

93 生体試料中のガリウムの定量方法について  
東京都臨床研放  
中村佳代子、折井弘武

ガリウムの腫瘍親和性機序を解明するにあたっては、現在そのほとんどを $^{67}\text{Ga}$ の使用に頼っている。しかし、carrierの影響を考慮する等、coldのGaの動態も併せて研究する場合に適当な定量方法は、未だ十分に検討されていない。今回は、生体試料中のGaを測定するにあたって、検討した各定量方法の特性を述べるとともに、EPMA法(分析電子顕微鏡:電子顕微鏡に分散型X線マイクロアナライザーを組み込み、電頭像に電子線の微小ビームを照射し、そこから発生する特性X線をシリコン半導体でとらえ、低エネルギー用400チャンネルPHAによりふるいわけ、内蔵のミニコンピューターで元素の同定、定量を行なう方法)の応用性についても併せて報告する。

検討した定量法のうち、比色定量法(ローダミンB法、オキシ法、PAN法)はすべて溶媒抽出法であり、その為、生体試料をホモジナイズして得た懸濁液をそのまま定量に供することができる。最高の感度が得られるローダミンB法では、絶対量として $0.3\mu\text{g}$ のGaを必要とするが、硝酸を用いた試料処理は避けねばならない。オキシ法、PAN法では感度は低いが、再現性の良い値を得ることができる。原子吸光法(フレイム法、フレイムレス法)では、些か数秒で結果を得ることができるが、フレイム法では、試料は完全に湿式分解された水溶液でなければならず、又、最低4ppmの水溶液を1mlは必要とする。これに対し、フレイムレス法では、固体試料のまま定量することも不可能でなく、絶対量として $0.2\text{ng}$ のGaが検出可能である。

一方、EPMA法は、“What(何の元素が)”、“How(どれだけ)”、“Where(どこに)”のファクターを同時に解明できる分析法として、生体の分野で最近開発されつつある。細胞レベルでのGaの分布をこのEPMA法で明確にするにあたっての基礎的なデータを検討した。分析に供する試料は電頭観察用に適した調製を必要とする。得られた超薄切片(200nmの厚さ)中に、絶対量として、 $6\text{pg}$ のGaが存在すれば定量が可能である。本法により、短時間(100~200秒)に、約5%の再現性でGaの定量及び細胞内での分布、局在を知ることが可能である。応用にあたっての問題点についても現在、検討中である。

94  $^{67}\text{Ga}$ -citrateの培養細胞への吸着機構  
東京都臨床研放  
中村佳代子、折井弘武

$^{67}\text{Ga}$ の集積性は、多くの因子の影響を受けることが知られ、培養細胞を用いたin vitro実験で数多くの検討がなされている。演者らは、こうした実験の根底にある基礎的な条件(pH値、培地組成、使用器具など)がいかに、実験データに大きな影響を及ぼすかを見出した。更に、本研究より得られた結果は、ガリウムのとりこみ機序を解明するに重要な手がかりを示唆するものであった。

使用した細胞は、L5178YでFischer培地に10%牛血清を加えたものを用い、実験は、静止期で行なった。

$^{67}\text{Ga}$ は、ガラス試験管の表面に強く吸着され、このpH依存性は、 $^{67}\text{Ga}$ の細胞へのとりこみと同じパターンを示した。即ち、pH4.5付近において、吸着量も、とりこみ量も最大値を示した。このpH付近で $^{67}\text{Ga}$ が大きな粒状になっていることは、遠心分離の実験(pH4.5付近で沈降する $^{67}\text{Ga}$ が最大になる)からも確認された。更に、ガリウムと強く結合するキレート剤(EDTA、citrate)を培地に加えると、細胞への $^{67}\text{Ga}$ のとりこみが阻害され、このパターンも $^{67}\text{Ga}$ のガラス試験管表面への吸着パターンと同一であった。即ち、強いキレート剤の添加により $^{67}\text{Ga}$ の吸着量は減少し、ガリウムと相互作用がないとされている試薬の添加の場合には、同様の吸着現象が見られた。これらの $^{67}\text{Ga}$ のとりこみ、ガラス試験管表面への吸着性は、pH値に関して可逆的であり、この事実からも、ガリウムは細胞の表面にまず吸着するといった段階を経るのではないかと推定した。

以上の結果は、Glickson等が報告しているGa-citrateがpolymerを作るpH値と一致しており、又彼らの主張する「polymerを作って初めて細胞内にとりこまれる」という説を裏づけるものである。