

卵巣の Leydig cell tumor の 27 才女子 1 例につき追加測定した。

正常男子老人 3 例の DHA の一日分泌量の平均は $2.6 \pm 0.9 \text{ mg/day}$ で正常成人男子 4 例のそれに比し 2% の危険率において有意の低値を示した。副腎皮質腫瘍の症例では DHA および DHAS の一日分泌量はそれぞれ 44.4 mg/day , 14.5 mg/day で正常女子 4 例の平均に比しかなりの高値を示した。卵巣腫瘍の症例では DHA の一日分泌量は 90.9 mg/day で正常女子 4 例の平均に比し著しい高値を示した。本症例については前回発表した同じ方法により testosterone の urinary production rate を測定し $1,970 \text{ mg/day}$ という非常に著しい高値をえた。本症例は顕著な男性化症状を呈しこれは卵巣の Leydig cell tumor よりきわめて大量の testosterone が分泌されていたためと考えられる。

一方 DHA-S の血漿中濃度, metabolic clearance rate (MCR) および blood production rate (BPR) を Conrad らの方法および Tait らの解析式を用いて正常人につき算出測定した。正常男子 5 例の血漿濃度の平均は $206.0 \pm 37.6 \text{ kg/100ml}$ で正常女子 3 例のそれは $254.0 \pm 34.0 \text{ kg/100ml}$ であった。正常男子 3 例の MCR の平均は $1.69 \pm 0.40 \text{ L/day}$ で BPR のそれは $3.62 \pm 0.86 \text{ mg/day}$ であった。以上のように今回測定した DHA-S の BPR の平均はさきに教室で測定した Urinary Production Rate と一致した傾向を認め、また DHA-S の血漿中濃度の平均も Conrad らの値とほぼ一致した値をえたが MCR は Gurpide らの値より低値でありなお症例を追加して検討中である。

*

VI. 代 謝

52. 胞胚の Autoradiography

林 基之 岩城 章 間壁さよ子 平川 舜
(東邦大学産婦人科)

哺乳類卵の代謝研究法として autoradiography は重要な方法であって、 ^3H -thymidine, ^{35}S -methionine その他数種の isotope を使用した業績が報告されているが、その大部分は卵胞卵に関するものであって受精卵については稀である。その理由として受精卵の組織切片を作製することが技術的にむずかしいためと考えられる、われわれは Moog 等が家兔胞胚に行なった切開、伸展法を応用し、簡単に明瞭な autoradiograph を得ることができた。

〔実験方法〕 4~7 日の家兔胞胚を $0.1 \sim 50 \mu\text{C/ml}$ の ^3H -thymidine 含有の培養液中で 1 時間培養し、無水メタノールで固定後、Moog の処理法を施し花卉状に切開伸展する。サクラ NR-M2 で dipping 法を行ない、感光時間は 1 週間前後である。

〔実験成績〕 ① $0.1 \mu\text{C/ml}$ の ^3H -thymidine 量で trophoblast 細胞に明瞭な取りこみが観察できるが、 $0.25 \sim 0.5 \mu\text{C/ml}$ が最適と思われる、しかしいわゆる collapse を起した胞胚には uptake されない。

② 4~9 日までの胚令による labeling index にはほとんど差を認められなかった。

③ 生食中で 1 時間培養すると collapse の状態となりま

ったく取りこまれない。しかし、Hanks, Eagle, YLE, TCM 199, TCM 199+30% 仔牛血清で培養例の LI はそれぞれ 66, 74, 76, 81, 80% である。

④ 血清添加 TCM 199 および Eagle 中で培養し 3 時間ごとに LI を検討すると 18 時間までは両者に差を認めないが、その後 Eagle 使用時には LI が減少し 30 時間では 0 になる。しかし血清添加 TCM 199 で培養例では 70~80% を示しほとんど変化しなかった。

⑤ 桑実胚と異なり胞胚が medium 中の物質を積極的に利用することが実証された。

*

53. 細胞回転における G_1 , S および G_2 時間の直接測定法

土屋 純 佐川尚夫 前川 正
(群馬大学第 2 内科)

細胞の増殖サイクルの各期の時間は主として ^3H -thymidine (^3H -TαR) を用いた autoradiography で解析され、種々の分析法が考案されている。中でも mitosis chase method は広く用いられ優れた方法である。しかし 2 種以上の細胞よりなる細胞系では autoradiogram の上で核分裂像を区別することはむずかしく、かつまた単一細胞系でも構成細胞各期の時間のバラツキが多い場合は、S 時間の測定は正確とはいいがたい。G 時間の測定は通常

generation time から S, G₂ および M 時間の和を減じた値をもってしている場合が多い。Puck らは *in vitro* で分裂阻害剤と ³H-TdR との連続処理で G₁ 時間の直接測定を試みている。われわれは *in vivo* で分裂阻害剤として colcemid を連続的に投与し、G₁, S および G₂ 時間を直接測定する方法を考案したので報告する。

① S および G₂ 時間の測定法: ³H-TdR および colcemid を同時投与後、colcemid のみ連続的に作用させて、分裂間期細胞について標識細胞と非標識細胞の比率を経時的に追跡した。なお colcemid は体重 1kg 当り 1mg の割合で 4 時間ごとに投与した。その比率は pulse labeling 時には (S 期の細胞数 / (G₁ + G₂)) 期および dormant stage の細胞数) となり、ana-telophase の時間後いったん下降した比率は上昇して peak となり、以後直線的に減少し零となる。上昇の peak までの時間が平均 G₂ 時間、peak より零になるまでの時間が S 時間と考えられる。

② G₁ 時間の測定法: ³H-TdR を 1 時間ごとに投与すると共に、colcemid を連続的に作用させ、非標識細胞比率の経時的変動を追求した。その比率は時間の経過とともに略々直線的に減少し plateau に達する。一定値に達するまでの時間は G₁ 時間と ana-telophase に要する時間の和となるが、後者は短時間であるので G₁ 時間とみなしうる。なお①②の方法が成立するためには増殖サイクルが、G₁ → S → G₂ → M を通じて常に一定の rate ですすむことおよび観察期間中構成細胞の比率が不変であるという仮定が必要である。

*

54. 細胞内への Labeled Pyrimidine の転入

菱田豊彦 気賀正己
(昭和大学放射線科)

DNA-thymidine の生合成の過程には 2 種類ある。いずれも thymidilic acid (TMP) の合成をへて行なわれる。一方は外因性の thymidine (TdR) の磷酸化により、他方は deoxycytidilic acid (dCMP) が脱アミノされ dUMP になり、さらにそれがメチル化されて TMP になる過程である (endogenous)。

TdR は DNA-T に特異的に転入されるので、この放射性物質は DNA 合成の効果をみるのに都合よいとされ、たくさんの実験者により試みられている。

しかし外因性のチミジンの DNA への転入は、TMP の他の道の変動によって影響されるであろう。dUMP から TMP への供給が減少すれば、外からの TdR の転入が

増加する可能性が考えられる。

これらの点を考慮に入れて、外部からのチミジンおよびその類似物質 (analogues) のとり込みの状態をみた。

放射線前駆物質 (TdR-¹⁴C, BUdR-¹⁴C, ¹³¹I-UdR) を酵母の細胞懸濁液の中に入れ、その一定量を経時的にとりだし、細胞または DNA を抽出して、細胞または DNA の放射能を測定した。

アミノプテリン (または 5FU) は dUMP のメチル化を抑制するとされているので、これらのもので核酸合成を抑制した細胞についても、同様に実験した。

aminopterin (または 5FU) で抑制されている細胞では TdR-¹⁴C の細胞内 DNA への転入は control より増大している。ほかの標識 TdR 類似物質の細胞内転入も同様に対照群より増大する。また X 線照射の場合もまったく同じ傾向を示した。

これらの結果から、aminopterin (または 5-FU) 抑制または X 線照射によって、TMP の生合成過程が抑えられたためかえって、外部からのとり込みが増大したものと考えられる。したがって標識されたチミジンの取り込みがそのまま DNA 合成の指標にならないだろう。

*

55. ³H-葉酸を用いての葉酸代謝の研究

外林秀紀 吉野俊昭 石原象二郎
本多靖夫 城戸久隆 脇坂行一
(京都大学脇坂内科)

投与された葉酸 (FA) の生体における代謝を追求する目的で ³H-FA 注射後の白鼠の肝臓あるいは人尿から葉酸誘導体を DEAE, セルローズカラムで分離し、おのおの誘導体における L. casei および P. cerevisiae による微生物学的活性と放射性を測定し、投与された ³H-FA の活性型への転入、排泄等を観察した。

正常食飼育白鼠肝における FA 誘導体の分布は ³N-methyl tetrahydrofolic acid (³N-CH₃ THF) が大部分を占め、小部分の ¹⁰N-CHO THF, 1 部 ⁵N-CHO THF, および微量の THF であるが、FA 欠乏食飼育白鼠に ³H-FA 1mg/kg b.w. 腹腔内に投与し、24 時間後の肝では、微生物学的活性は正常食飼育白鼠の場合と同様であり、投与 FA そのものの活性はほとんど認められなかった。放射活性は主として ³N-CH₃ THF, ¹⁰N-CHO THF, 1 部 ⁵N-CHO THF, THF, ^{5,10}N-CH₂ THF に認められた。なお、微生物学的活性のない分解産物と思われる 2 個の放射活性が認められた。