

Title	マイトマイシンC (MMC) のHeLa細胞に及ぼす影響映画的手法とautoradiographyによる解析
Author(s)	谷口, 健三
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29282
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	谷 口 健 三 たに ぐち けん ぞう
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 2 1 2 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 31 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	マイトマイシン C (MMC) の HeLa 細胞に及ぼす影響 映画的手法と autoradiography による解析
論文審査委員	(主査) 教 授 陣内伝之助 (副査) 教 授 芝 茂 教 授 川俣 順一

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

現在、使用されている制癌剤は、必ずしも満足すべき臨床成績を与えるものではない。このような制癌剤を、いかにすればもっとも有効に、また、副作用を少なく投与し得るかを明らかにすることは、われわれ臨床家にとって重要な研究課題の一つである。そのためには、まず制癌剤の作用機序を詳しく解明する必要がある。

さきに、教室の土井は MMC の HeLa 細胞におよぼす影響を、臨床的使用の際の成績に近い濃度条件で検討し、MMC 処理後ほぼ一世代時間の核分裂率、および、DNA 合成能の変化から、HeLa 細胞は G₁ 期後半から S 期前半にかけて高い MMC 感受性を有するのでないかと推定した。

私は、MMC 処理を受けた HeLa 細胞の形態学的変化、ことに、細胞の生死、分裂能を指標として見た場合にも、このような感受性の高い時期が存在するか否か、さらに、感受性の低いと思われる時期において MMC 処理を受けた細胞は、いかなる運命をたどるかを顕微鏡映画による長時間の観察によって検討した。さらに、MMC によって傷害を受けた細胞の DNA 合成能についても検討を加えた。

〔方法と成績〕

1) HeLa 細胞の世代時間および division cycle の推定：対数増殖期にある HeLa 細胞の増殖過程を位相差顕微鏡映画により長時間にわたって観察した。映画による観察の途中で、³H-thymidine (³H-TDR), 1 μc/ml, 1 時間の pulse labeling を行ない、撮影終了後 autoradiography を完成する。撮影されたフィルムを解析することによって、観察した細胞の世代時間を知ることができる。われわれの用いた HeLa 細胞の平均世代時間は 27 時間であった。また撮影された個々の細胞について ³H-TDR のとりこみの有無を観察し、細胞分裂後何時間以上経過すれば label されるか、また、次の細胞分裂ま

での時間が何時間以内であれば label されないか等につき検討した。その結果、HeLa 細胞の division cycle 各期の長さは、G₁ 期 12 時間、S 期 9.5 時間、G₂+M 期 5.5 時間であった。

2) HeLa 細胞の division cycle 上における MMC 処理の時期とその後の細胞の運命との関係：顕微鏡映画撮影中に、MMC 1 $\mu\text{g/ml}$. 1 時間の処理を行ない、以後薬剤を含まない培地で長時間にわたって撮影をつづけ、MMC 処理を受けた細胞がたどる形態学的変化を検討した。その結果、分裂後 15 時間以内、すなわち、division cycle のほぼ前半に処理を受けた群では、MMC 処理後 24 時間以内に死滅するものがかかなりあり、残りの大部分は 48 時間経過しても、細胞質および核の膨化、伸展が見られ、分裂することなく残存している。これに対して、15 時間より後に処理を受けた群では、MMC 処理後 24 時間以内に死滅するものはなく、約 1/3 が世代時間の著しい延長もなく分裂を行なう。しかし、一見正常に分裂を行なったこれらの細胞も、その後細胞質および核の膨化、伸展を示し、世代時間の著しい遅延を来すものも多く、なかには死滅するものもあらわれてくる。すなわち、division cycle の後半に処理を受けたものも、やはり MMC の影響をうけていることが明らかにされた。これらの結果と、先に得た division cycle 各期の長さを考え合わせると、分裂後 15 時間目は S 期のはじめ 1/3 に相当し、この時期を境として MMC の影響のあらわれ方に差があることがわかる。

3) MMC 処理を受けた HeLa 細胞の DNA 合成能について：顕微鏡映画撮影中、MMC 1 $\mu\text{g/ml}$, 1 時間の処理を行ない、その後さらに適当な時間撮影をつづけたのち、³H-TDR 1 $\mu\text{c/ml}$, 1 時間の pulse labeling を行なって撮影を終了し autoradiography を完成する。MMC 処理後 labeling までの時間を種々変化させることによって、division cycle 上の異なった時期に MMC 処理を受けた細胞が DNA 合成能に如何なる影響を受けているかを 1) で得られた結果を参考として検討した。その結果、a). G₁ 期と思われる時期に MMC 処理を受けたものは、著しい遅延なしに S 期に進行するものが多い。b). S 期の後 1/3 とと思われる時期に処理を受けた場合には、次の細胞分裂を行ない得るものがかかなり認められる。c). a) b) を含め S 期終了以前と思われる時期に処理を受けた細胞は、G₂ 期に移行している筈の時期に到っても、³H-TDR をとり込み得ることが頻繁に観察された。d). G₂ 期と思われる時期に処理を受けたものは、大部分が次の細胞分裂を行なう。そして、この結果生じた娘細胞は、著しい遅延なしに DNA 合成を開始し得るように思われる。

〔総括〕

顕微鏡映画による直接的な観察から、MMC は、その処理 (1 $\mu\text{g/ml}$, 1 時間) が HeLa 細胞の division cycle のいかなる時期になされたかに関係なく、すべての細胞に影響を与えるが、その影響のあらわれ方は、S 期のはじめ 1/3 の点を境として、処理がなされた時期により異なることが明らかにされた。

論文の審査結果の要旨

マイトマイシン C はもっともひろく臨床的に使用されている制癌剤の 1 つである。その作用機作については、DNA 合成と関係が深いことから興味ある物質として多くの研究がなされてきた。

本研究は、マイトマイシン C が臨床的に用いられる作用濃度、作用時間に近い条件では哺乳動物細胞にいかなる影響を与えるかを検討したもので、HeLa 細胞を用い、マイトマイシン C 1 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で 1 時間作用させた後の個々の細胞の変化を顕微鏡映画によって長時間観察した。その結果、division cycle のどの時期にマイトマイシン C 処理を受けたかによって、その細胞の受ける影響のあらわれ方は異なるが、処理後一旦分裂し得た細胞も、やはり障害を受けていることを認めた。また、マイトマイシン C 処理を受けた細胞は DNA 合成期に入り得るが、DNA 合成期からの脱出は著しく遅延することを明らかにした。

このことは、マイトマイシン C を臨床的に投与する場合の 1 つの指針を与えるだけでなく、その作用機序の一端を解明し得たものとする。