



Title	鶏胚抽出液より分離した増殖促進物質のラット肝核分裂に及ぼす影響
Author(s)	森下, 智
Citation	大阪大学, 1962, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28407">https://hdl.handle.net/11094/28407</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	森 下 智
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 302 号
学位授与の日付	昭和37年3月26日
学位授与の要件	医学研究科 外科系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	鶏胚抽出液より分離した増殖促進物質のラッテ肝核分裂に及ぼす影響
論文審査委員	(主査) 教授 久留 勝 (副査) 教授 須田 正巳 教授 吉川 秀男

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

先きに教室の福井、青木等は、人あるいは動物の悪性腫瘍抽出液の30~70%エタノール沈澱分画中に含まれる物質が、in vitroにおいてマウスの耳上皮細胞核分裂に対して促進的に作用することを認め、また伊藤等は、この物質が組織培養において、L株細胞およびその亜株たるLp<sub>1</sub>株、細胞に対して増殖促進効果を持つことを認めた。

悪性腫瘍以外に急速な増殖を示す組織としてはembryoを挙げることができる。Carrel(1913)が鶏胚抽出液を組織培養液に加えることに依り、Fibroblastの増殖が促進されることを報告して以来、多くの学者によってその中に含まれる成長促進因子の研究が行なわれている。

最近Kutsky(1955)、勝田(1955)等は、線維芽細胞に対する有効物質は核蛋白であると報告した。先きに悪性腫瘍について行ったと同じ方法で鶏胚組織から抽出して得た物質が、増殖促進因子として有効であるか否かは、はなはだ興味ある所である。渡辺は、9日卵より得た鶏胚抽出液の30~70%エタノール沈澱分画は、組織培養において、L株細胞およびLp<sub>1</sub>株細胞に対して、やはり増殖促進的に作用することを確かめ得た。

私は、この鶏胚から得られた有効物質が、単にin vitroで組織培養細胞に作用するのみでなく、またin vivoにおいて、ラッテの正常肝細胞に対して、特にその核分裂にいかなる影響をおよぼすかを検討した。そしてこのような条件において見られる肝細胞核分裂の增加が、Polyploidy細胞の単なる核分裂にすぎないのか、或は蛋白、RNAからDNAに至る細胞構成成分の新しい合成の上に立った核分裂、即ち真の増殖であるかはなはだ興味深いものがあるので、これらのうちRNAに焦点をしぼり、ラッテ肝RNAえのin vitroにおける<sup>14</sup>C-オロチニ酸のIncorporationを促進するか否かを検討するために実験を行なった。

## 〔方法並びに成績〕

### (a) 有効物質の抽出

9日乃至10日目の鶏胚組織に3倍容の生理的食塩水を加えて homogenate とし、氷室に1夜放置後、10,000 r.p.m, 15分遠沈し、上清を粗抽出液 ( $S_0$ ) とした。この粗抽出液に冷エタノールを30容量%に加え、氷室に1夜放置し、遠沈して得た沈澱を  $S_1$ 、さらにこの上清に冷エタノールを加えて70容量%とし同様1夜放置、得た沈澱を  $S_2$ 、その上清を  $S_3$  とした。沈澱はこれを蒸溜水に溶かし、可溶部分を凍結乾燥後保存した、 $S_3$  もエタノール徐去後凍結乾燥した。

(b) ラッテ肝細胞核分裂におよぼす影響 (in vivo) 生後2ヶ月乃至3ヶ月の雄のS系ラッテ(体重150~200g)を用い、生理的食塩水に溶解させた上記各分割 ( $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ ) を腹腔内に注射後、肝臓より小片を採取し、ブアン氏液固定、パラフィン包埋後、5μの連続切片を作製、Haematoxylin-Eosin染色を行い、顕微鏡下10×40の倍率において100視野中にみられる核分裂像を計測し mitotic index とした。別に生理的食塩水のみの注射を行った群を作り対照とした。

各分割の中、 $S_2$  分割を0.2~0.5mg/ml, 1ml 24時間毎5回注射し、最後の注射後24時間の場合のみ肝細胞核分裂に対する促進効果がみられた。この効果は他の  $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_3$  各分割には認められなかった。

(c) ラッテ肝切片中 RNAへの<sup>14</sup>C-オロチニ酸の Incorporation におよぼす影響 (in vitro) Hecht and Potter 氏法の変法を用いて実験を行った。即ち、生後約3ヶ月、体重200g前後のS系ラッテ(♂)の肝から Stadie-Riggs の Slicer で、約500μの切片を作り、その湿重量300mgを0.1% Glucoseを添加せる Krebs-Ringer 磷酸緩衝液3mlのmedium中に入れ、これに0.5μc/mlのオロチニ酸-6-C<sup>14</sup>と、種々の濃度の有効物質を加え、Warburg のフラスコ中で、37.5°C, 2時間 incubate した後、肝切片を取り出して、蒸溜水を加え、Potter の glass homogenizer で20%の homogenate とし、Schmidt and Thanhauer 氏法により RNA を抽出して Gas flow counter で<sup>14</sup>C-オロチニ酸の Incorporation を計測した。

その結果、 $S_2$  分割50~400γ/mlをmedium中に加えたものでは、肝RNAへの<sup>14</sup>C-オロチニ酸の取り込みが促進されることを認めた。

### 〔総括〕

鶏胚抽出液の30~70%エタノール沈澱分割 ( $S_2$ ) は、in vivoにおいて、ラッテ肝細胞核分裂を促進し、また同じ物質は、in vitroにおいて、肝RNAへの<sup>14</sup>C-オロチニ酸の Incorporation を促進する。

### 論文の審査結果の要旨

鶏胚は、極めて旺盛な発育を示す組織の一つであり、細胞分裂の盛んな点において悪性腫瘍に類似点を持つが、その水性浸出液が組織培養における線維芽細胞に対して成長促進効果をもつことは古くから知られ、組織培養において広く応用されている。

先きに久留は、急速な発育を示す人あるいは動物の悪性腫瘍より得た30~70容量%エタノール沈澱分割中に、マウスの耳上皮細胞核分裂を促進せしめる物質を含まれていることを認め、Oncotrophinと名付けて報告した。

森下は、鶏胚組織から粗 Oncotrophinと同じ方法で從た特定の分割が、in vivoにおけるラッテ肝細胞の核分裂を促進することを証明するとともに、また in vitroにおいて、ラッテ肝切片 RNA への<sup>14</sup>C-オ

ロチン酸の“取り込み”を促進することを明らかにした。この効果は、同じ分画の透析によってはその内液に残り、80°C 5 分の加熱によっては失はれない。

本研究は、従来もっぱら組織培養を以て検討されてきた鶏胚の発育増進作用を、*in vivo* におけるラット肝細胞の核分裂並びに、*in vitro* におけるラット肝 RNA の代謝回転の促進の面から確認し得た点で価値の少くないものと思う。