

日本組織培養学会

昭和52年7月20日発行

会員通信

第32号

発行責任者

☆佐藤温重・梅田誠

☆☆加納永一

☆横浜市南区浦舟町 横浜市大・医学部

☆☆京都市東山区山科御陵 京都薬大

§ 幹事会議事録

1977年5月18日 於川崎医大

幹事会は、上記の日時場所に於いて開かれた。出席者は旧幹事、現幹事(継続)、新幹事、ビブリオグラフィー担当者、会員通信担当者、会計担当者、今期研究会世話人(木本哲夫)、次期(勝田甫)及び次々期研究会世話人(翠川修)の諸氏であった。

幹事会決定事項は下記の各項である。

(1) 次回研究会(今秋)について:

世話人 勝田 甫氏

日時 9月²⁵~~24~~日~²⁷~~26~~日 於 東大医科研

シンポジウムのテーマは、"Nutritional Requirement of Mammalian Cells in Tissue Culture"で行いたいとの御意見が勝田氏から表明された。

(2) 次々回研究会(来春)について:

世話人 翠川 修氏

日時 5月中旬頃 於京大医・病理 翠川氏から一言あいさつあり。

詳細については未定。

(3) 会員名簿の作成

本年度は名簿改訂の年(隔年)にあたる。西部の幹事でこれを行うことに決定。実施詳細は追って各会員に通知致します。

(4) ビブリオグラフィーの件

引き続き当分の間、乾氏と難波氏にこれを担当して頂く事になった。会員各位からは、自分が著者に含まれている論文等のうち、培養に関係のあるものについて、その表題、著者名、所属、雑誌名、号巻頁、及びアブストラクトを英文タイプで難波氏あて郵送して載くようお願いします。雑誌は国内、国外のもので、仕事は日本で行われたものに限ります。

(5) 新入会員の受付

当学会入会申請者について、その所定の書類を調査し総会で御承認願うよう送付致しました。新入会員の氏名所属は総会議事の欄をお読み下さい。

(6) 幹事長の交代

難波氏の任期満了に伴い加納が本年度幹事長に補せられました。

§ 総会議事録

1977年5月19日(議事進行, 加納)

下記の各議案を御承認願いました。

(1) 新入会員

別紙参照

(2) 次回, 次々回の研究会の予定とその世話人

次回 1977年9月²⁶~~27~~ ~ ²⁷~~28~~日 東大医科研 勝田甫氏

" Nutritional Requirement of Mammalian Cells in
Tissue Culture "

次々回, 1978年5月中旬 京大・医・病理 翠川修氏

(3) 会員名簿の改訂

現在の名簿記載事項に変更のある方, および, そのような人に依頼されたり気付かれたりされた方は, 会員名簿に載せられた番式に従って, 新しい記載事項を加納まで郵送して下さい。締め切り期限は1977年10月31日と致します。

(4) ビブリオグラフィについて

従来どおり原稿を集めます。送り先は難波氏へ。様式は会員通信記載のとおりです。

(5) 会計報告

山田氏から51年度会計報告がありました。(別表のとおり)なお, 51年度から会費および賛助会費を年間それぞれ1,000円から2,000円に, および5,000円から10,000円に改められました事も徹底を期するため, あわせて再度報告していただきました。

(以上 文責 加納)

§ 第43回研究会を終えて

木本哲夫(川崎医大 病理)

日本組織培養学会, 43回研究会を川崎医大でお引き受け致し, 多数の参加者をお迎え出来, 活潑に討論が行われました。斯学の進歩に少しでも役に立つ事が出来たと思ひ一同よろこんで居ります。5月19日(木), 研究会1日目は一般演題(10題), 20日(金)2日目はシンポジウム形式(9題)として「組織培養の医学への貢献」というテーマで行いました。何分広範囲のテーマであったので, 焦点をしぼって考えても見たのですが, むしろセクションに区切らない方が全体の流れを知ることができるとも考えて演題を集めました。しかしそれぞれの分野から発表討論が行われ結果的には我々が意図した加齢, 発癌(分化), 細胞膜等の問題がヒトではどうかという一応の流れを知る事が出来ました。その他, 培養白血球の新しい問題点に就ても行いたかったのですが後日に割愛しました。岡山は, 非常に培養の仕事が盛んで, 私事にこだわりますが, 学会をお引き受けして終ってみると現在の組織培養の広分野にわたる進展に一入の感激を覚えると同時に一応このあたりで昔話もよかろうと思ひ地方物産をお聞かせしま

す。実は私が培養に手をつけ始めたのは、現在岡山大学医学部病理学教室の妹尾左知丸教授が三重県立医大（現在三重大学，医学部）より昭和29年に岡山大学に着任され、細胞の分化をお家芸として発癌の試験管内実験に手をそめたのに始まります。発癌といっても当時ワールブルグが嫌気条件でセンイ芽細胞を発癌さす事が出来たという事実が話題を呼び、他方では西独のブユフナーが鶏卵を高圧酸素下で孵化さすと奇型の「一つ眼」が出来た事など、「酸素」と細胞分化が注目されたのをかわきりに、我々のところも発癌実験に着手したわけです。当時北大の牧野先生の培養室を真似てベニア板で私の部屋の一隅に無菌室を作りベンチレーションも全くなく、夏は室内37度位にもなり技術員の人が時々倒れて大騒動をした事もありました。培養技術に関しても二、三の書物がありましたが、何れもあまり役に立たないものでしたが、丁度この時、勝田先生の組織培養の小冊が発刊され、先生自らの体験に基づく最良の指導書であり、培養への愛情と親しみにあふれていた名著でした。これを機に入局したての松岡巖先生（産婦人科開業）を勝田先生のところをお願いして内地留学として技術指導をお願いした時代が岡山大学の培養研究の胎動期でありました。それから2年程経て癌研究施設病理部門が出来て、浜崎病理の佐藤二郎助教授が主任として移られ、エールリッヒ癌細胞の培養維持に成功され、次いでラット肝細胞の培養に東大医科研と協同研究され、試験管内に於ける肝細胞-DABの発癌の仕事は非常に輝かしいものであり、元気の勝田先生（今でも元気ですが）と若い頃の佐藤教授が思い出されます。私も妹尾教授と共に3-Met-DABの発癌に関して組織発生の研究も併せ行い肝臓管部のStems Cell説を立てたのですが、培養内に於ける肝臓管細胞の分化的役割は、尚肝細胞培養の研究に深く興味を残しています。それから数年の後、ローズウェルパーク癌研での研究生活に旅立ちましたが、Dr. J. Moore, Dr. Gradeの培養研究施設(Cell and Virus research laboratory)は眼を見張るものがあり、白血病細胞、人癌の培養が手掛けられ始めた頃で米国内に於ても最も華々しい時代でありました。帰国後、岡山大学の病理学教室が新築され、恒温室(37℃)を作ったのも当時としては新しい試みでした。昭和45年、川崎医大が新設され、組織培養免疫センターの設立、設計を一任され昭和47年苦心の末、完成した訳です。第43回、研究会を機に、多数の諸先生方に御参加願ひヒトの細胞の培養も活潑に発表され、加令、DNA修復機構、薬品の障害性、細胞膜のリセプター、癌細胞培養等の諸問題に関して意見交換が行われましたが、淋巴球、骨髓球の培養など未だ残された未解決の問題も多く、また、やり甲斐もあります。我々も今後増増研究を重ね、斯学発展のために広く門扉を開き、何時でもお役に立ちたいと考えています。2日間は快晴に恵れ、遙々スタンフォード大学より来学されたMasover博士も楽しい想い出を残して帰国されたものと思います。

§ 1977年度米国組織培養学会

沖垣 達(モントリオール癌研)

本年度のTisse Culture Association(以下TCA)年会在、New Orleans

で開かれ、筆者はこれに出席したので、ごく簡単に報告したい。

ここ数年来の研究費削減は米国科学界の最大の問題で、研究者は顔をあわす毎におたがいの悩みを訴えるのが実情である。それにもかかわらず、今年の T C Aには実に約1,000名が参加し、発表論文も250編を算ぞえた。内訳は、公式のシンポジウムが三回（一人45～60分）、一般発表が22セッション（一人45分）、および夕食後のラウンド ティブル（技術などに関しての自由討論）が12分会に分れて開かれた。特に今回目立ったのは植物組織培養が脚光を浴び、数多くの論文が寄せられた事であった。これは今会のプログラム副委員長トシオ ムランゲ教授（カリフォルニア大）の尽力によるもので、それかどうか日系人の出席が目立った。その内で、植物培養の化学工業への応用に関しての三沢博士（協和醸酵）の講演はよいタイミングで噂にのぼった。

以下、私の出席した範囲でいくつかの耐議点をひろってみよう。

シンポジウムは栄養要求と生長の問題で、三つの話題が互いに相異点をみせながら無血清培地の本質についての進歩をみせた。R. G. Ham（コロラド大）は正常2倍体細胞にはどうしても $250 \mu\text{g}/\text{ml}$ の血清蛋白が必要であるとし、これを non-replaceable と名付ける。この量は透析血清 0.5% に等しい。また彼は以前に、サイロキシン (10^{-6}M) が生長に関与すると発表しているが、実はサイロキシンはしばしばセレンウムと混在している事がわかり、セレンウム ($10^{-7} - 10^{-8}\text{M}$) 添加培地はサイロキシンと同様の生長をみせることをみつけた。ほかにマンガニーズの微量混合も生長促進と関連しているという。

ほかに、プラスチック培養器のコーティング (Polylysine) の有無、トリプシニゼーションの方法が大いに影響するという。彼の用いるパラメーターは、コロニーの数と大きさで、培養初期に於ける plating efficiency の良し悪しは、必ずしも後期生長に比例しないという。

次の演者の I. Hayashi は G. Sato のグループを代表して無血清条件下のホルモンの効果について述べた。用いた細胞は He La, マウスのメラノーマ、および GH3 (プロラクチン合成を示す株) でいずれも発癌性を有する。Ham's F-12 培地に多くのホルモン (たとえば $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ インシュリン, 同量のトランスフェリン, $3 \times 10^{-4}\text{M}$ T₃, 1 ng TRH, 0.5 ng PTH など) を加えて、10% 血清含有条件と全く同じ生長をみている。結論としては無血清条件では、

(1) インシュリン あるいは トランスフェリン

(2) 少なくとも一種類のステロイド か ステロイド類似物質

を必要とすることである。もしこの条件が正常2倍体細胞にも応用が可能になれば、血清の必要性は失われるとっていいだろう。I. Hayashi (林 泉氏) は私のかつての学生で、その彼女が掌々と学会をリードしていることはまことにうれしい事であった。

続いて D. Paul は 3T3 と SV40 3T3, B(a)p 3T3 を比較して明らかに発癌した細胞は少ない栄養要求に満足する事を示した。彼は血清の分割に存在する要素 (生成促進, 生

存、附着、移動)について、こまかに仕事を続けているすぐれた研究者である。

分科会のセッションは同時に開かれる為に、出席できるものは限られるが、発癌について興味ある論文がみられた。

D. Clive は L5178 マウスリンフォーマ細胞の TK ロカスを発癌剤で突然変異化し、発癌性と、突然変異性との相関をみている。つまり、発癌実験は費用と時間を要する為に、短時間に突然変異の出現をみて、それから発癌性を憶測するものである、その結果強発癌剤(4NQO, B(a)P, DMN など)は明らかに強い突然変異を示し、その間にリニアな関係がみられる。サッカリンは弱突然変異誘導体として認められたが、発癌性は皆無に等しいという。

次の B. G. Casto は、NIH の J. A. Di Paolo と化学発癌についての一連の仕事を続けているが、今回はその大要をまとめた。ハムスターせん維芽細胞でみられる限り、発癌を示すマーカーは二つにわけられる。

(1) 初期にみられるもの

形態変化、無統一生長、濃度依存性の欠失、膜蛋白の変化、デキサメサゾン抵抗性

(2) 後期にみられるもの

フィブリノリン活性、Con A による凝集、デクストラン抵抗性、ヘパリン抵抗性、ソフトアガーでの生長、動物での発癌

以上は必ずしも目新しい事ではないが、使用する細胞株や技術上の相違が大きく影響し一般化したデータは必ずしも反覆できない所に困難さがある。彼はこののち、せん維芽細胞から上皮細胞への転換をねらっているが、これは誰も考える所である。

私はこののち上皮細胞培養のセッションへでかけ、顔なじみの人々と挨拶を交わす。

ここでは、前立腺、乳腺、唾液腺、生殖上皮などの培養に関する苦勞話が展開する。正直の所、成功しているものは実に限られていて、今後期待せざるをえない。

私自身は子宮内膜上皮の培養に用いた技術を改良して、目下子宮頸部の長期培養をねらっている。勿論 Herpes Virus type 2 との相関が問題の中心である。今回は G. D. Willanks がこの分野でのまとめをしたが、私共のグループの方がよほど進んでいる事が判った。人上皮は普通の条件では分裂せず、しかしした所でやがて分化して死滅する。従って、分裂促進と分化阻止を一つのものとするか、別のものとするかによって、いくつもの培養条件が成立つ。私は、目下、Ham's F-12 あるいは CMRC 1066 培地に 10% 仔牛血清を加えたものを主体とし、添加物として、V-A, Epidermal Growth Factor (EGF) ステロイドホルモン、インスリンを加えている。EGF は高価であるがすでに市販されており、上皮細胞の生長には不可欠と思われる。

ほかに多くの論文に接したが、要約 (In Vitro 1977 年 13 巻 3 号) をみられたい。懇親会の夕食はミシシッピー河を 3 時間に渉って上下しながら昔なつかしいショウボートで行われ、歌やダンスが飛び出して、年来にない盛会であった。私個人としては、本物のデキシーランド・ジャズを深夜まで聴けたことで、これはまさに感激であった。来年は 6 月上旬、コロ

ラド山系の中心デンヴァー市で開かれる事になった。日本からの参加を期待して筆をおく。
 (筆者 日・米両組織培養学会員)

§ 昭和51年度会計報告

前年度よりの繰越金	485,889	
51年度実収入	1,200,703	
51年度実支出		1,496,938
次年度への繰越金		189,592
合 計	1,686,592	1,686,592

内 訳

51年度収入		51年度支出	
正会員費(249件)	513,000	各種刊行費	
賛助会員費(22件)	488,000	ビブリオグラフィ-'74	395,000
文 部 省 補 助 金	190,000	" '75	612,128
雑 収 入	6,850	会員通信(No.29-31)	76,200
銀 行 利 息	2,853		
		研究会補助	
		第41,42回	100,000
		(高野,木本)	
		学会事務センター	
		通 信 費	127,610
		印 刷 費	11,120
		業 務 委 託 費	174,880
計	1,200,703	計	1,496,938

註1. 51年度は支出が収入よりやく29万円超過になっていますが、これはビブリオグラフィを2年間分支払ったためです。

註2. 昨年度より会費が2000円と値上げされましたが、会費納入率が70%を割っています。未払いの方は至急納入して下さい。
 (山田会計幹事)

Technical Reports

§ Feeder Cell の凍結保存

現在のわれわれの培養条件では feeder cell の役割りは大きく無視出来ないものとなっている。しかし X-ray をかけることの煩雑さからなるべく feeder cell を使わない実験が試みられているといっても過言でなからう。すなわちどうしても feeder cell を使いたい時も、使用する数日前から細胞を用意し、前日に X-ray をかけてから播種し、当日やつと培養したい目的の細胞をまくといった具合であるから、ルーチンに feeder cell を使う所ならばいざしらず、ちよつとためし培養の時などは用意の方が大変ということになる。

そこで X-ray を照射した細胞を凍結しておいてそれを融解して使用した時も feeder cell の役割を果すかどうか調べた。

- (1) 先ずシリアンハムスター胎児細胞に X-ray をかけて直ちに一定の inoculum でラプテックチャンバースライドにまいて4日間培養後固定染色した。一方で同じ細胞を X-ray 照射後常法によって凍結し、4日後そのアンプルをとり出して細胞を調整後ラプテックチャンバースライドにまいて同じように培養後固定染色した。両者のスライドを観察した結果が表1である。顕微鏡観察すると feeder cell は4日間

(表 1)

細胞	大きさの比	細胞数の比	
		(5×10^3 c/ml まいたもの)	(1×10^4 c/ml まいたもの)
照射後直ちに接種	5	22.5	29.5
凍結後接種	3	20.5	33.7
コントロール細胞	1		

培養で非常に大きくなるが、別の実験で増殖させたハムスター細胞と比較すると、表1の如く3倍、5倍の大きさになる。しかし、凍結後使用したものは、凍結しなかったものに較べ明らかに小さい。細胞数は 10×10 の顕微鏡視野内の細胞数を20視野位数えて平均したものである。 1×10^4 cell/ml まいた群でみるように凍結したものの方が却って細胞数が多く、X-ray 照射後も細胞は凍結処理に対しOKであることがうかがえる。

- (2) 同じようにシリアンハムスターの細胞を使ってコロニーを形成させる実験を行った。X-ray 照射後の細胞と照射後凍結しておいた細胞を6,000ヶあて6cmのシャーレにまき、さらに一日間培養後ハムスター細胞(未照射)を500ヶまいて7日間培養した。培地はD-MEM + 20% FCSを用いた。メタノール固定ギムザ染色後コロニー数を算定した。コロニー数は表2に示す通りで、照射直後すぐに使用した feeder cell を用いた方のコロニー数の方

が多いが、使用したシャーレ数のこともあり、凍結がコロニー形成に悪い影響は与えていないように考える。実際にコロニーの大きさは両者差はなく凍結した細胞も feeder としての役割りに充分使用に耐えるものと考えられる。

(表 2)

Feeder cell	シャーレ数	コロニー数
X-ray 照射直後のもの	4	117
X-ray 照射後凍結保存したもの	2	104

横浜市立大学医学部

梅田 誠

江中 久美子

S 編集後記

会員通信夏号をお送りいたします。研究会の折、通信のあり方について会員の方から御意見をいただきましたので、それを参考にして、通信は単なる学会ニュースだけでなく、新しい技術、研究のトピックス、研究のあゆみ、新製品の紹介なども加えてみたいと考えております。

本号では、Technical Report 欄をつくり、梅田氏に執筆をいただきました。

通信も内容が豊富になりますと、文献として引用されることもありうるわけで、通信自体、少し脱皮し会員通信という名称、体裁の面で工夫しなければならないと思っています。

上述の各欄への原稿・会員通信のあり方についての御意見などお寄せ下さい。

なお、第44回研究会開催案内は、勝田世話人より直接会員に送付いたしましたので、本号に掲載を省略いたしました。(S)

§ 新入会員名簿

昭和52年5月

所属機関	同住所・電話	氏名	専門分野
岡大・医 癌源病理	〒700 岡山市鹿田町 2-5-1 (0862)23-7151 内線 746,747	今井寛途	病理学
浜松医大 病理第1講座	〒431-31 浜松市半田町 3600 (0534)35-2220	喜納 勇	腫瘍病理学
横浜市大・医 組織培養室	〒232 横浜市南区中村町 2-102 (045)261-1757	江中 久美子	細胞生物学
岡大・医 癌源病理	〒700 岡山市鹿田町 2-5-1 (0862)23-7151 内線 759	中村 秀和	細胞生物学
タイ国立がんセン ター 組織培養部	ラマVIロード,バンコック タイランド	Pornnipa Picha	微生物学
岐阜歯科大 口腔外科・ 第2講座	〒501-02 岐阜県本巣郡 穂積町高野 (05832)6-6131	兼松 宣武	口腔外科学
高知県立中央病院 癌研究所	〒780 高知市桜井町 2-7-33 (0888)82-1211	赤木 忠厚	病理学 腫瘍免疫学
川崎医大 実験病理	〒701-01 倉敷市松島 577 (0864)62-1111	植木 絢子	免疫病理学
鹿児島大・医 第1病理学	〒890 鹿児島市宇宿町 1208-1 (0992)64-2211 内線 2111	小浦 雅敏	細胞生物学
岡大・医 癌源病理	〒700 岡山市鹿田町 2-5-1 (0862)23-7151	宮崎 正博	細胞生物学
農林省動物医薬品 検査所検査第一部 豚コレラ予防 検査室	〒185 東京都国分寺市 戸倉1-15-1 (0423)21-1841	福所 秋雄	獣医学領域における ウイルス学

§ 新入賛助会員

昭和52年5月

賛助会員	同住所・電話	連絡者
有限会社 光研社 エンジニアリング	〒162 新宿区西早稲田 2-21-4 (03) 208-1622	伊東 英利

1977年 Bibliography 原稿 募集

本年も Bibliography 編集の季節になりました。下記の如く原稿を募集致しますので、1976年の年号のついた論文の英文抄録を漏れなくお送り下さい。

1. 締 切 : 昭和52年11月30日

2. 宛 先 : 倉敷市松島 577

(〒701-01) 川崎医科大学病理学教室

難 波 正 義

3. 執筆要綱 : 昨年、一昨年と同じ。(写真印刷致しますので、抄録は電動タイプ
(打抜きカーボン紙)を使用し、スペース内に必らず治めて下さい)

4. 抄録用紙 : 本会員通信に各一部同封致しますが、余分に必要の方は 難波正義
或は乾直道宛お知らせ下さい。

毎年のことながら、原稿の集まりが悪くて編集者一同発行に際し苦勞致します。本年こそは、1回の原稿募集でBibliographyが発行出来る様、皆様の御協力をお願い致します。

昭和52年7月

乾 記