



Title	ラッテ再生肝組織より分離せる増殖促進物質の正常ラッテ肝細胞核分裂に及ぼす影響
Author(s)	宇都宮, 健生
Citation	大阪大学, 1964, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28657
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

氏 名・(本籍)	宇 都 宮 健 生 う つ の み や た け お
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 4 7 号
学位授与の日付	昭 和 39 年 3 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	ラ ッ テ 再 生 肝 組 織 より 分 離 せ る 増 殖 促 進 物 質 の 正 常 ラ ッ テ 肝 細 胞 核 分 裂 に 及 ぼ す 影 響
	(主 査) (副 査)
論 文 審 査 委 員	教 授 陣 内 伝 之 助 教 授 久 保 秀 雄 教 授 芝 茂

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

久留らは悪性腫瘍の特長であるその旺盛な分裂増殖は癌細胞自体に含まれる特定の物質に依るものであろうとの推定の下に研究を行い、人及び動物の悪性腫瘍組織の食塩水抽出液の特定の分画に、*in vitro* でマウス耳上皮細胞の核分裂を促進する効果のある事を認め、又組織培養に於て、L 株及び Lp_1 株細胞に対しても同様に増殖を促進する事を報告した。一方、悪性腫瘍に劣らず迅速な増殖を示す組織の一つとして再生肝がある。Friedrich-Frekxa, Zaki は肝切除を行ったラッテの血清には肝核分裂を促進せしめる作用があるという。又、Blomqvist はラッテ腹腔内に再生肝或は新生児ラッテ肝の均質粥を注射すると肝核分裂数が増加し、両者の中では再生肝により強い活性があったという。久留らはラッテ再生肝抽出液の 30～70容量%エタノール沈澱分画 (S_2) 中に L 株並びに Lp_1 株細胞の増殖を促進せしめる物質がある事を認めた。

Blomqvist の行った *in vivo* 実験は全く粗な材料を用い、又その促進効果も少なく、尚検討の余地がある。著者は再生肝組織の 30～70容量%エタノール沈澱分画 (S_2) 中に *in vivo* に於てラッテの肝核分裂を促進させ、また ^{14}C オロチン酸の肝核 RNA 分画への“取り込み”を促進させる有効物質がある事を確かめ得たので報告する。

〔方法並びに成績〕

I 実験方法

1) ラッテ再生肝組織より有効物質の抽出分離

成熟雄ラッテに 2/3 肝切除を行い 48 時間後の残存肝 (再生肝) を十分に灌流したのち採取し、3 倍量の 0.85% 食塩水を加え均質化する。氷室に一晚放置後、10000 r.p.m. 15 分間遠沈した上澄 (粗抽出液, S_0) を得、これに 30 容量%になる如く冷エタノールを加え 12 時間氷室に放置後 10000 r.p.m. 15 分間遠沈して沈

渣 (S_1) 得を, 更にその上澄に70容量%になる如くエタノールを追加して, 12時間氷室放置後遠沈して沈渣 (S_2) と上澄 (S_3) を分ける。各沈渣には蒸留水を加え充分攪拌して可溶部分を, 上澄 (S_3) は減圧下にエタノールを除去せるものを夫々凍結乾燥した。又正常ラッテ肝より上述の方法にて S_0, S_1, S_2, S_3 分画を作った。更に再生肝 S_2 分画を Trypsin で消化後, このペプチッド混合物を Resin Column で酸性とアルカリ性の分画に分けた。

2) ラッテ肝細胞核分裂に対する促進効果の検討

雄の S 系ラッテを用い, 前述の分画の生理的食塩水溶解液 1 ml を腹腔内に注射後, 肝臓より小片を採取しファン氏液固定, パラフィン包埋後, 5μ の連続切片を作製, Haematoxylin 単染色を行い, 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核分裂指数とした。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, これに推計学的検討を加えた。

3) $6-^{14}\text{C}$ オロチン酸のラッテ肝核 RNA への“取り込み”に及ぼす効果の検討

屠殺 4 時間前に ^{14}C オロチン酸 $4\mu\text{C}$ を腹腔内注射し, 肝小片 1g を採取, Hogeboom & Schneider 氏法により核の分離を行い, 更に Schmidt-Thanauser 氏法に従い RNA の抽出を行い, 此の放射活性を測定し, 一方 Scheider 氏法に従い Orcinol による比色定量を行い, mg RNA 当りの c.p.m. にて表し対照群と比較検討した。

II 実験成績

1) 再生肝 S_2 分画 0.2mg 及び 2mg をラッテの腹腔内に一回注射した場合, 24時間後の肝核分裂数は対照に比して明らかな増加を認めた。

2) 再生肝 S_2 分画を12時間毎に 4 回連続注射した場合, 2mg 宛連続注射によって対照群に比べて更に明らかな核分裂数の増加が認められた。

3) 再生肝 S_2 分画の肝細胞分裂数を増加させる作用に対する種々の加熱の影響を調べると, 熱に可成り不安定で 100°C 10分以上の加熱によって活性を失うが 60°C 5分, 80°C 5分の加熱に依っては活性を失わない。

4) 再生肝 S_2 分画をセロファンチューブを用いて24時間蒸留水に対して透析した内液と外液について効果を調べると, 内液に充分効果が残る, 外液には全く効果が認められなかった。従ってこの作用物質は非透析性である。

5) 成熟ラッテの正常肝 S_0, S_2 分画にはラッテ肝核分裂数を増加させる効果が認められず, 再生 S_0 肝分画にも又殆んど効果が認められない。

6) 再生肝 S_2 分画を Trypsin で消化した後, IRC 50を通過した分画 (酸性分画) を注射した場合, 対照群に比してラッテ肝細胞核分裂数の増加の傾向を認めた。

7) 再生肝 S_2 分画を12時間毎に 4 回連続注射したラッテ群の ^{14}C オロチン酸のラッテ肝核 RNA 分画への“取り込み”は対照群に比べて26%の促進を認めた。 ($P < 0.05$)

〔総括〕

ラッテ再生肝組織食塩水抽出液の30~70容量%エタノール沈澱分画 (S_2) は in vivo に於て, 正常ラッテ肝細胞核分裂数を増加させ, また ^{14}C オロチン酸のラッテ肝核 SNA 分画への“取り込み”を促進させる。この有効物質は非透析性であるが, この効果は 100°C 10分以上の熱処理に依って失われる。

論文の審査結果の要旨

人悪性腫瘍組織あるいはラッテ腹水肝癌 (AH130) 細胞の生理的食塩水抽出液の30~70容量%エタノール沈澱分画 (S_2) には *in vivo* 並びに *in vitro* で核分裂を促進する物質が証明され、またラッテ再生肝抽出液の30~70容量%エタノール分画中にも *in vitro* で増殖促進の効果がある事が確かめられている。宇都宮はこの再生肝 S_2 分画が *in vivo* においても正常ラッテの肝細胞の核分裂数を増加させる事を確かめ、又、肝核 RNA 分画への ^{14}C オロチン酸の“取り込み”を促進する事を明らかにし得た。他方この有効物質が非透析性で易熱性であることをも確かめた。

本研究は再生肝組織中に、*in vivo* にてラッテ正常肝に作用する増殖促進物質が存在する事を証明し、またその性状を追究することによって、肝再生現象の解明に寄与したものとする。