

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38565">https://hdl.handle.net/11094/38565</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"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	山田 毅
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 1 1 1 1 7 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)。②autoradiography: 屠殺する 49, 29, 5 時間前に methyl-<sup>3</sup>H-thymidine を腹腔内注射した。屠殺後, 薄切片 (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 ;  $38.5 \pm 1.5$ 個/cm<sup>2</sup>,  $0.65 \pm 0.02$ mm, B 群 ;  $26.7 \pm 1.6$ 個/cm<sup>2</sup>,  $0.69 \pm 0.03$ mm (mean $\pm$ 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 ;  $2.15$ 個/匹であり B 群に多い傾向にあった。直径は A 群 ;  $2.01 \pm 0.18$ mm, B 群 ;  $2.08 \pm 0.15$ mm (mean $\pm$ SE) で両群間に差は認められなかった。③各表変の標識率 (labeling index) : foci, nodules, 肝癌の標識率はそれぞれ A 群 ;  $2.11 \pm 0.28\%$ ,  $10.06 \pm 1.61\%$ ,  $17.5 \pm 1.37\%$ , B 群 ;  $5.60 \pm 0.60\%$ ,  $7.52 \pm 1.53\%$ ,  $21.2 \pm 1.14\%$  (mean $\pm$ 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  $0.15 \pm 0.01\%$  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。<sup>3</sup>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。