

Title	ラット実験肝がん (3'-Me-DAB誘導ならびに腹水肝がんAH130移殖) と $\alpha$ -Fetoprotein
Author(s)	甲田, 徹三
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/31979">http://hdl.handle.net/11094/31979</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名・(本籍)	甲 田 徹 三
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 3986 号
学位授与の日付	昭和 52 年 5 月 12 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	ラット実験肝がん (3'-Me-DAB誘導ならびに腹水肝がん AH130移植) と $\alpha$ -Fetoprotein
論文審査委員	(主査) 教授 石上 重行 (副査) 教授 天野 恒久 教授 北川 正保

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

ラットのアゾ色素誘導肝がんは一般に $\alpha$ -Fetoprotein (AFP) を産生するのに対し、この肝がんを可移植型に転換した腹水肝がん(AH) 系には AFP (一) 株があるとされている。私はこの点に注目し、自製のラット AFP・抗ラット AFP 家兔血清を用い、3'-Me-DAB 誘導肝がんラットと AFP (一) 株とされている中の AH 130を移植したラットについて、がんの発生、発育過程と AFP の産生、臓器・組織局在、また胎仔 AFP と担がんラット AFP の免疫学的差異の有無を検討した。

一方、ヒトとラットの AFP 間には交叉性があるとされている。これは、臨床検査用の抗血清の作製にラット AFP を用い得ることを示すものであるのでヒトとラットの AFP 間の共通抗原の存在の有無について検討した。

#### 〔方法ならびに成績〕

I. (1)ラット。自家繁殖の近交系ドンリュウラットの生理的変動(妊娠・分娩; 加齢)を調べ担がん実験には第 8~10週令、体重約 250~300gの雄ラットを用いた。

(2)ラット AFP・抗ラット AFP 家兔血清の分離・作製。胎仔の生理的食塩水抽出液を出発材料とした。硫酸分画(50%飽和上清→75%飽和沈査)、agar zone electrophoresis を組み合わせ、粗抽出した AFP で家兔を免疫して得た粗抗血清をさらに正常成熟ラット血清を用い、免疫吸着法で精製した。ついで、粗 AFP と精製抗血清との抗原抗体複合物を作製、酸性解離、ゲル濾過法で精製 AFP を分離した。なお、担がんラット腹水を材料とし、同様に AFP・抗血清を分離・作製し実験に用い得ることを確かめた。

(3) AFP の検出はゲル内免疫拡散法, 定量は single radial immunodiffusion 法, 臓器・組織局在は免疫蛍光抗体直接法を用いた。

II. 実験肝がんと AFP。(1)3'-Me-DAB 誘導肝がん。0.06% 含有飼料を 6 カ月間与えた。

(a)血清・尿 AFP 濃度の消長は 2 相性を示し, 第 4~7 週 (肝におけるいわゆる oval cell の増生期) と第 10 週以後 (肝がん発現期) に検出する。濃度は発がん期に高く, 特に 4 カ月以後上昇, 6 カ月後の値は血清, 88.7mg/dl (平均, 以下同じ); 尿, 6.0mg/dl; 腹水, 55.0mg/dl である。(b)免疫蛍光抗体法で肝の oval cell, がん細胞, また腎糸球体係蹄壁と推定しうる部位に特異蛍光を認める。

(2)AH 130。(a)皮下移植 (細胞数約  $1.4 \times 10^8$  個) 6 日後より血中に AFP を検出, 10 日以後顕著に上昇する。腫瘍死直前の 35 日後の AFP 値は血清, 182.9mg/dl; 尿, 5.0mg/dl; がん乳, 860.0mg/dl である。(b)腹腔内移植 (細胞数約  $1.4 \times 10^7$  個) 4 日後より血中に AFP を検出, 8 日以後顕著に上昇する。腫瘍死直前の 14 日後の AFP 値は血清, 84.4mg/dl; 尿, 2.0mg/dl 腹水, 80.0mg/dl である。(c)免疫蛍光抗体法でがん細胞, 腎に特異蛍光を認める。すなわち, AH 130 は明らかに AFP(+) 株である。

III. 胎仔 AFP と担がんラット AFP の比較。胎仔或は担がんラット AFP を免疫原として得た抗血清のいずれに対しても Ouchterlony 法では胎仔 AFP, 担がんラット血清・腹水・尿・がん乳由来 AFP はいずれも同一反応を示す。しかし, 免疫電気泳動法では担がんラット AFP は  $\alpha$ -グロブリン領域に単一の沈降線を示すのに対し, 胎仔 AFP は主沈降線とさらに  $\beta$ -グロブリン領域に 1 本の additional line を示し, これは  $\alpha$ -グロブリン領域で spur を形成する。この胎仔 AFP は 4°C 30 日間保存 (保存 AFP) したものであるので, 分離直後の胎仔 AFP について検討した。

IV. 分離直後の胎仔 AFP (新鮮 AFP)。全胎仔或は肝除去胎仔由来新鮮 AFP の免疫電気泳動像は主沈降線のみで, また 56°C, 30 分加温標品の沈降線は  $\beta$ -グロブリン領域まで延長するが spur 形成はない。そこで, 保存標品中に混在したと考えられる蛋白分解酵素による消化の影響を検討した。

V. 新鮮 AFP の蛋白分解酵素による部分消化。(1)パパイン (AFP 濃度の 1/25 量) 消化 60~90 分の標品の免疫電気泳動像は保存 AFP のそれによく類似する。120 分ではほとんど消化され沈降線は認め得ない。(2)トリプシン (AFP と等量), (3) $\alpha$ -キモトリプシン (AFP の 2/5 量), (4)細菌プロテアーゼ (AFP の 1/10 量) の影響もパパインの成績と同じである。担がんラット AFP についても同様の成績を得た。

VI. ヒト AFP とラット AFP の比較。原発性肝がん患者剖検例の肝に FITC 標識抗ラット AFP 血清, ラット腫瘍組織に FITC 標識抗ヒト AFP 血清を反応させても特異蛍光は認めない。Ouchterlony 法で肝がん患者腹水は抗ラット AFP 血清に, 担がんラット腹水は抗ヒト AFP 血清と反応しない。すなわち, 共通抗原は存在しないと考える。また, 蛋白分解酵素処理ヒト AFP の免疫電気泳動像は沈降線の延長を示すのみで spur の形成は認めない。

[総括]

1. 3'-Me-DAB 誘導肝がんラット血清・尿 AFP 濃度の消長は肝の組織変化に対応して 2 相性を示す。肝の oval, call, がん細胞, また腎糸球体係蹄壁と推定しうる部位に特異蛍光を認める。

2. AH 130 移植ラットの血清・尿・腹水中に AFP を検出し、その濃度は腫瘍の発育或は腹水の増加にほぼ平行して上昇する。がん乳中にも証明する。がん細胞、腎に特異蛍光を認める。
3. AH 130 は明らかに AFP 産生株であり、AFP の採取材料として有用である。
4. 胎仔 AFP と担がんラット AFP とは免疫学的に差異を認めない。また、蛋白分解酵素による消化の影響もほぼ同じである。
5. ヒト AFP とラット AFP との間には共通抗原は存在しない。また、蛋白分解酵素による消化の影響は異なる。

### 論文の審査結果の要旨

著者は(1)ラット腹水肝がん AH 130 は  $\alpha$ -Fetoprotein (AFP) 産生株であり、3'-Me-DAB 肝がんの成績によく対応する、(2)これらの担がんラット AFP と胎仔 AFP とは免疫学的に差はなく、蛋白分解酵素処理の成績も同じである、(3)ヒト AFP とラット AFP との間には共通抗原は存在しない、また蛋白分解酵素処理の成績は異なる、ことを明らかにした。

すなわち、本論文は「実験肝がんと AFP」の研究に新知見を加えたものであり、とくに AH 130 株より AFP を容易に採取し得ることは AFP の基礎的研究の進展に寄与する所大なるものがあると考へる。

よって、学位論文の価値あるものと認定する。