-215-　肝細胞膜摂取機構の研究：肝細胞膜と^{131}I-BSP-アルブミンとの結合について

都養育院附病　核放
○丹野宗彦，山田英夫，戸張千年，
末広牧子，川口新一郎，村田　啓，
松井謙吾，千葉一夫，飯尾正宏

目的：　BSPなどの有機陰イオンや，ビリルビンは循環血液中では主としてアルブミンと結合し，肝細胞内では，リガンディンに結合している。しかしアルブミンとリガンディンのビリルビンに対するassociation constantは，アルブミンの方がはるかに高い。従ってBSPやビリルビンの肝摂取は，リガンディンのみでは十分説明しえないと考えられる。その点を明らかにする目的で著者らはラットを用いてアルブミン存在下に於ける肝細胞膜と色素の結合について検討した。

方法：　250－500gのラットを用い，麻酔後，採血し，氷冷食塩水で灌流し，肝を摘出した。肝細胞膜標本はRayの方法に従って作成した。但し最終庶糖密度はNevilleに従って39%(d＝1.16)，69%(d＝1.22)とした。得られた細胞膜は，Tris-HCl緩衝液0.05M PH 7.5で洗い，3000rpm，30分遠心し，沈渣を採取した。実験には，同緩衝液に10mMの$CaCl_2$を加え行なった。標本は電顕で観察し，酵素学的検査を行い細胞膜の確認を行なった。^{131}I-BSPとラット血清蛋白との結合の割合を透析法で検討した。肝細胞膜との結合については，予め^{131}I-BSPと血清蛋白を結合させておき，肝細胞，Tris-HCl緩衝液を加えて一定量とし，一定時間インキュベーションを行なった。その後3,000rpm 30分冷却遠心器にて遠心分離し，放射能を測定し，結合率を求めた。

結果：　①透析法による血清蛋白の^{131}I-BSPの結合能をみると蛋白の濃度に伴って増加し，4μgの^{131}I-BSPは，約1500μgの血清蛋白で100%結合した。②各種膜蛋白量に対する^{131}I-BSP，^{131}I-Hippuranの結合について。^{131}I-BSPのみの場合には，膜蛋白量の低下とともに^{131}I-BSPの結合率は低下したが，高度稀釈倍数でもなお相当の結合がみられた。^{131}I-BSPに血清を添加すると，^{131}I-BSPの結合率は，膜蛋白量の低下とともに急速に低下した。^{131}I-BSP ^{131}I-Hippuranは肝細胞膜と全く結合しなかった。③^{131}I-BSPと肝細胞膜との結合反応を継次的にみると，^{131}I-BSPは，アルブミン存在下でも，肝細胞膜と瞬時に結合した。④ICG，BSPは，肝細胞膜との結合において，^{131}I-BSPとの間に競合を示した。

考察：　ビリルビン，BSPは同モルのアルブミン，リガンディンの存在下では，殆んど全てアルブミンと結合するといわれている。今回の実験では，血清蛋白と同重量の肝細胞膜の存在下では，約70%の^{131}I-BSPが膜と結合した。この現象は，肝摂取機構において重要な役割を演じている可能性があり，今後肝親和性物質の検索に有用であると考える。

-216-　Radiorespirometryに関する基礎的研究－3′－Me－DAB実験肝癌ラット呼気パターンの解析－

日本大学　第三内科
○佐藤一夫，上村直也，石塚英夫
大藤紘一，藤田実彦，金田春雄
東京理大　薬学部
岩淵久男，志気保子，久保寺昭子

0.06%3′－Me－DABを投与した呑竜雄ラットに，エネルギー源となり得る^{14}C－標識生体内基質を与え，その燃焼呼気$^{14}CO_2$パターンについて検討を行なった。呼気パターンは、呼気流路系，液体シンチレーター流路系，N_2ガス流路系，液体シンチレーション検出・計測系，及びCO_2連続計測系からなる呼気$^{14}CO_2$連続微分波形記録装置（以下R.R.S.C.）を用いて描記し，その解析は松岡らの方法にしたがい①peak time，②peak hight，③2時間の総$^{14}CO_2$量の三点から行なった。

3′－Me－DAB投与ラットのうち，①kohnの免疫電気泳動変法によりα－Fetoprotein(A.F.P.)の一次反応陽性のもの②一次反応陽性を経て陰性化したもの，③3′－Me－DAB投与35～40週を経過しAFP二次反応陽性を確認したものについて，それぞれD－(u－^{14}C)－glucose，1－^{14}C－Methionineおよび1－^{14}C－Sodium acetateの燃焼呼気$^{14}CO_2$パターンを検討した。AFP一次反応陽性ラットにおいては，^{14}C－glucoseのpeak timeが対照に比して早く現れるが，peak hightには差がない。2時間の総$^{14}CO_2$量は，やゝ減少の傾向が認められた。AFP－次反応陽性後陰性化したラットにおいてはPeak timeが大きく後退しpeak hightは高くなったが2時間の総$^{14}CO_2$量には有意差が認められなかった。

一方controlは^{14}C－glucose投与後30分間に，2時間総$^{14}CO_2$量の13%が呼気に排出されるがこれに対しAFP一次反応陽性ラットでは約40%が，AFP二次反応陽性ラットでは約20%が排出された。^{14}C－acetate，^{14}C－methionineの呼気$^{14}CO_2$パターンは，3′－Me－DAB投与36週のラットにおいてcontrolとの間に有意差を認めなかった。本研究においてAFP一次反応陽性期にglucoseの代謝能に変化が認められる事が確認された。癌細胞は糖質代謝が活発で，担癌ラットにおいてはその増殖の早いもの程解糖が亢進しているとされているが，呼気$^{14}CO_2$パターンから，発癌過程の初期，所謂oval cell出現時期にすでに嫌気的解糖能の増大が示唆されAFPの産生と関連し興味ある問題と考えられる。一方呼気$^{14}CO_2$パターンは多くの要因の積分値であり$^{14}CO_2$から直接病態像の解析を試みることは不可能であるが，他の検査結果と平行して適切な^{14}C－標識基質を選択することにより肝癌診断に，より有益な情報を得ることが可能であり有益な臨床検査の一つとなり得るものと考えられる。

Presented by Medical*Online