

3~4カ月人胎児皮膚を用い Leighton (1951) の sponge-matrix method により器官培養を試みた。培養液には YLH sol. (10% horse serum) および Eagle's medium (25% cow serum, 10% chick embryo extract) の2種類を使用した。

前者によれば培養1カ月目においても表皮細胞層は良好に保たれ、細胞分裂像を認めながら分化の徴はない。

他方 Eagle's medium を用いた実験では細胞増殖も活潑で、さらに培養5日目にはすでに有棘細胞および顆粒細胞が認められた。

以下 Eagle's medium を用いたときの所見であるが、 ^3H -thymidine を用い ARG (autoradiogram) を stripping film technique で作製して培養7日後の DNA 合成細胞をみると labelled cell は basal layer および supra-basal-layer に認められ、その cell compartment は比較的明瞭である。このさいたとえば lower temperature とか injury 等による cell cycle の synchronization がないならば labelling index (LI) は約 30% であるので、一応 synthesising time (Ts) を 7 時間と推定すると generation time (Gt) = $\frac{100}{\text{LI}} \times \text{Ts}$ より Gt は 23hr 位と考えられる。

また labelled cell の migration を時間的に追跡すれば life span の測定も可能と思われる。2, 3 の labelled amino acid をいずれも 8 時間 incorporate させて培養5日目の表皮におけるアミノ酸代謝を検討してみたところ ^3H -glycine および ^{35}S -cystine の ARG では顆粒層、有棘層、基底層の全層にわたって grain は認められるがとくにその上層は著明である。 ^3H -tyrosine および ^3H -methionine においてはやはり全層にわたっているが、顆粒層、有棘層の上中層がその下層に比しやや強い程度であり ^3H -valine および ^3H -leucine においては均等に grain は分布して強弱は認められない。

*

108. ^{15}N -Glycine の臓器別とりこみについて

○山田義晴 林 四郎 玉熊正悦 石川浩一
(東京大学石川外科)

昨年の本学会において、肝および骨格筋における核酸代謝の実験的熱傷後の変動を、 ^{32}P のリボ核酸へのとりこみ方から検討した成績を報告したが、今回は安定同位元素ではあるが、同様な熱傷実験を行ない、臓器別にたんぱく成分への ^{15}N -glycine のとりこみについてえた成績を報告する。26 atom% excess の ^{15}N -glycine 10% 溶液 1ml を DDY 系雄ハツカネズミの腹腔内に注入し、注入

後 8 時間、24 時間、72 時間目に断頭脱血し、ただちに肝、脾、腎、腸粘膜、大腿筋からたんぱく成分を 5% トリクロロール酢酸により抽出し、マイクロキエルダール法、パルナスの装置にて処理後、それぞれの ^{15}N 濃度を日立質量分析計 RMI-2 型により測定した。注入後 8 時間目の値で比べると、 ^{15}N とりこみは腸粘膜、脾、肝、腎、骨格筋の順に少ない。 ^{15}N 注入後の時間的経過に従って減衰してゆく割合は腸粘膜、脾では急であり、それに比べ肝、腎ではゆるやかである。一方 ^{15}N とりこみが著しく低い骨格筋では、時間の経過とともに ^{15}N とりこみは逆に増加する。次に昨年報告した方法と同じ実験的熱傷を与え、熱傷後 1 時間、6 日および 14 日目に対照と同じ方法で ^{15}N -glycine を注入し、 ^{15}N とりこみを計測した。熱傷前後では、各組織における注入後の時間的経過に従って減衰、あるいは増加する ^{15}N とりこみのパターンに差は認められない。肝では、熱傷 1 時間後注入群ですでに ^{15}N とりこみは亢進しており、6 日後注入群ではさらに顕著となり、14 日後注入群ではじめて対照と同じ値にもどる。脾、腎、腸粘膜では、熱傷 1 時間後注入群の ^{15}N とりこみは対照と差なく、脾では、熱傷 6 日および 14 日後注入群の ^{15}N とりこみは亢進している。これに対し骨格筋では、熱傷 1 時間および 6 日後注入群における ^{15}N とりこみは著しく抑制され、14 日後注入群ではじめて対照と同じ値にもどる。以上の成績は ^{32}P のリボ核酸へのとりこみからえた成績と軌を一にしたもので、各臓器組織がそれぞれ特徴のある代謝反応を示しうることを明らかにした成績と考える。

質問：水野登夫(東京大学分院林田外科) ①小腸粘膜の剝離の方法はどうか。②小腸の各部により ^{15}N -グリシンのとりこみが違うがその点を研究されたかどうか。

答：山田義晴 ①腸管を生食ガーゼの上に開いて固定し、鋭利なカミソリでそぎとった。同時に顕微鏡検査を行なった結果からもこの方法では筋層をまったく含んでいないことが示された。②1匹からの収量を多くし、それぞれの ^{15}N 濃度を別々に測定するために、小腸全長の粘膜をそぎとった。

質問：田中 茂(放医研) 血清たんぱくへの取り込みはみられなかったか？

質問：金子昌生(名古屋大学放射線科) ① ^3H -thymidine の培養液に加えられた量はどの位か。②培地内に入血清を用いられたことがあるか。③同じ培地に HeLa 細胞の培養をされたことがあるか。

答：田中利彦 前回までにすでにのべてあるので方法

の詳細は省いたが ^3H 核酸前駆物質は $2\mu\text{c}/\text{cc}$ で仔牛の血清 $\frac{1}{10}$ を含む。material は人悪性腫瘍である。

答：山田義晴 体重 20g 前後の雄ハツカナズミを使用したので、断頭脱血によりえられる血清量が少なく、検討しなかった。

*

109. ^3H 核酸前駆物質の In Vitro Labelling 法による臨床的应用 (第4報)

○田中利彦 伊東乙正 松井謙吾

菅原正敏 小野 慈

(横浜市立大学放射線科)

われわれはすでに人悪性腫瘍の核酸合成能を検索する目的にて in vitro で ^3H 核酸前駆物質を labelling させる方法で扁平上皮癌と腺癌の50例について摂取率を検し labelling index は thymidine はそれぞれ12%と10%, cytidine はそれぞれ75%と65%であった。またこれらの腫瘍の放射線照射による time-dose relationship をも合わせて報告した。現在までのところでは検索が終るまでに4~5週を要しその大部分が曝射に要する時間で組織学的検索に比し autoradiogram の結果がえられるまでにかなりの時間的遅れを余儀なくされた。一方放射線感受性と labelling index との相関がわれわれの研究でも Veenma 等の研究においても示唆されており速やかに autoradiogram による判定をうることは臨床的に利するところ大であろうと考える。

今回は medium を YLE と Eagle につき比較検討した。

エールリッヒ腹水腫瘍の in vitro labelling による ^3H -thymidine ($4\mu\text{c}/\text{mM}$) $2\mu\text{c}$ 混入の細胞1個当りの grain count の頻度分布は Eagle で半数は40個以上であるのに比し YLE は5~10個が約半数であり明らかに in vitro labelling が有効に行なわれたこととなり、いいかえれば曝射時間の短縮が可能となる。また使用同位元素の減量も可能となる。一部人腫瘍についても YLE, Eagle を同一腫瘍で比較し、その結果もほぼ同一の結果をえた。

*

110. アロキサン糖尿家兎における Cholesterol の代謝

浅越嘉威 中本彰司 ○島雄道朗

(鳥取大学浅越内科)

糖尿病、とくにアロキサン糖尿動物のような急性糖尿病においては著明な hypercholesterolemia が存在する。

そこでアロキサン糖尿家兎を用いて cholesterol-4- ^{14}C を血中に投与し、負荷した cholesterol の消失速度とエステル化速度とを比較するとともに acetate-1- ^{14}C を同様に血中に投与し、その cholesterol (エステル型、遊離型) への転換速度を血清および組織(肝、腸、腎、大動脈)について比較検討した。また、cholesterol の代謝に関与すると思われる2,3の酵素活性について実験した。

1) Cholesterol-4- ^{14}C を投与した場合: cholesterol-4- ^{14}C を耳静脈より注入後経時的に48時間にわたって採血し分離した血清からクロロホルム、メタノール混液で抽出した脂質について silica-gel column chromatography で cholesterol (エステル型、遊離型) を分離し、そのおのの画分について放射能を測定するとともに Bloor 法により比色定量した。

血中に投与した放射性 cholesterol は対照群では時間とともに減少し48時間後にはその50%が、アロキサン群では20%が消失した。一方、放射性 cholesterol ester の maximum specific radioactivity は対照群では16時間後に、アロキサン群では35時間後にみられた。

2) Acetate-1- ^{14}C を投与した場合: acetate-1- ^{14}C (0.2mc) を耳静脈より投与後、血清中に出現する cholesterol (遊離型) の maximum specific activity は対照群では6時間後と、アロキサン群では9時間後にみられ、以後両群とも直線的に下降した。また cholesterol ester の specific activity は両群ともほとんど同様で24時間以内では緩徐に上昇した。24時間後に採取した組織中の放射性 cholesterol はアロキサン群では肝臓がとくに低かったが腎、大動脈においては大差はなかった。

3) Cholesterol 代謝に関与する2,3の酵素活性: 7-dehydrocholesterol から cholesterol への転換酵素 Δ^7 -steroid reductase の活性を比較するとアロキサン家兎肝では酵素活性の低下、および NADPH 生成系の欠陥が大きいように思われた。また cholesterol から 7α -hydroxy cholesterol への転換酵素と考えられる 7α -hydroxylase の活性は両群とも大差はなかったが、アロキサン家兎肝では NADP-G-6-P の添加によっても活性の増大が少なかった。

答：島雄道朗 甲状腺機能低下症では cholesterol から胆汁酸への分解が障害されているため hypercholesterolemia が存在すると考えられる。

質問：田中 茂(放医研) 高コレステロール血症の場合、人間では腸管からの吸収の問題となるが、家兎ではいかがか。