

## ラット初代培養肝細胞における DNA 合成の調節

小路武彦, 寺山 宏 (東大・理・動物)

The control of DNA synthesis in primary cultures of adult rat hepatocytes

TAKEHIKO KOJI, HIROSHI TERAYAMA

ラット肝細胞の増殖制御に関する研究の一環として、以前の大会で papain の腹腔内投与による肝細胞増殖誘起に adenylate cyclase (AC) 活性の増大とそれに伴う細胞内 cAMP 量の増大が関与することを示した。今回、親ラット肝細胞の初代培養を試み、DNA 合成に影響を与える種々の要因について検討した。〔材料・方法〕肝細胞は Wistar 雄ラットから略ぼ Seglen の方法で調製し、10% 牛血清・ $10^{-8}$ M Dex・40  $\mu$ /ml Ins. を含む WE を培地として培養した。一日後、培地を Ins. を含む無血清培地に替え種々の因子を加えた。DNA 合成は  $^3$ H-TdR の DNA 画分への取りこみと flow cytometry によって調べた。〔結果〕1) 肝細胞は培養後 42~48 hr に細胞密度に依存した DNA 合成の peak を示し、高密度では殆ど DNA 合成を示さない。2) 密度依存性阻害には、以下の知見から細胞膜 arginase の関与が示された。低密度培養で、精製肝細胞膜は顕著に DNA 合成を阻害するがその阻害は Arg・Orn 添加により軽減される、牛肝 arginase も DNA 合成を阻害する、Arg を Orn+urea で代替した培地でも DNA 合成が阻害される、更に密度依存性増殖阻害を示さない腹水肝ガン細胞では細胞膜 arginase を消失している事等。3) 一方、低密度で肝リゾーム抽出物 (LE) は複製的 DNA 合成を顕著に促進するが leupeptin で有効に抑えられた。また、精製 cathepsin L (CL) は肝細胞 DNA 合成を促進した。4) CL は肝細胞膜 AC 活性を増大させるが、 $Bt_2$  cAMP も有意に DNA 合成を促進した。5) 低密度培養系に EGF を加えると 40~60% の核数増大を示したが、LE は更に核分裂を促進した。〔結論〕初代培養肝細胞 DNA 合成に対し細胞膜 arginase が抑制的に、cAMP を介して働くと思われる CL が促進的に作用することが判明した。

## ヒト胎児肺繊維芽細胞の増殖とヒドロコルチゾン：アンチグルココルチコイドの効果

春日博子, 近藤 昊 (都老人研・生物)

Growth of human fetal lung fibroblasts (TIG-1) and hydrocortisone: Effects of antiglucocorticoids

HIROKO KASUGA, HIROSHI KONDO

ヒドロコルチゾン (HC) は、ヒト胎児肺繊維芽細胞 (TIG-1) の増殖促進を誘起する。その機構については、まだ不明である。アンドロジェン、プロジェステロン、コルテクソロンが、rat の胸腺リンパ球で antiglucocorticoid 活性を示すことが、最近報告された。これらの antiglucocorticoid 活性を調べることによって、TIG-1 に対する HC の作用の一端が明らかになることが期待される。HC の前駆体であるコルテクソロンは、一般的に glucocorticoid 活性はないと言われており、今回の実験でも認められなかった。 $1.4 \times 10^{-7}$ M HC と共に各種濃度のコルテクソロンを入れた場合に  $1 \times 10^{-6}$ M で 68%、 $2 \times 10^{-6}$ M で 100% 細胞増殖の促進効果を消失させた。その 50% 消失させる濃度は、HC の濃度の約 64 倍であった。すなわち、コルテクソロンで、antiglucocorticoid 活性を検出することができた。しかし、アンドロジェンやプロジェステロンはそれ自体に強い増殖抑制効果があり、antiglucocorticoid 活性を検出することは難しい。次に、antiglucocorticoid 活性は、ホルモンの binding で HC と compete することより生じるのかを検討するため、 $^3$ H-HC binding を 50% 抑制するのに必要なステロイドの濃度を測定した。その結果は、プロジェステロンで 34 倍、コルテクソロンで 124 倍であり、この 2 つのステロイドは、HC に対する強い competitor であることがわかった。他方、テストステロンは 900 倍、エストラジオールは 2550 倍であり、弱い competitor である。すなわち、先に見られたコルテクソロンの antiglucocorticoid 活性は HC の specific binding を阻害することによっておきることを示唆された。