

67. オートラジオグラフィーによるマウス皮膚扁平上皮癌の細胞増殖の解析とブレオマイシンの影響

京都府立医科大学 第2外科

久保 雄治 橋本 勇 小玉 正智  
田中 承男

第2病理 芦原 司

長期間にわたって d-d 系マウスの口周囲の皮膚に 3,4-ベンツピレンを塗ることにより発生した皮膚扁平上皮癌を材料として、<sup>3</sup>H-Thymidine を用いた Autoradiography により、その細胞増殖の解析をおこなった。すなわち、口周囲に皮膚癌をもったマウスに対して <sup>3</sup>H-Thymidine を 1 回量 2  $\mu$ Ci/g ずつ、腹腔内および皮下に頻回に投与し in vivo にて経時に biopsy を行ない Autoradiogram を作製する頻回標識法 (Cumulative labeling method) を応用して、その癌細胞の世代時間  $t_G$  DNA 合成時間  $t_S$  を算出した。その結果  $t_G = 34 \sim 37$  時間、 $t_S = 6 \sim 10$  時間の値がえられた。扁平上皮癌に有効であるといわれ、またわれわれも食道癌患者に対し著効を認めたブレオマイシンの癌細胞に対する制癌効果は、DNA 合成阻害にあるといわれている。そのために同様の操作により発生せしめた d-d 系マウスの皮膚扁平上皮癌に対し、ブレオマイシン 80  $\mu$ g を 1 回投与量とし、48 時間毎に 5 回全身投与をおこなった後、<sup>3</sup>H-Thymidine 60  $\mu$ Ci 腹腔内投与 1 時間後の Autoradiogram を作製した。ブレオマイシン未投与の 25.7% に対して、投与後のものでは 16.7% の標識率をえ、細胞レベルでの DNA 合成の抑制が認められた。同系マウスで発生せしめた扁平上皮癌では  $t_G = 34 \sim 37$  時間、 $t_S = 6 \sim 10$  時間であったので、その DNA 合成時間を考慮に入れて投与間隔を、 $t_S$  以内、 $t_S$  以上、 $t_G$  以内、 $t_G$  以上のものに分けて癌細胞への影響を検索した。すなわち、ブレオマイシンの総投与量を 0.4mg 投与回数 5 回とし、投与間隔を 5 時間、24 時間、48 時間としてそれぞれの投与法によるブレオマイシンの細胞増殖に及ぼす影響を検討したので報告する。

68. 人体内カルシウム代謝の解析

放射線医学総合研究所 臨床研究部

内川 澄 藤本 栄三 松本 徹  
福田 信男

物理研究部 飯沼 武

放射性アイソトープを用いた人体内カルシウム代謝の

解析により臨床上有効なカルシウムの exchangeable pool size, accretion rate 等のパラメーターを算出する方法については、従来多くの報告があるが、なおいくつかの問題を残している。人体カルシウム代謝を、今回ヒューマンカウンターによる全身計測と血液測定による結果を用いて、multiple compartment analysis により検討を加えた。

症例は種々のカルシウム代謝異常を伴った 8 名で、<sup>47</sup>Ca ないし <sup>85</sup>Sr, 5 ~ 20  $\mu$ Ci を 1 回静注し、その後の全身および血中放射能残留率を経時的に測定し、えられた曲線を最小二乗法により指数関数の和に分解し、その勾配振巾より数理解析を行なった。

検討したカルシウム代謝のモデルとしては、生理学的知見に照らし合せて、いくつかの条件を決め想定したが、2 および 3 compartment の場合は可能なものすべてにつき検討し、4 compartment については、カルシウムの交換が同一 compartment 間で行なわれることを仮定した 4 種類、それ以上の場合については主として mamillary model を用いて行なった。

いづれの症例においても、ヒューマンカウンターにより実測した全身カルシウム残留曲線と血液測定結果から算出した全身曲線との間には、大きな差異があり、これは骨中の fixed compartment によるものと考えられ、この pool size の大きな compartment の解析は全身計測により解析され、このようにして行なった解析結果と病態との間連につき検討を加えた。

69. 胎児各臓器における Estriol-4-<sup>14</sup>C の incorporation rate, in vivo の実験

金沢大学産科婦人科学教室

川田 肇 赤須 文男

この数年来、human feto-placental unit における代謝系についての研究が盛んに取り上げられ、特に steroid metabolism に関しては注目すべき成績がいくつ発表されている。この unit における metabolism を究明するためには in situ において実験を行なうことが最も適当であることはいうまでもない。さて、Estriol はそれ自体、性 steroid である許りでなく、終末産物であるが、妊娠時複雑な機構で、胎盤で産生されたが母体並びに胎児に送られていることはすでに証明されている所であり、従って多量の Estriol を胎児側ではいかに処理あるいは利用しているか、すなわちこの Estriol が胎児体内を全く indifferent に通過して再び胎盤に戻るのか、

あるいは胎児側で何らかに利用され不活性物質に処理されてしまうのかという点は興味のある問題である。よって胎児 *in vivo* における Estriol 代謝について検討して見た：4例の人工妊娠中絶患者の胎児を選び Estriol-4-<sup>14</sup>C を拍動中の臍静脈に注入後胎児胎盤系を循環させた後、胎児各臓器における radioactivity を測定した。胎児各組織における radioactivity は肝臓、心臓、副腎、筋肉、肺臓および腎臓の順になっている。胎盤より分泌され胎児側に送られた Estriol を胎児は本来の Estrogen 作用の他に、何らかの目的で利用しているといえよう。胎盤は妊娠時の代謝調節における重要な役割を演じていることは明らかであるが、胎児は多量の Estriol を自分自身の成長に必要な量だけ各臓器に取り込んでいるのではないだろうか。本文の成績から胎児はそれ自体の代謝のみならず胎盤の代謝にもつのコントロールを行なっているものと考えられ、今後のあらゆる面における human feto-placental unit の代謝機序の解明が必要であると考えられる。

#### 70. <sup>57</sup>Co 標識 VB<sub>12</sub> による Transcobalamin の分析

札幌医科大学 痘研内科

名取 博 山本 厚子 本山 健次  
福田 守道

血清中の VB<sub>12</sub> 結合蛋白である Transcobalamin (TC) および白血球中の B<sub>12</sub> binder(LB) の物理化学的性質の検索には、これらの蛋白が微量であるため tracer として放射性 B<sub>12</sub> を結合させ radioactivity を追跡する方法が有用である。今回はヒト、ラット、イス、ウシ、ニワトリにおける TC と LB の Gel 沢過、等電点分画法、沢紙電気泳動法と Contact autoradiography による分析について報告する。

方法： B<sub>12</sub> 量は Lau の radio dilution 法、 UB<sub>12</sub>BC は Gottlieb 法によった。白血球は Böyum の方法で分

離し、凍結融解後の遠心上清を LB の検索に用いた。<sup>57</sup>Co-B<sub>12</sub> は Amersham RCC 製 100 $\mu$ Ci/ $\mu$ g を使用。Gel 沢過は Sephadex G-150, G-200, 2.5×100cm を使用、254m $\mu$  吸光度は、LKB UV icord I, 放射活性は pulse height analyzer 付 well 型 scintillation counter によった。Molecular size の計算は Determann らの方法によった。Gel 沢過後の TC, LB を濃縮、LKB 沢紙電気泳動装置にて泳動後テックス線フィルムにて autoradiography を行なった。等電点分画法は Svensson らの方法によった。

結果：血清 B<sub>12</sub> 量 UB<sub>12</sub>BC, TB<sub>12</sub>BC の測定への応用では日本人正常者の血清 B<sub>12</sub> 126~1155 pg/ml, UB<sub>12</sub>BC 266~1484 pg/ml, TB<sub>12</sub>BC 655~2619 pg/ml であった。分析的研究においてニワトリ TC の Gel 沢過では 1 峰、他は 3 峰に分離され UB<sub>12</sub>BC の各分画への分布はそれぞれ異なる pattern を示した。それらの分子量を LB と共に表に示す。Autoradiogram で各 TC と LB はそれぞれ 1 本の band を、ヒト TC-1 のみは  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  領域の 2 本の band に分離され等電点分画法でも heterogeneity を認めた。ヒト TC-0 は収量が低く不明な点が多かったが易動度は  $\alpha_2$  領域にあり分子量約 90 万であることがわかった。ヒト TC-2 の pI は 6.75 で易動度は  $\beta$  領域にあった。

	TC-0	TC-1	TC-2	LB
ヒト	90×10 <sup>4</sup>	12×10 <sup>4</sup>	35,000	12×10 <sup>4</sup>
ラット	>30×10 <sup>4</sup>	20×10 <sup>4</sup>	35,000	35,000
イス	〃	13×10 <sup>4</sup>	35,000	13×10 <sup>4</sup>
ウシ	〃	11×10 <sup>4</sup>	34,000	11×10 <sup>4</sup>
ニワトリ		11×10 <sup>4</sup>		11×10 <sup>4</sup>