

Title	人肝癌組織より分離した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)	小川, 孝
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28675
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	小川孝 おがわ たかし
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 549 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	人肝癌組織より分離した増殖促進物質の 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〕

コントロールされない旺盛な細胞増殖は、悪性腫瘍の最大の特性である。先に教室の相沢は、胃癌患者の肝に多くの核分裂像を認め、これを報告した。癌組織自体に核分裂を促進する物質が含まれているのではないかという推定に基いて、教室では一連の研究が行なわれて来た。即ち、福井、青木等は、数種の急速に発育した人悪性腫瘍組織及びラッテ腹水肝癌 AH130 の食塩水抽出液の30~70 容量%エタノール沈澱分画に、*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確認し、又伊藤等は、この物質が、組織培養に於て、L株及びLp₁株細胞に対しても同様の増殖促進効果のある事を示した。尾尻等は、*in vitro* に於て、正常ラッテ肝切片 DNA への¹⁴C-オロチン酸及び³H-チミヂンの“取り込み”を促進する事を認め報告した。

この物質の分離純化については、種々検討が加えられ、現段階では、その最小有効単位はペプチドを主体とするものであろうと推定されている。

以上の研究は、すべて *in vitro* の実験を用いたものであるが、この有効物質が生体内でどのような作用を持つかは非常に興味深い問題である。そこで、この有効物質が *in vivo* に於て、ラッテの正常肝細胞核分裂に及ぼす影響を検討した。

〔実験方法並びに成績〕

I) 実験方法

(1) 有効物質の抽出分離

手術で得られた人肝癌組織に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、0~5°C で 10000 r.p.m. 15分間遠沈し、その上清を粗抽出液 S₀ とした。この抽出液に冷エタノールを30容量%に加え、数時間氷室に放置後遠沈して得た沈澱を S₁、更にその上清に冷エタノールを加えて70容量

%とし、同様放置後遠沈して得た沈澱を S_2 、その上清を S_3 とした。各沈澱分画を蒸留水に溶かし、可溶部分を凍結乾燥後保存した。 S_3 は減圧下にエタノール除去後、凍結乾燥した。

(2) 正常ラッテ肝細胞核分裂促進効果の検討

生後12週（体重平均200g）の雄のS系ラッテの腹腔内に、被検分画の生理的食塩水溶解液 1ml を1回或いは5回連続注射し、最終注射24時間後、肝臓左葉より採取した肝切片を Bouin 氏液にて固定、パラフィン包埋を行なって 5μ の連続切片を作り、Haematoxylin-Eosin 染色標本を作製、 10×40 の倍率に於ける100視野中の肝実質細胞の核分裂数を計測し、核分裂像を検討した。

尚別に、生理的食塩水或いは成熟家兎正常肝の S_2 分画 1ml を注射した動物群を対照とした。

II) 実験成績

(1) コントロール実験

S系ラッテの肝細胞核分裂を週令別に観察したところ、生後8週以後の成熟ラッテには、核分裂は認められず、従って効果の判定には、正常では核分裂の殆んどみられない生後12週の動物を使用した。又、12週の動物では、生理的食塩水注射群及び成熟家兎正常肝 S_2 分画注射群の肝細胞核分裂も殆ど認められなかった。

(2) 人肝癌 S_1 , S_2 , S_3 各分画 1回注射による効果

各分画 S_1 , S_2 , S_3 0.2mg 及び 2mg をラッテ腹腔内に注射し、24時間後にみられる肝細胞核分裂数を計測した。 S_2 分画 2mg を注射した群に、明らかな核分裂数の増加をみた。

(3) 各種濃度の S_2 分画による肝細胞核分裂数増加作用の検討

S_2 分画0.2, 2, 10mgをラッテ腹腔内に1回注射し、24時間後の肝細胞核分裂数を計測した。 S_2 分画 2mg 及び 10mg 注射群に核分裂数の増加を認め、特に S_2 10mg 注射群に於て著明であった。

(4) S_2 分画 1回注射の示す肝細胞核分裂数増加効果の時間的検討

S_2 分画 10mg をラッテ腹腔内に注射し、12時間、24時間、36時間及び48時間後の肝核分裂数を夫々計測した。 S_2 分画 10mg 注射群は、夫々対照群に比し、核分裂数の増加を認めた。殊に、注射後24時間目の群に著明な核分裂数の増加をみた。

(5) S_2 分画 5回連続腹腔内注射の示す効果

S_2 分画 0.4mg 及び 2mg を24時間間隔で5回腹腔内に注射し、最終注射24時間後の肝核分裂数を検討した。0.4mg 及び 2mg 連続注射各群に、肝核分裂数の増加を認めたが、2mg 群に於て特に著明であった。

(6) S_2 分画注射群にみられる肝細胞核分裂像の検討

S_2 分画注射群にみられた肝細胞核分裂像を詳細に検討した結果、前期4%、中期73%、後期5%、終期18%で、其中25%に異常核分裂像を認めた。この異常核分裂像は、殆ど中期像にみられ、染色体の配列不整、融合が多く、Pyknomitose もみられ、又三極分裂も認められた。

他方、対照群として食塩水及び家兎正常肝 S_2 分画注射群、及び成長期にある生後5~6週の正常ラッテの肝細胞核分裂像には、全く異常核分裂像は認められなかった。

〔総括〕

人肝癌食塩水抽出液の30~70容量%エタノール沈澱分画 (S_2 分画) は、in vivo に於て、ラッテ肝細胞

核分裂数を著明に増加せしめ、又其中に、かなりの異常核分裂像が出現する。なお、正常家兎肝より得られた S_2 分画にはこの様な作用を認めない。

論文の審査結果の要旨

急速な発育を示す人悪性腫瘍組織及びラット腹水肝癌 (AH 130) 細胞の食塩水抽出液の30~70容量%エタノール沈澱分画に *in vitro* において、細胞増殖を促進する物質が含まれていることが一連の研究によって確認され、Oncotrephin と名づけられている。小川は、人肝癌より抽出したこの物質が、正常ラットの肝細胞に *in vitro* で如何なる影響を及ぼすかを検討した結果、肝細胞核分裂数を増加させる効果を有することを確かめ、また其中にかなりの異常核分裂像が出現することを認めた。

本研究は、悪性腫瘍組織に含まれる増殖促進物質が、生体内でも何らかの増殖促進に関与することを明らかにし得たもので、この物質の作用の本質の究明に対して、重要な寄与をなし得たものとする。