The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	悪性腫瘍組織より分離された増殖促進物質
Author(s)	伊藤, 英太郎
Citation	大阪大学, 1961, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28412
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【57】

氏　名・(本籍)	伊　藤　英太郎（いとう　えいたろ）
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　217　号
学位授与の日付	昭和36年6月22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	**悪性腫瘍組織より分離された増殖促進物質**
論文審査委員	(主　査) 教授 久留　勝　教授 宮地　徹　教授 須田　正巳

論文内容の要旨

目　　的

悪性腫瘍の最も本質的な特性はコントロールされることのない旺盛な増殖にある。この増殖機序の一面を明らかにするため，〝分裂の盛んな癌組織には，他の細胞の分裂増殖を促進する物質が含まれているのではないか〟という仮定の下に，組織培養細胞の増殖に対する効果を指標として実験を行い，その様な促進物質を分離せんと試みた。

癌組織中に此の様な増殖促進物質の存在を仮定する立場は幾人かの人が既に発表して居る。即 Annau は担癌動物の肝に，教室の相沢は胃癌患者の肝に核分裂数の多いことを明らかにして居る。又この研究と相前後して Malmgren は乳癌の homogenate を注射した動物の肝に核分裂数が多く現われるとし，其他 Lettre, 小川等もこれに類する報告をして居る。又 Doljanski, Werner, Ulloa-Gregori, Levi-Montalcini, Cohen 等は Fibroblast, 神経節，或は皮膚等の組織培養を用いて悪性腫瘍抽出液或は患者血清等に増殖促進物質の存在する事を認めて居る。しかし何れもその検定法の正確さに於て欠けるところがあると思われ，又其の物質を何等かの形で取出すには至っていない。

実験方法並びに結果

組織培養はL株細胞を用い，細胞浮游液を短試験管に分注して，各群に分け，対照群は標準培地（YLHに牛血清を10%に添加），各実験群は各被験材料を添加した培地中にて一週間培養し，各試験管中の細胞核数を計測し，対照と比較して各材料の増殖促進活性を検した。

a) 粗抽出液及びエタノール分劃

人癌或はラッテ腹水肝癌（AH130）細胞に，その湿重量の約3倍量の生理的食塩水を加えて homogenate とし，氷室に一夜放置後 10000r.p.m. 15分遠沈し，その上清を粗抽出液（S_0）とした。そして S_0 に冷エタノール液を30容量%に加えて得た沈渣を S_1，更にこの上清に冷エタノール液を加えて70容量%

として得た沈渣を S_2，その上清を S_3 分劃とし，各分劃を凍結乾燥して保存し効果を検討した。

これ等分劃の中，S_2 分劃に増殖促進効果が認められ，S_0，S_1，S_3 分劃には効果が認められなかった。

一方正常組織材料として牛正常睾丸及びラッテ正常肝から同様分劃を作ってその作用を検したが，何れも促進効果を認めなかった。

b）有効物質の性状

イ）塩析 ラッテ腹水肝癌より得た粗抽出液を硫安で分劃してP_1，P_2，P_3，P_4分劃を作り夫々の効果を検したところ，P_3分劃（50～70%飽和沈澱分劃）にその活性が認められた。又 S_2 分劃を硫安で再分劃するに，大部分は P_3 分劃に移行するが此のS_2—P_3 分劃が有効であることを知った。ロ）加熱 新鮮なラッテ腹水肝癌 S_2 分劃，人肝癌 S_2 分劃共に100°C 30分加熱してもL株細胞増殖促進効果には減少を見ない。しかし長期間保存したサンプルでは加熱によって効力の消失する事も稀にある。ハ）透析 ラッテ腹水肝癌 S_2 分劃，人肝癌 S_2 分劃中のL株細胞増殖を促進する物質は非透析性である。ニ）電気泳動 ラッテ腹水肝癌 S_2 分劃を，澱粉を支持体として pH8.6 のヴエロナール緩衝液中で電気泳動し，Folin 反応で測った蛋白濃度によって分劃したところ，そのピークに当る E_5 分劃に一致して最大の活性が認められた。此の分劃を沪紙電気泳動で検したところ，pH8.6 で人血清 β- グロブリンより稍おそい易動度を示すことを知った。又人肝癌S_2を同様条件で電気泳動すると蛋白濃度のパターンはかなり異るが，やはり β-グロブリンより稍おそく泳動する分劃に最も強い活性が認められた。ホ）加水分解 6 N-HC1で120°C 24時間人肝癌 S_2 分劃を加水分解すると，L株細胞に対する促進効果は全く失われる。又同じ S_2 分劃を Pronase を加えて処理するとその活性は全く失われる。所が Trypsin で処理した場合にはその促進作用は殆んど影響を受けずに残存するが，有効物質は透析性となる。

総　　括

迅速な細胞分裂の行われて居る組織には，何かそれに関連する物質が含まれて居るのではないかと考えて研究を始め，いくつかの人悪性腫瘍或はラッテ腹水肝癌中にL株細胞の増殖を促進する物質の含まれて居る事を明かにし得た。此の有効物質は又マウス耳上皮細胞の核分裂を in vitro に於て促進する事が教室の研究で明らかにされ Oncotrephin と名附けられている。

L株細胞に対する増殖促進物質の最小有効単位は peptide と推定されるが，腫瘍より取出されたときは polypeptide の形であると考えられる。

論文の審査結果の要旨

目　　的

悪性腫瘍の最も本質的な特性はコントロールされることのない旺盛な増殖にある。此の増殖機序の一面を明らかにするため，〝分裂の盛んな癌組織には，他の細胞の分裂増殖を促進する物質が含まれているのではないか〟という仮定の下に，組織培養細胞の増殖に対する効果を指標として実験を行い，其の様な促進物質を分離せんと試みた。

実験方法並びに結果

組織培養細胞はL株細胞を用い，標準培地中で培養した対照群，各被験材料を添加した培地中にて培養した実験群との間の一週間の増殖度を比較して各材料の増殖促進活性を検した。

a．粗抽出液及びエタノール分劃

人癌或はラッテ腹水肝癌（AH130）細胞に，その湿重量の約3倍量の生理的食塩水を加えて均質液とし，氷室に一夜放置後10000r.p.m.15分遠沈し，その上清を粗抽出液（S_0）とした。そして S_0 に冷エタノール液を30容量%に加えて得た沈渣を S_1，更に此の上清に冷エタノール液を加えて70容量%として得た沈渣を S_2 その上清を S_3 分劃とし，各分劃を凍結乾燥して保存し効果を検討した。此等分劃の中，S_2 分劃に増殖促進効果が認められ，他の分劃には効果が認められなかった。

一方正常組織材料としてラッテ正常肝から同様分劃を作ってその作用を検したが，何れにも促進効果を認めなかった。

b．有効物質の性状

イ）塩析 AH130より得た粗抽出液を硫安で4つの分劃に分け夫々の効果を検したところ，P_3 分劃（50～70%飽和沈澱分劃）にその活性が認められた。又 S_2 分劃を硫安で再分劃するに，大部分は P_3 分劃に移行するが，此のS_2-P_3 分劃が有効であることを知った。ロ）加熱 新鮮な AH130 S_2 分劃，人肝癌 S_2 分劃共に100°C 30分加熱しても活性は減少しない。ハ）透析 AH130 S_2 分劃，人肝癌 S_2 分劃中の活性物質は非透析性である。ニ）電気泳動 AH130 S_2 分劃を，澱粉を支持体として電気泳動し，6つの分劃に分けたところ，人血清 β-グロブリンより稍おそい易動度を示す E_5 分劃に最大の活性が認められた。又人肝癌 S_2 分割を同様条件で電気泳動すると，やはりβ-グロブリンより稍おそく泳動する分劃に最も強い活性が認められた。ホ）加水分解 6N-HC1で人肝癌 S_2 分劃を加水分解すると，促進効果は全く失われる。又同じ S_2 分劃を Pronase を加えて処理するとその活性は全く失われる。所が Trypsin で処理した場合にはその促進作用は殆んど影響を受けずに残存するが，有効物質は透析性となる。

先に久留，神前，松田，福井，青木等は，悪性腫瘍組織中に，in vitro でマウス耳上皮細胞の核分裂を促進する物質の存在することを明らかにしたが，本研究は同じ物質が組織培養の増殖に対しても促進効果を示す事を証明し，その物質の純化に向って一歩を進めた点で価値の少くないものと考える。