

218 肝細胞の有機陰イオン摂取機構の研究—
 ^{131}I -BSP、 ^{35}S -BSPの可溶性膜中の結合蛋白の
 分離

丹野宗彦 (慈恵会医科大学青戸分院内科)
 山田英夫、戸張千年、千葉一夫、村田啓、川口新一郎
 飯尾正宏 (都養育院核医学放射線部)

目的：昨年の本学会において、各種有機陰イオンと肝細胞膜との結合に関していくつかの知見を報告した。肝細胞表面膜にBSPなどと結合する部位(carrier protein)の存在することは確実と考えられる。有機陰イオンの間には競合するもの(^{131}I -BSP、BSP、部分的にICG)、競合しないもの(コール酸、グリココール酸、リファンピミン)が認められた。しかしこれらの結合蛋白の肝細胞表面膜の局在部位はまだ明らかでない。

今回肝細胞表面膜の有機陰イオンの結合蛋白の性状を明らかにする為、肝細胞表面膜の可溶化を行ない、結合蛋白の分離を試みた。

方法：肝細胞表面膜は作成はすでに報告したごとく、Rayらの方法に従った。膜標本の確認は、各種酵素の測定および電顕にて行った。肝細胞表面膜の可溶化には主としてdesoxycholic acidを用いた。即ち、一定量(1容)の肝細胞膜に、5mM desoxycholic acidのisoosmotic saline 9容を加え、37℃、20分間インキュベーション、超音波で破碎した。10万gにて60分間遠心し、その上清を可溶性膜蛋白とした。可溶化した膜蛋白に各種有機陰イオンを加え、セファデックスG200で展開し検討した。またブロムサルフォアトリン・セファロースによるaffinity chromatographyも施行した。

結果：肝細胞膜のmembrane enzyme markerである5'-Nucleotidase、P-Nitrophenol alkaline phosphataseはtotalホモジネートに比し、それぞれ約16倍、約30倍の活性を示した。可溶性膜蛋白の回収率は、肝細胞表面膜蛋白の約50%であった。セファデックスG200による実験では、蛋白のピークと、 ^{35}S -BSPのピークは異なり、可溶化された膜蛋白の一部の蛋白のみに、 ^{35}S -BSPは結合していることを確認した。その分子量はアルブミンに比して大きく、アルブミンでないことを確認した。

結語：前回の報告では、遊離肝細胞膜での種々の有機陰イオンの結合能の変化によりcarrier proteinの存在が示唆されたが、今回の実験ではBSPの膜結合蛋白の存在が確認された。

219 ^{14}C -(U)-Glucoseを用いた3'-Me-DABラット肝ガン誘発過程でのRadiorespirometric patternの検討

帝京大薬・放射
 ○小島周二
 東理大薬・放射
 久保寺昭子

アゾ系色素による実験的ラット肝ガン誘発過程に於いて胎児性血清蛋白である α -フェトプロテイン(AFP)の消長が観察され、この現象の解明が癌化メカニズムをさぐる上で一つの手がかりになると考えられている。本学会第16回総会に於いて当教室にて開発したRadiorespirometry(RRSC)を用い、0.06% 3'-Me-DABラット肝ガン誘発過程でのAFP一次反応陽性期に ^{14}C -(U)-Glucose投与によるPeak timeが早まる事を報告したが、この点に着目し、Peak timeの早まり、AFP一次反応を解糖系酵素の変動と関連づけ、RRSCが原発性肝ガンの診断に有益な情報を与えることを報告する。本実験にはDonrui系雄ラットを用い、購入後、体重180~250gまで固型基礎餌(クレアCE-2)で飼育し、Control群は同基礎餌で、3'-Me-DAB投与群は0.06% 3'-Me-DAB含有固型餌で飼育し実験に用いた。なお、水及び餌は自由に与えた。各群6週まで飼育し、各週ごとに ^{14}C -Glucose(2.5 μCi)を腹腔内注射し、RRSCを得、また同期間飼育ラット肝ホモジネート30.000g上清を、Hexo-Kinase(HK)、Pyruvate Kinase(PK)、Glucose-6-phosphate dehydrogenase(G-6-PDH)活性測定に用いた。

この結果、3'-Me-DAB投与群では2~3週目からPeak timeが早まり4週目で最も顕著な変化を示しその後5週目で著しく遅れる傾向を示した。この変化と相ともなってYield valueはやや低下する傾向を示した。一方解糖系酵素活性は3'-Me-DAB投与群で飼育1週目でいずれの酵素もInhibitされ、とりわけPKは5週目まで約70%の阻害率を示した。HK、G-6-PDHは4週目で著しく活性上昇を示した。いずれの酵素も6週目でほぼControl群の値を示した。以上の結果からAFP一次反応陽性期に於けるPeak timeの早まりYield valueの低下が、HK、G-6-PDH活性の上昇に基づくものと思われる。したがってAFP一次反応陽性期に於ける糖代謝経路としてHexose monophosphate pathwayの活性化が示唆される。診断により有益な情報を得るために、適切な ^{14}C -標識基質についても併せて検討した。