

Title	mitomycin cの作用機構に関する研究
Author(s)	寺脇, 朝治
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28198
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 43 】

氏名・(本籍)	寺 脇 朝 治 てら わき あさ はる
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 0 7 号
学位授与の日付	昭 和 35 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 生 理 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	mitomycin c の作用機構に関する研究
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教 授 川 俣 順 一 教 授 須 田 正 巳 教 授 天 野 恒 久

論 文 内 容 の 要 旨

1. 目 的

制癌剤の作用機構を明らかにする事は、より有効な制癌剤発見に一つの指針を与えるのみならず、一方、腫瘍細胞の代謝過程の解明にも通じるものであり、特に抗生物質の場合は、細菌生理学的にも又極めて興味ある問題である。mitomycin C (以下MC) は *streptomyces caespitosus* から分離された抗生物質で動物癌に極めて強い制癌性を示し、一部、臨床的にも応用されている。又之は細菌に対しても広い作用域を示す物質である。しかし、その作用機構に関しては殆ど報告を見ない。

そこで私は、MC の作用機構を Ehrlich 腹水癌細胞 (以下 ETC) および大腸菌 B 株を用いて、生化学的に検討を試みた。

2. 方 法

① ETC を洗滌によって血液成分を取除きこの生細胞および、ホモジネートについて、その呼吸、解糖、酸化の磷酸化におよぼす MC の影響を Warburg 検圧計を用いて検した。

② Glucose-Simmons 液体培地において増殖しつつある大腸菌 B 株に MC を作用せしめ、その際における蛋白、核酸の増加を定量した。

核酸は Schneider の方法で抽出して、RNA は orcinol, DNA は K. Burton の diphenylamin による反応、蛋白は Folin 反応を用いて各々比色定量した。

3. 結 果

(I) Ehrlich 腹水癌細胞のエネルギー代謝におよぼす影響

1) ETC の基質添加時の呼吸は、MC をその自家呼吸を阻害しない範囲の、かなり高濃度 (100 μ g/ml) で作用せしめた際に、はじめて阻害されたが、ホモジネートでは全然阻害されなかった。

2) ETC の解糖も 100 μ g/ml で阻害したが、ホモジネートでは阻害しなかった。

2) ETC の酸化的磷酸化を 100 μ g/ml で全然阻害しなかった。

(Ⅱ) 大腸菌 B 株の核酸, 並びに蛋白合成におよぼす影響

1) 対数増殖期の菌に MC 0.1~0.01 μ g/ml 作用せしめた時, 濁度は, 90分迄対照と同じ様に増加し, 90分以後に阻害がみられたが, 生菌数は, 90分間の作用によって, 培養開始時の5%以下に低下しており, 又この時期の菌の形態は明らかに細長く延長していた。

2) この90分迄の観察において, MC 0.1 μ g/ml 以下では蛋白, RNA は対照と同様に増加したが, DNA 合成のみは MC 0.02 μ g/ml の作用によって, 作用直後から完全に阻害され, 0.01 μ g/ml においても約60%の阻害がみられた。

蛋白, RNA の合成は 1 μ g/ml ではじめて阻害された。

3) グルコースの酸化, β -ガラクトシダーゼの適応的形成は 0.5 μ g/ml で全然阻害されなかった。

4) この DNA 合成の阻害作用は, 洗滌によって回復しなかった。

5) 各種核酸塩基, チミジン, 葉酸, アミノ酸を加えても, MC による DNA 合成阻害は回復せず, 只酵母エキス 20mg/ml 加えた時にのみ或程度回復した。この酵母エキスによる回復は, MC を 15分間作用せしめた後にも見られた。

6) MC 0.02 μ g/ml 作用下における酸溶性分割中のリボーズは, 対照の増加と殆ど同じであるが, デオキシリボーズは対照に比して2倍の増加を示した。

4. 総 括

1. MC は ETC の生細胞の呼吸, 及び解糖を可なりの高濃度においてはじめて阻害するが, ホモデネートの呼吸, 解糖, 及び酸化的磷酸化は全然阻害しない。
2. 大腸菌 B 株の増殖菌において 0.01 μ g/ml の MC は蛋白, RNA の合成の阻害を示さないが DNA の合成を著しく阻害する。

この DNA 合成の阻害は, 洗滌によっても回復せず, 各種核酸塩基, チミジンによっても回復しないが, 酵母エキスの添加によって或程度回復する。尚 MC 作用下の酸溶性分割中にデオキシリボーズの増量が認められる。

これらの事は, MC による大腸菌 B 株の DNA 合成の選択的阻害が, DNA 合成の高分子化の過程にある事を予測せしめるものである。

そして, なおこの DNA 合成の選択的阻害が大腸菌の増殖阻止の重要な原因となっているものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

制癌剤の作用機構を明らかにすることは, 癌化学療法分野において大きな課題の一つであるのみならず, 癌そのものの研究においても, 重要な問題と考えられる。

mitomycin C は *streptomyces caespitosus* から分離された抗腫瘍性抗生物質で, 動物癌に対して強い抗腫瘍性を示すのみならず細菌に対しても広い作用域を有することが報告されている。しかし, その作用機構に関しては未だ報告をみない。

著者はエールリツヒ腹水癌細胞ならびに大腸菌を用いて、その作用機構の解明を生化学的に試みた。

著者はまず、エールリツヒ腹水癌細胞についてエネルギー代謝におよぼす影響を観察した。

mitomycin C (以下MC) は 100 μ g/ml のような高濃度で、その基質添加時の呼吸、ならびに嫌氣的解糖を強く阻害するが、ホモジネートにすると、これら呼吸、解糖は阻害されないことを明らかにした。

そこで、著者は、この生細胞に対する呼吸および解糖の阻害は、これらの酵素系が MC により一次的に阻害されたために起ったのではなく、他の代謝機構の障害に引続いて起った二次的な変化であろうと推測した。

なお、MC は酸化的磷酸化を 100 μ g/ml で全く阻害しないという事実から、少くとも、MC はエネルギー代謝を一次的に障害するものではないと考えた。

更に著者は、細菌を用いて MC の作用を検討することにし、対数増殖期の大腸菌 B 株に MC を作用せしめて、時間を追って、growth, 蛋白, 核酸を定量した。

growth, 蛋白および RNA は MC 0.1 μ g/ml 作用下においても、測定時間90分迄は対照と同様に経時的に増加し、MC による阻害はみられない。これに反して DNA は、MC 作用直後から、その合成は完全に阻害され、0.01 μ g/ml でも60%強阻害されることを知った。

MC を90分作用せしめた時期の生菌数は、対照の5%以下であった。

従って著者は、MC 作用下の菌の growth は、生菌数の増加なき、また DNA 合成もない異常な growth で、菌は大きくなるが分裂が阻害せられ、Cohen のいういわゆる“不均衡生長”に近いものであろうと考察している。

なお、MC 作用下の菌の形態は対照より明らかに細長くなっていた。

一方、MC はグルコース酸化、 β - ガラクトシダーゼの適応的形成を全然阻害しなかった。

このような MC による DNA 合成阻害は、洗滌により回復しないことを認めている。

そこで著者は、さらに、このような MC の阻害機構を検索する目的で、一方では種々の核酸代謝関連物質による MC 阻害の回復を観察すると共に、他方、MC 作用下における酸溶性分劃中のリボーズならびにデオキシボーズ量の変化を追跡した。

その結果、アデニン、グアニン、オロチン酸、シトシン、ウラシル、チミン、チミジン、葉酸、カザミノ酸は MC 阻害を回復しないが、ただ酵母エキスのみが或る程度回復することを知った。著者は、チミン、チミジンによって回復しないことから、MC 阻害はメチル基転移後の阻害が考えられると考察している。

また、MC 作用下の酸溶性分劃中のリボーズは対照と同じ程度の増加を示すにすぎないが、デオキシリボーズは対照の2倍に増加することを知った。

以上二つの事実から、MC による阻害は、一応、DNA の高分子化の段階の阻害か、DNA 合成を支配するような機構の障害であろうと考察している。

上記著者の行った研究は、基礎的には、DNA 合成のもつ生物学的な役割ならびに DNA 合成過程の解析に貢献するのみならず、臨床的にも、制癌剤の合理的な応用の研究に寄与する点大きいものがあると考えられる。