指標として分化誘導を試みた。その結果，分化誘導効果を示したものは，低分化型髄様癌細胞株（HMCa 細胞）に対する紫外線  $5 \text{ J/m}^2$  照射のみであった。

稿を終えるにあたり，御指導，御校閲を賜った川崎医科大学甲状腺外科 原田種一教授に対し深甚なる謝意を捧げるとともに，直接御指導をいただいた東海大学病理学教室 渡辺慶一教授，覚道健一講師に深謝いたします。また研究に御協力いただいた同大学共利研細胞生物学教室の教室員に対し，感謝いたします。

## 文 献

- 1) 穂積本男：癌表現形質の可変性. 岩波講座現代生物科学 15巻. 杉村 隆, 山村雄一編：癌. 東京, 岩波書店. 1976, pp. 261—270
- 2) 井川洋二：癌細胞の分化. 癌の科学 1巻. 太田邦夫, 山本 正, 杉村 隆, 菅野晴夫編：癌の生物学. 東京, 南江堂. 1980, pp. 179—208
- 3) Hozumi, M.: A new approach to chemotherapy of myeloid leukemia cells by inducer of normal differentiation. *In* Cancer biology reviews, ed. by Marchalonis, J. J. and Hanna, M. G., 3rd ed. New York, Marcel Dekker. 1982, pp. 153—211
- 4) Hozumi, M.: Fundamentals of chemotherapy of myeloid leukemia by induction of leukemia cell differentiation. *In* Advances in cancer research, Vol. 34, ed. by Klen, G. and Weinhouse, S., New York, Academic Press. 1981, pp. 211—278
- 5) Mintz, B. and Fleischman, R. A.: Teracarcinomas and other neoplasms as developmental defects in gene expression. *In* Advances in cancer research, Vol. 34, ed. by Klein, G. and Weinhouse, S., New York, Academic Press. 1981, pp. 211—278
- 6) Leong, S. S., Horoszewicz, J. S., Shimaoka, K., Friedman, M., Kawinski, E., Song, M. J., Zeigel, R., Chu, T. M., Baylin, S. and Mirand, E. A.: A new cell line for study of human medullary thyroid carcinoma. *In* Advances in thyroid neoplasia 1981, ed. by Andreoli, M., Monaco, F. and Robbins, J., Rome, Italy Field Educational Italia. 1981, pp. 95—108
- 7) Nakamura, A., Kakudo, K. and Watanabe, K.: Establishment of a new thyroid medullary carcinoma cell line. *Virchows Arch.* [B] 53: 332—335, 1987
- 8) 星野宗光, 花市敬正：病理学領域における電顕応用. 日本病理学会編：病理技術マニュアル5. 東京, 医歯薬出版. 1985, pp. 47—82
- 9) 渡辺慶一, 中根一穂：酵素抗体法, 改訂版. 東京, 学際企画. 1985, pp. 37—120
- 10) Kakudo, K., Carney, J. A. and Sizemore, G. W.: Medullary carcinoma of thyroid. *Cancer* 55: 2818—2821, 1985
- 11) 覚道健一：甲状腺髄様癌. 病理と臨 6: 35—41, 1988
- 12) Ichikawa, Y.: Differentiation of a cell line of myeloid leukemia. *J. cell. Physiol.* 74: 223—234, 1969
- 13) Friend, C., Scher, J. G. and Holland, J. G.: Hemoglobin synthesis in murine virus induced leukemic cells in vitro: Stimulation of erythroid differentiation by dimethyl sulfoxide. *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 68: 378—382, 1971
- 14) Hozumi, M., Takenaga, K., Tomida, M. and Okabe, J.: Role of leucocyte in ascites in the production of factor (s) stimulating differentiation of mouse myeloid leukemia cells. *Gann* 68: 643—652, 1977
- 15) Weiss, B. and Sachs, L.: Indirect induction of differentiation in myeloid leukemic cells by lipid A. *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 75: 1374—1378, 1978
- 16) Lotem, J. and Sachs, L.: Induction of specific changes in the surface membrane of myeloid leukemic cells by steroid hormones. *Int. J. Cancer* 15: 731—740, 1975
- 17) Honma, Y., Kasukabe, T., Okabe, J. and Hozumi, M.: Glucocorticoid-induced differentiation

- of cultured mouse myeloid leukemia cells. *Gann* 68 : 241—246, 1977
- 18) Honma, Y., Kasukabe, T. and Hozumi, M.: Structure requirements and affinity of steroids to bind with receptor for induction of differentiation of cultured mouse myeloid leukemia cells. *Gann* 68 : 405—412, 1977
  - 19) Abe, E., Miyaura, C., Sakagami, H., Takeda, M., Konno, K., Yamazaki, T., Yoshida, S. and Suda, S.: Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by  $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$ . *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 78 : 4990—4994, 1981
  - 20) Miyaura, C., Abe, E., Kuribayashi, T., Tanaka, H., Konno, K., Nishi, Y. and Suda, T.:  $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$  induces differentiation of human myeloid leukemia cells. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 102 : 937—943, 1981
  - 21) Tomida, M., Yamamoto, Y. and Hozumi, M.: Induction by synthetic polyribonucleotide poly (I) of differentiation of cultured mouse myeloid leukemic cells. *Cell Differ.* 7 : 305, 1978
  - 22) Nakayasu, M., Terada, M., Tamura, G. and Sugiura, T.: Induction of differentiation of human and murine myeloid leukemia cells in culture by tunicamycin. *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 77 : 409—413, 1980
  - 23) Maeda, M., Ichikawa, Y. and Azuma, I.: Differentiation and production of colonystimulating factor induced by immunostimulants in a leukemia cell line. *J. cell. Physiol.* 105 : 33—38, 1980
  - 24) 粕壁隆史, 穂積本男: In vitro における発癌プロモーターの諸種細胞生物学的作用. *変異原と毒性* 4 : 31, 1981
  - 25) de Bustros, A., Baylin, S. B., Berger, C. L., Roos, B. A., Leong, S. S. and Nelkin, B. D.: Phorbol esters increase calcitonin gene transcription and decrease c-myc mRNA levels in cultured human medullary thyroid carcinoma. *J. biol. Chem.* 260 : 98—104, 1985
  - 26) de Bustros, A., Baylin, S. B., Levine, M. A. and Nelkin, B. D.: Cyclic AMP and phorbol esters separately induce growth inhibition, calcitonin secretion, and calcitonin gene transcription in cultured human medullary thyroid carcinoma. *J. biol. Chem.* 261 : 8036—8041, 1986
  - 27) Cote, G. J., Palmer, W. N., Leonhart, K., Leong, S. S. and Gagel, R. F.: The regulation of somatostatin production in human medullary thyroid carcinoma cells by dexamethasone. *J. biol. Chem.* 261 : 12930—12935, 1986
  - 28) Cote, G. J. and Gagel, R. F.: Dexamethasone differentially affects the levels of calcitonin and calcitonin gene-related peptide mRNAs expressed in a human medullary thyroid carcinoma cell line. *J. biol. Chem.* 261 : 15524—15528, 1986
  - 29) Nakagawa, T., Mabry, M., de Bustros, A., Ihle, J. N., Nelkin, B. D. and Baylin, S. B.: Introduction of v-Ha-ras oncogene induces differentiation of cultured human medullary thyroid carcinoma cells. *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 84 : 5923—5927, 1987
  - 30) 村山俊彦, 宇井理生: cAMP を介する機構. *代謝* 23 (臨時増刊号) : 271—276, 1986
  - 31) 貝淵弘三, 山下孝之, 高井義美: Cキナーゼと細胞増殖因子の作用機構. *代謝* 23 (臨時増刊号) : 303—314, 1986
  - 32) 佐藤文三, 中尾 誠: ステロイドホルモンレセプター機構. *代謝* 23 (臨時増刊号) : 343—348, 1986
  - 33) Setlow, R. B. and Setlow, J. K.: Evidence that ultraviolet-induced thymine dimers in DNA cause biological damage. *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 48 : 1250—1257, 1962
  - 34) Setlow, R. B. and Carrier, W. L.: The disappearance of thymine dimers from DNA. An error-correcting mechanism. *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 51 : 226—231, 1964
  - 35) Setlow, R. B., Regan, J. D., German, J. and Carrier, W. L.: Evidence that Xeroderma pigmentosum cells do not perform the first step in the repair of ultraviolet damage to their DNA. *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 64 : 1035—1041, 1969