

I B-23

ラット肝過形成性結節の細胞動態の解析
— 抗 BrdU モノクローナル抗体を用いて

疋田 宇, 香川恵造, 多々 尚,
竹内孝幸, 新谷弘幸, 岡上 武,
瀧野辰郎, 浦田洋二*, 蒲池正浩*,
芦原 司*, 島田信男**
(京都府立医大・第三内科, *第一病理,
**臨床検査)

抗 Bromodeoxyuridine (BrdU) モノクローナル抗体を用いる免疫組織化学は細胞動態の解析に有用である。今回私達は、実験肝癌で出現する過形成性結節(HN)の生長及び消退過程に本法を応用し解析した。

対象と方法：6週齢の呑竜系雄性ラットを対象に、diethylnitrosamine 200mg/Kgを腹腔内に単回投与し、21日目に部分肝切除術(PH)を行い、第3～4週は0.02% 2-acetylaminofluorene(2-AAF)を投与する方法でHNを作成した。PH後出現するHN及び非病変部の増殖活性をBrdU標識率(LI)で経時的に検討した。すなわち、屠殺45分前にBrdU 20mg/Kgを腹腔内投与し、摘出肝を70%エタノールで固定後、パラフィン切片を作製し、脱パラした。これを4N-HClで20分処理後、抗BrdUモノクローナル抗体を用いて、ABC法によるBrdU染色を行った。

成績と結語：PH1日目よりHNのサイズは増大し、これに伴ってLIは2～4日目に120～140%とピークを示した。その後、HNは次第に退縮し、LIも下降した。一方、非病変部はPH刺激に反応を示さなかったが、2-AAF投与終了後、徐々に標識細胞が増加し、10日目前後にピークに達した後減少した。

I B-24

ラット肝再生時におけるPCNA/ cyclin およびc-myc 蛋白の動態

和泉伸一、*関野三好、*守内哲也、*小路武彦、*高崎芳成**、矢内原千鶴子***、矢内原昇***、阿部 薫****、中根一穂、*(*東海大・医・細胞生物、**順天堂大・医・内科、***静岡薬科大・薬・生物薬品化学、****国立ガンセンター・内分泌)

Proliferating cell nuclear antigen(PCNA/cyclin)は、DNAポリメラーゼ δ の補助蛋白であることが同定されている。Adenovirus EIAのPCNA/ cyclinを誘導する部位のアミノ酸配列は癌原遺伝子産物であるc-mycの一部と相同性があるのと、proliferating細胞では、c-mycはG1期に発現しPCNA/ cyclinはG1/S境界期に発現することからc-mycはPCNA/ cyclinを誘導する可能性が考えられる。この関係がG0期からG1期へ移行してS期へと移行する細胞にも成立するかを、ラット(体重300g雄)再生肝を用い酵素抗体間接法にて検討した。その結果、いずれの蛋白も部分肝切除前では肝細胞には見られなかったが、切除後12時間ではc-mycが多数の肝細胞の核に、21時間ではPCNA/ cyclinが殊に肝小葉の周辺部の多数の肝細胞の核に観察された。これにややおくれ、S期の同定に用いたプロモデオキシウリジンが肝細胞の核に観察された。その後28時間では肝細胞の核分裂像が観察された。従ってラット再生肝において、c-mycは肝細胞がG1期に移行した後に、PCNA/ cyclinはG1/S期に発現することが判明した。この結果c-mycはPCNA/ cyclinを誘導する可能性が示唆された。