Osaka University Knowledge Archive

Title	実験肝癌発生過程に出現する諸病変及び人肝における諸病変の細胞増殖活性に関する検討
Author(s)	山田, 毅
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38565
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【134】

氏　　名	山　田　　毅（やま だ つよし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　11117　号
学位授与年月日	平成6年2月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	**実験肝癌発生過程に出現する諸病変及び人肝における諸病変の細胞増殖活性に関する検討**
論文審査委員	（主査） 教授　森　武貞 （副査） 教授　鎌田　武信　　教授　青笹　克之

論文内容の要旨

【目　的】

実験肝癌発生過程において出現するfoci, nodulesの細胞増殖活性をautoradiography, 核DNA定量, c-myc gene productの発現により解析検討した。また，人肝におけるadenomatous hyperplasia, liver cell dysplasia, 肝硬変の細胞増殖活性を核DNA量より解析し，これらの病変の前癌性について検討した。

【方　法】

①実験動物：Wistar系雄ラットに0.06％3'-Me-DABを投し，foci, nodules, 肝癌を作成し，次の3群に分けた。A群；3'-Me-DABを12, 16, 20週間投与後直ちに屠殺（16匹）。B群；3'-Me-DABを12, 16, 20週間投与後，2週間基礎食を摂取させ屠殺(13匹)。対象群；基礎食のみで4-25週間飼育したもの（10匹）。②antoradiography：屠殺する49, 29, 5時間前にmethyl-^{3}H-tymidineを腹腔内注射した。屠殺後，薄切切片（4 μm）を原子核乳剤でcoatingし，現像，定着した後H. E染色し，標識率を算出した。③核DNA量測定：120-150 μmの厚切切片より単離細胞塗抹標本を作成した。DAPIによりDNA染色を行い，落射式顕微蛍光測光装置を用いて核蛍光量を測定し，核DNA量ヒストグラムを作成した。④γ-GTP組織化学：fociを正確に同定するために行った。Rutenburgの方法に準じた。⑤免疫組織化学：human c-myc gene productに対する抗血清R5452を用い，ABC法で行った。⑥人肝組織における核DNA量：外科的に切除された肝癌5例，adenomatous hyperplasia（AH）5例，liver cell dysplasia（LCD）5例，肝癌合併肝硬変4例，開腹肝生検で得られた肝癌非合併肝硬変4例，正常肝1例を対象とした。それぞれの病変の核DNA量ヒストグラムを作成した。

【成　績】

①発癌過程の組織学的所見：3'-Me-DABを12週間投与したラットではA, B群ともにγ-GTP陽性の多数のfociを認めた。fociは周囲組織との境界が不明瞭で，H. E. 染色のみで正確に同定することは困難であった。16週になると周囲組織への圧排像が認められるnodulesが出現し始め，20週ではA, B群すべてのラットに肝癌の発生を認めた。②foci nodulesの数と大きさ：大きさは直径（長径と短径の平均値）で表した。fociの数と大きさはそれ

ぞれA群；38.5±1.5個／㎠，0.65±0.02㎜，B群；26.7±1.6個／㎠，0.69±0.03㎜（mean±SE）であり数はB群において有意に減少（p<0.01）していたが，直径はB群の方が大きい傾向にあった。nodulesはその数に非常に少なく，A群；1.36個／匹，B群；2.15／匹でありB群に多い傾向にあった。直径はA群；2.01±0.18㎜，B群；2.08±0.15㎜(mean±SE)で両群間に差は認められなかった。③各表変の標識率(labelingindex)：foci, nodules, 肝癌の標識率はそれぞれA群；2.11±0.28%, 10.06±1.61%, 17.5±1.37%，B群；5.60±0.60%，7.52±1.53%, 21.2±1.14%（mean±SE）であった。A群においてfoci, nodules, 肝癌の順に有意に上昇（p<0.01）していたのに対し，B群ではfoci, nodulesと肝癌との間に有意差（p<0.01）を認めたものの，fociとnodulesとの間に差を認めずnodulesの方がfociよりも高い傾向にあった。fociにおいてB群の方がA群よりも有意に上昇（p<0.01）していたが，nodulesではB群のほうが低く，肝癌ではB群の方が高い傾向にあった。対象群は0.15±0.01%であった。④各病変の核DNA量：foci, nodules, 肝癌のいずれも2Cにピークをもつパターンを示した。肝癌では中間値に有する細胞の数が増加していたが，foci, nodulesとの間に差を見いだすことはできなかった。⑤c-myc gene-productに関する免疫組織学的検討：A群のfociは返縁に強く染色されるのに対し，B群のfociでは辺縁に弱く染色されるものが多くなっていた。nodulesでは両群とも弱陽性の細胞が全体に散在していた。肝癌においてはほとんど染色されなかった。⑥人肝組織における核DNA量：肝癌は中間値をもつ細胞が多く旺盛な増殖活性を示した。AH, 肝癌合併肝硬変はよく似たパターンを示した。即ち，2Cにピークをもち中間値を有する細胞は少なかった。肝癌非合併肝硬変も2Cにピークをもつパターンを示したが，中間値を有する細胞はほとんど認められなかった。LCDは2C細胞が減少し，4C, ポリプロイド細胞が増加していた。正常肝は肝癌非合併肝硬変のパターンとよく似ていた。

【総　括】

foci, nodulesともに前癌性を有していたが，c-myc gene発現の面からは前者のほうが増殖活性が強く，前癌病変である可能性が示唆された。また，adenomatous hyperplasia, 肝癌合併肝硬変ともに同様の増殖活性を示し，前癌病変である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は，ラット実験肝癌の発生過程で出現する過形成巣，過形成結節の増殖活性と，ヒト肝組織に見られるadenomatous hyperplasia, liver cell dysplasia, 肝硬変の増殖活性を解析したものである。^{3}H-thymidine標識率，核DNA定量，c-myc遺伝子産物の発現などから細胞増殖活性を解析した結果，過形成結節は持続的に増殖している細胞集団であると結論された。過形成巣には，発癌剤の投与を中止すると縮小もしくは消失するものと，発癌剤の投与を中止しても持続的に増殖しているものがあり，後者の過形成巣は，過形成結節とともに前癌病変である可能性が示唆された。また，ヒトにおいて，adenomatous hyperplasia, 肝癌合併肝硬変は他の病変よりも増殖活性が高く，前癌性を有していると考えられた。さらに，増殖活性，形態よりみてadenomatous hyperplasiaと過形成結節，肝癌合併肝硬変と過形成巣という対応が示唆された。これらの知見は肝病変の前癌性を考える上で重要であり，学位に値するものと認める。