

氏名	吉田正徳 よしだまさのり
学位の種類	農学博士
学位記番号	農博第335号
学位授与の日付	昭和56年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科農芸化学専攻
学位論文題目	動物培養細胞の増殖，呼吸，代謝に対する薬剤作用の研究

論文調査委員 (主査) 教授 中島 稔 教授 深海 浩 教授 駒野 徹

論文内容の要旨

細胞は酵素より複合的，総合的な機能をもつ系であり，しかも一定の構造体としての性格においては，生物個体全体に比べてはるかに簡単な系である。本論文はこのような細胞の特色を利用して，動物培養細胞の増殖，呼吸，薬物代謝能に対し農薬を含む種々の生理活性物質が示す生理作用について検討した結果をとりまとめたものである。

本研究において使用した培養細胞は，マウス皮下組織由来のL細胞とチカイエカ卵巣由来の culex 細胞の二種類である。また培養細胞系に対する効果を検討した薬剤は42種類で，呼吸系阻害剤，核酸・タンパク質生合成阻害剤，アルキル化剤，神経毒などである。

I. 培養細胞の増殖および呼吸に及ぼす薬剤の効果

薬剤を含む培養液中で数日間細胞を培養した後，対照の50%に細胞数の増加を抑える薬剤濃度を求めた。その結果，rotenone, piericidin A₁, SF 6847 などの呼吸系阻害剤と actinomycin D のような核酸・タンパク質生合成阻害剤とに強力な細胞増殖阻害活性が認められた。

細胞呼吸に対する薬剤の効果は，細胞浮遊液に薬剤を添加した後の酸素消費速度を酸素電極法により経時的に測定し，酸素消費速度を対照の50%に抑制する濃度として求めた。また 2,4-dinitrophenol などの脱共役剤は逆に呼吸を促進するので，対照の150%に促進する濃度として求めた。これらの実験結果から次のことを結論した。

- (1) 細胞の由来にかかわらず，呼吸系阻害剤と核酸・タンパク質生合成阻害剤は著しい増殖阻害効果を示す。
- (2) 呼吸系阻害剤の呼吸阻害効果は細胞の由来にかかわらず増殖阻害効果と1:1に対応する。
- (3) 脱共役剤の150%呼吸促進は，呼吸系阻害剤の50%呼吸抑制とはほぼ同等な効果を細胞増殖に対して示す。

II. 細胞レベルにおける rotenone の作用。

ミトコンドリアレベルで rotenone は電子伝達複合体 I に特異的に作用して電子伝達を阻害する。した

がって複合体Ⅱを經由する呼吸に対する脱共役剤の促進効果は、rotenone によって影響を受けない。しかし細胞レベルにおいて rotenone は、脱共役剤による呼吸の促進をほとんど完全に抑制することが判った。したがって細胞レベルでは、ミトコンドリア以外の作用点に対して rotenone が生理活性を示すものと考えられ、この点を解明するためマウスL細胞を用いて検討した結果、rotenone は 2,4-dinitrophenol の存在下で呼吸促進に必要なコハク酸の細胞内へのとり込みを抑制することが判った。

Ⅲ. 培養細胞の薬物代謝に対する薬剤の作用.

Culex 細胞にはかなりの強い薬物代謝活性が認められ、薬剤を含む培養液中で一定時間細胞を培養すると、DDT では脱塩酸反応が、aldrin ではエポキシ化反応が確認された。そして 2,4-dinitrophenol や SF 6847 などの脱共役剤は、DDT 脱塩酸反応を強く阻害するが、aldrin の dieldrin へのエポキシ化反応は rotenone により促進された。このような細胞レベルでの代謝活性に対する薬剤の複合効果はイエバエを用いた *in vivo* の実験系においても認められた。

論文審査の結果の要旨

これまで農薬の生理作用に関する研究は主として個体レベルで行われるか、または酵素標品を用いて検討されてきた。しかしながら農薬などの生理活性物質と生体との相互作用の実態を知るためには、細胞レベルや組織レベルでの薬剤作用をも明らかにせねばならない。

著者はマウス皮下組織由来のL細胞とチカイエカ卵巣由来の culex 細胞を用い、動物培養細胞の増殖、呼吸、薬物代謝能に対し農薬を含む種々の生理活性物質が示す生理作用について詳細に検討した。その結果、(1)増殖という細胞の基本的機能に対し、種々の薬剤は呼吸と核酸・タンパク質合成の阻害が主な原因で増殖阻害を示すこと、(2)呼吸系阻害剤である rotenone は、*in vitro* ではコハク酸酸化を阻害しないが、細胞レベルではコハク酸の輸送を阻害している可能性のあること、(3)細胞の薬物代謝においては、2,4-dinitrophenol などの脱共役剤が DDT の脱塩酸反応を強く阻害し、また rotenone が aldrin のエポキシ化反応を促進するなどの複合効果の存在することが明らかとなった。

このように著者の行った研究は、培養細胞の実験系としての特色を活かし、エネルギー代謝系や生体高分子の生合成系に対する薬剤の効果を検討し、さらに個体レベルや酵素レベルでは研究の困難な細胞膜に対する生理作用や二種類以上の薬剤が示す複合効果などについて、新しい研究方法を開拓して、興味ある知見を得たもので、農薬化学の分野に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。