



Title	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
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">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【 33 】

氏 名・(本籍)	森 下 智 もり した さとる
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
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教 授 久留 勝 教 授 須田 正己 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% エタノール沈澱分割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% エタノール沈澱分割は, 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増加が, 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-オロチン酸の 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 150~200 g) 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、 $5\mu$  の連続切片を作製、Haematoxylin-Eosin 染色を行い、顕微鏡下  $10\times 40$  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を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  $0.2\sim 0.5\text{ mg/ml}$ , 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  $^{14}\text{C}$ -オロチン酸の 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 200 g 前後の S 系ラッテ (♂) の肝から Stadie-Riggs の Slicer で、約  $500\mu$  の切片を作り、その湿重量  $300\text{ mg}$  を  $0.1\%$  Glucose を添加せる Krebs-Ringer 磷酸緩衝液 3 ml の medium 中に入れ、これに  $0.5\mu\text{c/ml}$  のオロチン酸- $6\text{-C}^{14}$  と、種々の濃度の有効物質を加え、Warburg のフラスコ中で、 $37.5^\circ\text{C}$ , 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 Thanhauser 氏法により RNA を抽出して Gas flow counter で  $^{14}\text{C}$ -オロチン酸の Incorporation を計測した。

その結果、 $S_2$  分割  $50\sim 400\text{ }\gamma/\text{ml}$  を medium 中に加えたものでは、肝 RNA への  $^{14}\text{C}$ -オロチン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  $^{14}\text{C}$ -オロチン酸の 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が含まれていることを認め、Oncotrephin と名付けて報告した。

森下は、鶏胚組織から粗 Oncotrephin と同じ方法で従来特定の分割が、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  $^{14}\text{C}$ -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、同じ分割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* におけるラッテ肝細胞の核分裂並びに、*in vitro* におけるラッテ肝 RNA の代謝回転の促進の面から確認し得た点で価値の少なくないものと思う。