

Title	培養細胞コロニー形成能におよぼすマイトマイシンC およびX線の作用
Author(s)	浜田, 辰巳
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29561
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 9 】

氏名・(本籍)	浜 田 辰 巳 はま だ たつ み
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 2 3 7 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 5 月 10 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 病 理 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文名	培養細胞コロニー形成能におよぼすマイトマイシンCおよびX線の作用
論文審査委員	(主査) 教 授 芝 茂 (副査) 教 授 近 藤 宗 平 教 授 奥 野 良 臣

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

電離放射線の照射を受けた動物細胞の生存率曲線が sigmoidal になることはしばしば証明されてきた。他方 nitrogen mustard 等についても濃度に対して生存率が sigmoidal に減少することが報告されている。ところでマウスの胸腺および脾臓の退縮を指標とした場合のマイトマイシンC (以下 MMC) の線量効果曲線がX線に対するそれと相似形を呈することから、MMC の致死作用曲線も放射線と同じく sigmoidal になることが予想された。そこで MMC とX線の作用にどの程度の類似性があり、どのような差異があるか、また両者の相互作用はどのように現れるか等の問題点を単細胞培養法を用いて主にカイネティクス分析の立場から追求した。

〔方法ならびに成績〕

細胞：HeLa 細胞を用い、単細胞培養は20%仔牛血清を含む Eagle MEM を容れたシャーレに植込み、5% CO₂ を含む空気を流し、12~14日間培養して行った。得られたコロニーの内50以上の細胞数からなるコロニーを生存細胞として計数した。

MMC 処置方法：短試験管中に種々の濃度の MMC を含む培養液 5 ml と細胞10⁵ 個を入れ、一定時間37°Cで作用せしめ、薬剤を除いたあとシャーレ培養した。

X線照射方法：装置は島津製信愛号、管電圧、200kVp、管電流 15mA、浜過板 0.3mmCu+0.5mm Al、線質は半価層、0.86mmCu.、線量率 120R/min。

致死カイネティクスの分析方法：X線および MMC の致死効果は細胞のコロニー形成能失活によって判定し、その定量的記述は生存率S対投与量Dの関係を示す致死作用曲線(生存率曲線)を実験的に求めることによっておこなった。得られた曲線は実験の範囲内で次式で記述できた。

$$S=1-(1-e^{-D/D_0})^m$$

ここに m と Do は外挿値および平均致死線量とよばれるパラメーターで実験的に決定される。即ち X線および MMC の効力は m 値と Do 値を用いて定量的に表現できる。

成績：

- 1) X線に対する生存率曲線：sigmoidal type で、外挿値 m は 4.0, 平均致死線量 Do は 80R。
- 2) MMC に対する生存率曲線：30分間種々の濃度の作用を受けた細胞の生存率曲線は濃度に対して漸進的に減少し、やはり sigmoidal となる。外挿値 m は 3.8, 平均致死量 Do は $0.15\mu\text{g/ml}$ 。また MMC 濃度を $0.5\mu\text{g/ml}$ の一定とし、作用時間を変えた時の生存率曲線も sigmoidal で m 値は 7.0, Do 値は 7.8分。実験の範囲内で濃度と時間の間に相反関係が成り立つ。
- 3) MMC 前処置の X線生存率曲線におよぼす影響： $0.3\mu\text{g/ml}$ 30分の前処置を受けた細胞の X線生存率曲線は m 値 4.0, Do 値 80R。また $0.5\mu\text{g/ml}$ の場合には m 値 3.9, Do 値 80R である。即ち MMC 前処置は X線生存率曲線に影響せず、効果は両作用の積となる。
- 4) X線前処置の MMC 生存率曲線におよぼす影響：180R 前照射された場合、 m 値は 1.86 あるいは 1.94 と減少し、 Do 値は 0.15 あるいは $0.14\mu\text{g/ml}$ で薬剤単独の場合とほぼ変りない。即ち X線は何らかの機構で MMC 感受性を高めていると考えられる。
- 5) MMC の分割作用を受けた細胞の生存率： $0.5\mu\text{g/ml}$ 20分の作用を一定時間おいて 2度を受けた細胞の生存率は 4時間までは 0.05~0.06 の間にあり 20時間ではこれよりかなり低下している。X線に見られるごとき短時間の回復現象は認められない。
- 6) MMC 作用から生き残ったクローンの同薬剤および X線に対する生存率曲線： $0.6\mu\text{g/ml}$ 30分の作用から生き残ったクローンの MMC 生存率曲線は m 値 1.4, Do 値 $0.13\mu\text{g/ml}$ で親株より感受性は増大し、これに対し X線生存率曲線は m 値 7.0, Do 値 80R でむしろ抵抗性が増加していた。即ち両作用因子に対する感受性は平行して変動していない。

〔総括〕

HeLa 細胞の MMC に対する生存率曲線は X線に対すると同様 sigmoidal となる。この事は細胞内に MMC 感受性の高い重要構造体があり、ここに起るごく少数の障害で細胞が不活性化されることを示唆している。しかし MMC の障害機構は以下の理由から X線のそれと全く同じではないと考えられる。(1) MMC 前処置は X線生存率曲線の m 値にも Do 値にも影響しない。(2) MMC による sublethal な障害は短時間に回復されない。(3) 両作用因子に対する細胞の感受性は平行して変動しない。(4) 形態的にも障害された細胞間にある程度の差異がみられる。

そして感受性の高い重要構造体は DNA であろうと推測され、Szybalski 等の cross-linking 説と矛盾しない。

論文の審査結果の要旨

この研究はマイトマイシンCの細胞致死作用をカイネティックスの立場から分析し、生存率曲線がX線作用と同様に sigmoidal なることを証明するとともにその作用機構にも推測を加えている。これは今後制癌剤の未知の作用機構を推測する上に有用な方法であることを示すもので、この方面の研究に必要な文献となり得ると思う。