



| | |
|--------------|---|
| Title | マイトマイシンCのHeLa細胞増殖抑制機序の解析 |
| Author(s) | 土井, 修 |
| Citation | 大阪大学, 1964, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/28601 |
| 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

【20】

| | |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 土 井 修 ど い おさむ |
| 学位の種類 | 医学博士 |
| 学位記番号 | 第 503 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和 39 年 3 月 25 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 | マイトマイシン C の HeLa 細胞増殖抑制機序の解析 (主 査) (副 査) |
| 論文審査委員 | 教授 陣内伝之助 教授 芝 茂 教授 坂本 幸哉 |

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

癌の治療において、手術療法にも一定の限界があると考えられる現在、制癌剤の占める役割を無視することはできない。ところで臨床的にもっとも有効に制癌剤を使用するには制癌剤の作用機序を解明することが必要である。そしてこの作用機序の解明は、同時により効果的な制癌剤への発展に対する糸口を与えるものであり、さらに癌の増殖機構解明にも通ずるものと考えられる。もちろん薬剤の作用は担癌生体及び癌細胞に対する作用の両面より追求すべきではあるが、癌細胞自体に対する影響を見る場合、組織培養法を用いることは薬剤を任意の時間、任意の濃度で作用せしめうる利点がある。しかし従来 *in vitro* における薬剤の効果観察は、実際生体内において作用しうると考えられるよりはるかに高い濃度、長い作用時間で行なわれていることが多い。生体内における真の薬剤の作用を見るには、生体内において作用しうると同様の濃度及び時間で観察することが重要である。

私は以上の点に留意し、HeLa 細胞を用いてこれに対するマイトマイシン C (以下 MMC と略す) の作用を検討した。

〔方法並びに成績〕

I HeLa 細胞増殖に及ぼす MMC の影響

Simplified replicate tissue culture method により HeLa 細胞を培養し、これに一定時間、各種濃度の MMC を作用させ、その後 MMC 非添加培地に変えて培養し、所定の培養日に細胞核数を計測し、対照群と比較した。

対照群においてはその世代時間は 25~30 時間を示すが、MMC 作用群においては、MMC 濃度と作用時間に対応して増殖の抑制がみられ、ほぼ濃度と作用時間に比例した影響が見られた。しかし世代時間以上にわたる MMC 添加では作用時間とは無関係に濃度のみに対応した影響を及ぼした。

II DNA 合成に及ぼす MMC の影響

MMC を終濃度 1mcg/ml になるよう培地中に加え、1 時間作用させた後、MMC 非添加培地に変え各時間後に ^3H -thymidine を加え gas flow counter を用いて“DNA へのとり込み”を測定した。

MMC 作用直後には対照と大差なく、一定時間後（6 時間後）に最低値をとり、その後再び回復傾向を見た。

I, II の結果は MMC に対する感受性が、HeLa 細胞の life cycle の特定時期において、もっとも高いと考えると説明しやすい。

III HeLa 細胞の世代時間及び分裂各期の推定

使用せる HeLa 細胞の世代時間及び分裂各期の時間を autoradiography を用い、細胞標識率・核分裂率及び分裂期細胞標識率の時間的推移より推定した。

すなわち、世代時間 (T) 28 時間・分裂期 (M) 2.0 時間・DNA 合成前期 (G_1) 8.7 時間・DNA 合成期 (S) 13.6 時間・DNA 合成後期 (G_2) 3.7 時間と推定しえた。

III MMC の HeLa 細胞分裂各期に及ぼす影響

MMC を終濃度 1mcg/ml になるよう培地中に加え、1 時間作用させた後、MMC 非添加培地に変え、その後の各時期に ^3H -thymidine の pulse labeling を行ない、autoradiography により核分裂率・細胞標識率・銀粒子数の変動を観察した。

核分裂率は MMC 作用後 9 時間までは対照と大差なく正常域に保たれるが、12 時間以後急激に低下した。

細胞標識率は MMC 作用直後は対照と大差ないが、漸次減少し、6 時間で最低値をとり、以後再び増加、12~18 時間ではむしろ対照より高い値を示した。

平均銀粒子数は、gas flow counter の成績と同様、直後では大差なく、6 時間で最低値をとり、再び 12~18 時間では回復の傾向を示した。

以上の結果は DNA 合成期前半及び DNA 合成前期後半の HeLa 細胞が MMC に対してとくに感受性が高いと考えると説明がつく。

V MMC による HeLa 細胞 DNA の解重合について

MMC による ^3H -thymidine の“DNA へのとり込み”の阻害が DNA の解重合にもとづく 2 次的な結果であるか否かを、あらかじめ全細胞を ^3H -thymidine をもって標識した後 MMC を投与し、その後酸可溶性分画に放射活性を見出しうるか否かにより検討した。

使用せる HeLa 細胞は 20 時間ではほぼすべての細胞の“DNA へのとりこみ”が行なわれ、resting cell は 3~5% であった。

MMC を終濃度 1mcg/ml になるよう培地中に加えて 1 時間作用させ、その後 6 時間目における酸可溶性分画の放射活性を見ると、対照と同様ほとんど検しえず、酸可溶性分画に入るような DNA の低分子化は起こらないことを示した。

〔総括〕

MMC の作用は HeLa 細胞の life cycle よりみて、DNA 合成後期及び DNA 合成期後半の細胞に対しては分裂期への進行を阻たげないが、DNA 合成前期後半及び DNA 合成期前半の細胞に対してとくにその DNA 合成を阻害し、また DNA 合成期の延長を来たすものとする。

論文の審査結果の要旨

抗癌剤マイトマイシンC（以下 MMC と略す）の作用機序については、従来より、主として生化学的に検討され、その一次的な作用点は DNA とつながりが深いとされている。

ただ、従来の生化学的な研究方法では、細胞のいかなる時期に直接作用するかは明らかにされていなかった。

土井は ^3H -thymidine による Radioautography を用いて、組織培養 HeLa 細胞に対する MMC の影響を詳細に検討し、通常臨床的に使用しうると考えられる濃度において、MMC は HeLa 細胞に対し、その life cycle の中 DNA 合成前期後半から DNA 合成期前半の細胞にもっとも強く作用することを明らかにした。

このことは、単に MMC の作用機序の一端を明らかにするのみならず、生細胞における DNA 合成機構の解明にも寄与するものとする。