



Title	肝臓の癌化とチトクローム組成の変化
Author(s)	大柳, 善彦
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30532
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

【28】

氏名・(本籍)	大柳善彦
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 2415 号
学位授与の日付	昭和 46 年 12 月 15 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	肝臓の癌化とチトクローム組成の変化
論文審査委員	(主査) 教授 萩原 文二
	(副査) 教授 須田 正己 教授 佐藤 了 教授 堀尾 武一

論文内容の要旨

癌細胞で解糖系が盛んとなっているのは呼吸系の欠損によるためであると Warburg によって唱えられてから、癌のミトコンドリアの機能については多くの研究がなされて来た。しかしその呼吸系を構成しているチトクロームの量を知ることは、技術的な困難さから今日まで、まだ信頼し得る成績が報告されていない。

当研究室には組織よりのホモジネートやミトコンドリアの懸濁液から直接各チトクロームの定量を可能とするスプリットビーム分光光度計がある。これを用いて室温及び液体窒素低温差スペクトルをとり、蛋白量当りの各チトクローム量を求める。この方法によるとチトクロームの流出をどうしても避け得ない抽出法によらずに組織よりのチトクローム量を正確に測定することが可能である。すでに、いくつかの腹水肝癌細胞でのチトクロームの定量結果が当研究室から報告されている。その成績によると、腹水癌細胞では一般に正常な肝臓に比べて、ミトコンドリアの各々のチトクローム量は低下しており、特にチトクローム $a(+a_3)$ 量の低下が著しく、このためチトクローム $c/a(+a_3)$ 比の上昇が認められる(1.6—2.2)。そこで、この癌に見られたチトクローム組成が癌一般に共通の特性であるか、また発癌過程のいかなる時期に生ずるか等を知る目的で、主として分離したミトコンドリアを用いて仕事を開始した。

先ず、正常動物肝臓のチトクローム組成にどの程度の変動のあるものかを、通常癌研究によく用いられる 4 系統の成熟ラット肝臓について調べた所、ミトコンドリアのチトクローム $a(+a_3)$ 、 b 、 c 、 c_1 及び HP. 559 (ミトコンドリア局在性の新へム蛋白)、ミクロゾームのチトクローム b_5 と p-450 で大きな種差はなかった。ラット週令による肝臓各チトクローム量の変動は誕生前 2 日目から生後 180 日までの 7 つの時点で S D 系ラットにつき検討した。ミトコンドリアの各チトクローム量は胎児ラット肝では新生児ラットや成熟ラットよりやや低かったが、チトクローム $c/a(+a_3)$ 比は変らなかった。

ミクロゾームの2つのチトクロームはいづれも胎児で非常に低く、生後急激に増加し、30日目ぐらいからチトクローム b_5 は低下に転ずる。

癌と同じく旺盛な細胞増殖を示す再生肝はラット肝67%切除後18時間目より42日までの8時点で検討した所、癌の場合と反対に切除後18時間～2日目でミトコンドリアの各チトクローム量は上昇した。チトクローム $c/a(+a_3)$ 比は正常肝で0.8くらいであるが、18時間～7日目の再生肝では0.6～0.7であった。

AH 7974等4種の腹水肝癌を持つラットの肝及び発育のおそい Morris 7794等3種の最少偏倚肝癌を持つ宿主ラットでは、癌そのものにおける程ではないが、チトクローム組成は癌のものに近くなっていた。

0.06%のアゾ色素を含む飼料を16週間食べさせた後、普通食に戻して27週まで観察したラット肝のチトクローム組成は発癌前にすでにチトクローム $a(+a_3)$ 量の低下が見られた。この変化は強発癌性のアゾ色素3'-DABでも弱発癌性の4'-DABでも、3'-DABで肝癌が生じ始める16週目よりはるか以前の処理開始後4週目ぐらいから始まった。22週目以後ではチトクローム $a(+a_3)$ 量は正常肝の $\frac{1}{2}$ 以下となっている。この間チトクローム b 、 c_1 、 c 、HP.559の変化に大差はなく、チトクローム $c/a(+a_3)$ 比は22週および27週目では平均1.5程度となる。27週目までに発癌を認めなかった4'-DAB群でも $c/a(+a_3)$ 比が上昇していることはアゾ色素による前癌肝で、すでにチトクローム組成は癌型になっていることを示している。癌でミクロゾーム b_5 とP-450がゼロに近いことはすでに知られているが、アゾ色素前癌肝ではいづれも正常肝と大差はなかった。

3'-DAB原発肝癌ではチトクローム $a(+a_3)$ 量は正常肝の約 $\frac{1}{2}$ となっていて、 $c/a(+a_3)$ 比は1.5を越え、先の腹水肝癌細胞での $c/a(+a_3)$ 比の上昇という性格は継代により現われたものではなく、癌化そのものの反映であることが明らかとなった。

チトクローム $a(+a_3)$ の構成部分として含まれ、またヘム生合成上必要と唱えられている銅は、3'-DAB前癌肝及び多くの癌、担癌動物血清で低下していることが知られている。また3'-DABでの肝癌発生率が銅の同時投与により低下し、これは3'-DABを代謝するDAB-azoreductase 活性が銅が誘発するためであると一応説明されている。そこで、3'-DAB投与と同時に、またはその前後に酢酸銅溶液を飲ませた所、発癌率は低下し、同時にチトクローム $a(+a_3)$ 量の低下も阻害された。なお、DAB-azoreductase 活性が銅投与により上昇していたが、発癌率との並行性は認め難かった。

高蛋白飼料に3'-DABを混ぜると低蛋白飼料の時に比較して肝癌発生率は低下することも知られている。そこで種々のアミノ酸を3'-DAB飼料と同時に飲ませることを考え、L-histidine を取り上げた。このアミノ酸は銅を細胞内へ取込む最良のキャリアーとしても知られている。結果は発癌率は大いに抑制され、それに並行してチトクローム $a(+a_3)$ 量の低下も抑えられた。L-histidine のみの投与ではどのチトクローム量にも変化は生じない。

これまでの実験で癌化とチトクローム $a(+a_3)$ 量の低下との間に大きな関係のあることが解ったが、これとは別の癌組織よりの呼吸系の特長も見出された。すなわち正常肝や再生肝ではシアンにより呼

吸鎖上の各チトクロームは差スペクトルで、ほぼ100%還元型として現われるのに対して、Ehrlich 癌、3'-DAB癌、2種のMorris 肝癌等では40~70%のチトクロームb及び c_1 は酸化型になっている。この事実は植物やカビ等で知られているようなシアン非感受性のチトクローム $b \rightarrow O_2$ 、チトクローム $c_1 \rightarrow O_2$ といったバイパスの存在を考えさせられる。そこで正常肝と3'-DAB肝癌のミトコンドリアでの呼吸を酸素電極で測定し、シアンに対する感受性を比較したところ、肝癌では50%阻害に必要とするシアン量は正常肝の約2.6倍必要であった。さらに7.25mMという高シアン濃度でも肝癌ミトコンドリアの呼吸は十分抑えられず、この酸素消費はlipoxygenaseによるものでないことも確かめられた。

要約すると、肝臓の癌化に先立ちチトクロームa(+ a_3)量低下が生じ、多くの継代癌で、この癌型のチトクローム組成が認められる。他方、癌のミトコンドリア呼吸系には高等動物の正常組織では知られていないシアン非感受性の経路があることがほぼ明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

癌細胞で細胞呼吸が低下し、解糖が盛んになっている現象は古くより問題になっていたことであるが、細胞呼吸の担い手であるミトコンドリア内の電子伝達成分(チトクローム)についての研究は技術的困難が大きく、今日でも信頼に価する研究はほとんどない。

大柳君はこの研究に適した新しい型の分光光度計を用いて、種々の動物癌及び担癌動物肝、アゾ色素によるラット肝臓での発癌過程におけるチトクローム組成の変化を組織的に追求し、次のような結果を得た。

- (1) 一般に癌、前癌肝、担癌動物肝では程度の差はあっても、正常肝に比べて、チトクロームa(+ a_3)量が低下するが、チトクロームc量の変化は大きくない。
- (2) 従来、癌ではミクロゾームのチトクローム b_5 とP-450が減少することが知られていたが、これらのチトクロームは前癌肝では低下せず、癌化と共に急減する。
- (3) アゾ色素によるラット肝癌発癌率は酢酸銅またはL-ヒスチジンの投与で抑制され、それに並行して肝チトクロームa(+ a_3)量の低下が防止される。

同君は、以上のように発癌過程における生化学上重要な知見を多数得ており、理学士の学位授与に充分該当すると判断される。