



Title	発癌機構の栄養学的側面に関する研究
Author(s)	中田, 瀨
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30544
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

氏名・(本籍)	中 田 瀬
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 2575 号
学位授与の日付	昭和47年3月25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	発癌機構の栄養学的側面に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 坂本 幸哉
	(副査) 教 授 北川 正保 教 授 加藤 四郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

細胞培養系では、人類細胞をも癌化する事が知られている RNA 腫瘍ウイルスを用い、培養細胞という最も単純化された場での発癌機構を栄養学的見地から解析するのを研究の目的としている。

〔方 法〕

RNA 腫瘍ウイルスとしては、Schmidt-Ruppin 株及びBryan high-titer株のRous sarcoma virus (RSV)で、ニワトリのEmbryo cellを培養しそのsecondary cultureにウイルスを感染させて実験を行なった。培地はnormal growth mediumとしては、MEM に10% calf serum 及び10% tryptose phosphate broth を加えたものを用いた。conditioned mediumは、液体培地を変えないで embryo cell を7、8日培養し、完全に confluent になった状態の培地を集め PH だけをNaHCO₃で7.2 へもって行ったものを用いた。serum depletion の実験は、ウイルス感染後12時間だけnormal growth mediumで培養した後、MEMと10% tryptose phosphate brothだけの培地で所定の期間培養した。chick embryo cellの一細胞周期は20時間前後であった。通常、実験には、60mm plastic petri dishes (Falcon plastic)を用い、これに10⁶のchick embryo cellsをそのprimary cultureより得てseedし、1日後にRSVを感染させる。このようなchick embryo cellsのsecondary cultureは、非感染の場合、7、8日後に confluent monolayerを形成し、完全に contact inhibitionがかかる。ウイルス感染のassayは、感染後6日に、neutral redを加え、malignant transformationのcell-cluster (focus)を倒立顕微鏡を用いてcountする事による(focus formation/focus assay/focus forming unit, FFU)。核酸合成は、H₃ thymidine (DNA合成) 或はH³uridine (RNA合成)の細胞へのとり込みを、TCA insoluble fractionをNCS試薬にとり、toluene liquifluorを用いてLiquid scintillation counterで測定した。蛋白合成は、C¹⁴ leucineを用いて同様にして測定した。

〔成績〕

RNA 腫瘍ウイルス感染による発癌がウイルスの genome によって招来されたものである事を示す一つの証拠は、ウイルスの株の違いによって focus の形態に相異の認められる業である。例えば、SR-RSV では時を経ると非常に diffuse な focus がみられるが、BH-RSV では細胞相互に固くかたまつて、monolayer から腫瘤状に増殖して行く。この様に同じ宿主細胞を違った方向へ発癌の表現型をとらせる事は即ち、感染ウイルスの genome に特異的な発癌性がある事を示すものに他ならない。この様な実験的事実は、又、悪性腫瘍の metastasis を生体外で細胞学的に示すものでもある。さて、この様な RNA 腫瘍ウイルスによる発癌過程には 2 段階の存在が認められている。

第一の段階は、ウイルス genome の細胞への fixation (固定) の phase で、この過程は感染後 8～12 時間以内に完成しなければ、感染が abortive になる。この間の細胞は、DNA 合成をおこなう状態である事が必須であるが、必ずしも RNA 及び蛋白質合成の進行は必要としない。この間の事情を更に細胞の栄養生理的見地から検討した。contact inhibition をおこし、DNA 合成が停止している confluent culture に RSV を感染させると focus は殆んど現われて来ない。これがウイルスの absorption や penetration の障碍によるのではない事は、感染後 trypsinization を行つて sparse な状態で培養すると focus が発現する事からわかる。たゞ trypsinization が感染後 24 時間に遅れると focus の発現は著しく障碍される。これらの事実は、confluent culture ではウイルスのゲノムの固定を支持出来ない状態にある事を意味する。これは confluent culture の細胞の DNA 合成が低下している事と相関々係にある。confluent culture に新鮮な medium を入れると一過性に代謝が亢進し、且つ又 focus 発現が conditioned medium の 10 倍も高まる。この際、毎日 medium を新鮮なものに入れかえると更に 10 倍もの focus が発現してくる。これら 0—24 時間だけ新鮮な medium を入れたものと、その後もうくり返し新鮮化したものとは、ゲノムの固定に要する感染早期の DNA 合成は同様であるので、この focus 発現の差はとりまなおさず第二段階の存在を示すものである。medium が細胞の栄養生理状態に影響し、引いては発癌を修飾する可能性を示す事実として、serum depletion の培養条件下では sparse culture でも focus の発現が著しく低い、後刻 normal growth medium でおきかえると focus 発現がみられる事である。serum depletion では RNA、蛋白質合成が極めて低下しているが、これら細胞の栄養生理機能がゲノムの development (発現) に密接な関係をもつ事がうかがわれる。さて、confluent culture で培養を続けると如何に medium だけを新鮮なものに入れ換え続けても、sparse culture に比べて focus の発現は 2% 以下にとどまる。この事は結局 cell-crowding (細胞密度) に由来するものであろう。

〔総括〕

RNA 腫瘍ウイルス感染に基づく発癌を細胞培養系で、特に栄養生理学的観点から、ウイルスの genome の細胞への固定及びその発現機構を研究した。genome の固定は細胞が DNA 合成期にある事を要するだけで完了するが、その発現には複雑な栄養生理条件の関与が認められた。

論文の審査結果の要旨

細胞レベルではあらゆる動物細胞のmalignant transformationを招来するRNA腫瘍ウイルスによる発癌機構の解明は、人癌制御を目指す一つの重要な研究方向である。特に、感染初期の所謂eclipse phaseに於ける生化学的機構については、当教室の中田陽造等の研究で、ウイルス genomeのfixationとdevelopmentの少なくとも二つの過程を経る事が示唆され、eisburger等によって、化学発癌の際にもこの二つの段階を経る事が確認された。

中田静の主論文は、このような方向での研究を更に推進したもので、特に、細胞化学的、栄養学的観点から、未だ十分に明らかにされていなかったRSV感染系の細胞生理、cell population、medium栄養条件等について検討を加えたものであり、極めて独創的にして、医学博士の学位論文に値するものと認めた。