

generation time から S, G₂ および M 時間の和を減じた値をもっている場合が多い。Puck らは *in vitro* で分裂阻害剤と ³H-TαR 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-TαR 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-TαR 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。

FA 欠乏食飼育白鼠に 10mg の amethopterin を筋注 1 時間後に ^3H -FA を注射し 24 時間後の肝臓では ^5N - CH_3 THF に少量, ^5N -CHO THF, THF に微量の放射活性があり, FA そのものの活性も認められた. すなわち投与の活性型への転換は著しく阻止された. なお, FA 分解産物と思われる 2 つの放射活性は認められなかった.

人において, ^3H -FA を 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. 静注し, 3 時間に排泄された尿を potassium ascorbate を含んだ褐色ビンに採り, ただちに pH6.0 に, および ascorbate が 1% になるように調整した後に, カラムで誘導体を分離した. 放射活性は FA がもっとも高く, ^{10}N -CHO THF に一部および ^5N - CH_3 THF に微量であった. さらに未同定の分解産物と思われる 2~3 の活性を認めた. 一方, 微生物学的活性は FA がもっとも高く, 次いで ^5N - CH_3 THF, さらに ^{10}N -CHO THF では軽微であった. すなわち, 排泄された ^5N - CH_3 THF は微生物学的活性では尿の全活性のかなりの部分を占めるが, 放射活性は低い. このことは排泄された ^5N - CH_3 THF は主として体内既存のものであり, 投与 FA 由来のものは少ないと考えられる.

*

56. 外科領域における五炭糖輸液について

玉熊正悦 小泉澄彦 山田義明
中山夏太郎 荷見秋彦 石山 賢
(東京大学石川外科)

林 四郎
(信州大学第 1 外科)

第 4 回, 第 6 回本学会で, 外科的侵襲後のマウス肝臓における核酸や ribosome タンパクに対する標識化合物のとりこみを中心に報告したが, 今回はこれらの代謝回転に及ぼす xylitol 投与の影響を検討した.

まず, エーテル麻酔下を開腹術を行なったマウス腹腔内に 10% xylitol, 10% glucose, 生食, 10% glucose + xylitol をそれぞれ投与した後に, 体重 20 当り 10 μCi の ^3H -uracil を注入し経時的に摂取した肝について, その RNA を Schmidt-Thanhauser 法で抽出し, ジオキサンシンチレーターを加え液シンでその放射能活性を計測した. 一方 ribosome タンパクの比放射能は, ^{14}C -クロレラ蛋白酸加水物を体重 20g 当り 2 μCi 投与したマウスの肝臓から Takanami らの方法で抽出した ribosome を一旦乾燥させてから, ハイアミン 10x-OH を加え 50°C, 3 時間加温後トルエンシンチレーターを加えて RNA と同様に計測し求めた. その結果, ribosome では手術群と手術を

しない対照群いづれでも, xylitol 投与群とほかの投与群との間に差を認めなかったが, 手術群のリボ核酸の ^3H -uracil とりこみが xylitol ないし xylitol+GI 投与群で軽度ながら上昇していた. このさいの肝組織での TPN, DPN を測定すると, 手術群で DPN が低く, TPN が高い値を示したが, いずれも 12 時間目で低下しており, これら補酵素の還元反応が xylitol 投与により術後により速やかに進行していることが想像された.

次に 70% 肝切除後の rat に ^3H -uracil, ^3H -thymidine を投与したさいの DNA, RNA の標識化合物ととりこみをみると, RNA では特に差が認められなかったが, DNA では初期の分裂の phase で xylitol 投与群が明らかにとりこみの増加を示した. しかしながら肝切除後急速に出現する一過性の脂肪肝は, glucose 投与群よりさらに著しいこと, さらにその脂肪酸組成も本来肝で合成されがたいリノール酸などが増加していることは, xylitol 使用にあたり一応考慮すべき問題である.

*

57. ^{14}C 取込よりみた脂肪酸代謝の研究

(第 4 報)

—血小板の脂質代謝を中心に—

木畑正義 岩崎一郎 尾崎幸成
水川士郎 藤井靖久 平木 潔
(岡山大学平木内科)

昨年の報告に続き今回は主に血小板の脂肪酸代謝についての成績を報告する. 目的は高脂血症における脂質代謝異常の一面を知ることである. 被験材料は 5 群に分け 20 才台対照 (第 I 群 4 例), 動脈硬化症の明らかな高脂血症 (第 II 群 10 例), 動脈硬化症はあるが高脂血症の明らかでないもの (第 III 群 5 例) 40 才未満の高脂血症 (第 5 群 5 例) およびその他とした. 血小板浮遊血漿を作成, ^{14}C -acetate より脂酸を合成せしめた. ガスクロマトグラフィーにて各脂酸に分ちおのおのの ^{14}C 取込みを液シン (島津 LSG 11 型) にて計測した. ^{14}C -acetate よりの総脂酸生成を各群平均値でみると I 群 43.972dpm/ 10^3 血小板に比し II, V 群で 27.438 および 16.864dpm とそれぞれ明らかな低下を示した. すなわち高脂血症では全般に脂酸合成の低下をみる事が判明した. またそのパターンは高脂血症ではシリスチン酸, パルミチン酸の低下および逆にステアリン酸, オレイン酸が相対的に増加, さらに炭素数 20 以上の脂酸も増加した. とくにオレイン酸の百分率における増加は著明である. すなわち脂酸合成