



Title	肝細胞膜と発癌剤との結合についての研究
Author(s)	見村, 吉弘
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29686">https://hdl.handle.net/11094/29686</a>
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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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

氏名・(本籍)	見 村 吉 弘 み むら よし ひろ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 6 5 3 号
学位授与の日付	昭 和 44 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 内 科 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	肝細胞膜と発癌剤との結合についての研究
論文審査委員	(主査) 教 授 山 村 雄 一 (副査) 教 授 北 川 正 保 教 授 坂 本 幸 哉

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

アゾ色素などの発癌剤により誘発されたラット肝癌は、正常ラット肝に比しその発癌剤と結合する細胞性成分が減少していることはよく知られている。われわれは発癌剤に対する抗体を用い、発癌過程にある細胞および癌化した細胞の発癌剤と結合する細胞性成分の推移を定量的に測定しようということを報告してきた。それによると、アイソトープ標識抗体法および蛍光抗体法により 2-acetylamino-fluorene (2-AAF) による発癌過程にある細胞は、細胞膜についてみると 2-AAF 結合性成分は減少し、2-AAF により癌化した細胞については殆んど欠如しているらしいということを推定してきた。そこで 2-AAF 投与ラット肝の single cell suspension に抗 2-azofluorenyl (2-AzF) 基抗体を作用させると細胞膜表面に結合した 2-AAF に選択的に抗体が結合するという推定のもとに、アイソトープで標識した抗体を用い細胞膜上の 2-AAF 結合性成分の定量化を試みた。更にこの系を用いて 2-AAF による発癌において、2-AAF 結合性成分が減ずるという現象が 2-AAF とは異った発癌剤であるアゾ色素による発癌過程においてもみられるかどうかを調べた。

#### 〔方法ならびに成績〕

(抗血清ならびにその精製) 2-amionfluorene をジアゾ化してタンパク質に結合させ、2-AzF・タンパク質を作成した。これを抗原として complete Freund's adjuvant を用いてウサギを 3 回免疫した。抗 2-AzF 抗体が産生されていることは radioimmuno-electrophoresis によって証明され、1 gG に属するものであった。この抗血清から immuno-adsorbent を利用して 2-AzF 基に対する抗体を特異的に精製した。この抗体の純度は immuno-adsorbent に対する再吸着率からしらべると約 60% であった。この抗 2-AzF 基抗体は  $I^{125}$  で標識した。一方正常ウサギ 1 gG を  $I^{131}$  で標識して対照として用いた。

(測定法) Sprague-Dawley 系ラット(♀)に 2-AAF を注射したのち、竹田らの方法により  $\text{Ca}^{++}$  free の Lock 氏液にて肝を灌流し、肝をとりだし single cell suspension を作製した。この liver cell suspension を先に述べた paired labeled antibody とともに一定時間  $20^{\circ}\text{C}$  で incubate したのち遠沈によりよく洗い、liver cell に吸着した radioactivity を測定した。

(成績 1) 注射する 2-AAF の量と結合する抗体量の関係は  $5\text{mg}\sim 40\text{mg}$  の 2-AAF を注射しても抗体結合量に殆んど差はなく、以後の実験においては 2-AAF  $20\text{mg}$  を注射することにした。

(成績 2) 抗体結合量と incubation time との関係を試みると、30分以上では殆んど plateau に達するので以後の実験では incubation time は30分とした。

(成績 3) 2-AAF の注射時期についてみると、皮下注射では抗体結合量は4日前に投与した時に最高値に達したが、腹腔内に注射した場合は2日前に投与した時に最高値に達したので以後の実験では2日前に腹腔内に投与することにした。

(成績 4) 細胞数と抗体結合量の関係について調べてみると、 $2.5\times 10^6\sim 2\times 10^7$  個の範囲において細胞数と抗体結合量との間に直線的な関係があり、liver tissue を  $200\text{mg}$  用いると  $1.5\times 10^7$  個位の細胞数になるので以後の実験では liver tissue  $200\text{mg}$  を用いることにした。

以上の如く 2-AAF 処置 liver cell suspension を抗 2-AzF 基抗体と共に incubate することにより抗 2-AzF 基抗体が liver cell に結合することは、2-AAF 投与により肝細胞表面に 2-AAF またはその誘導体が結合し、更にその 2-AAF に抗 2-AzF 基抗体が結合したためと考えられる。

そこで以上の実験手技により 3'-methyl-4-(di-methylamino)-azobenzene (3'-Me-DAB) 食を投与したラット肝についても 2-AAF による発癌において 2-AAF 結合性成分が減ずるという現象がみられるかどうかを調べた。

(成績 5) 3'-Me-DAB 食を4週間投与した群については、正常ラット肝に比し 2-AAF 結合性成分は80%に減少し、更に 3'-Me-DAB 食の投与を長期つづけるとその減少率は大きくなった。尚 4'-Me-DAB 食を投与したラット肝においては 3'-Me-DAB 食における程著明な減少は認められなかった。次に 3'-Me-DAB 食投与後正常食にもどしてみると、それぞれの群において正常レベルの近くまで 2-AAF 結合性成分の回復がみられた。従って 2-AAF 結合性成分に関して、発癌過程にみられる減少は irreversible な現象とは考えられないという結論がえられた。

(成績 6) 3'-Me-DAB 食を16週投与したラットに発生した hepatoma についてみると、2-AAF 結合性成分は著しく減少し、7793 Morris minimum deviation hepatoma についてもかなり減少していた。しかし Morris hepatoma をもつラットの肝はほぼ正常値を示した。

#### 〔総 括〕

発癌剤に対する抗体を用い細胞膜表面の発癌剤結合性成分を定量的に測定しうることを示した。更に一つの発癌剤による発癌過程の細胞および癌化した細胞でも、他の発癌剤に対する細胞膜結合性成分が減少もしくは、ほとんど消失していることを示した。

## 論文の審査結果の要旨

発癌機構と関連して発癌剤と標的細胞の表面膜との相互作用の重要性が指摘されている。本研究はまず従来困難視された発癌剤と細胞膜との結合量の測定を免疫学的方法を利用することにより可能にした。次にこの定量法により発癌過程における細胞膜上の発癌剤結合性成分の変動を定量的に示し、発癌機構の研究に新しい知見を加えた。