

【 25 】

氏 名	朝 田 健 あさ だ けん
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 1 4 号
学位授与の日付	昭 和 34 年 3 月 31 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	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	体外培養軟骨細胞の成長に及ぼす諸種ホルモン製剤の影響 (主 査)
論文調査委員	教 授 近 藤 鋭 矢 教 授 荒 木 千 里 教 授 青 柳 安 誠

論 文 内 容 の 要 旨

骨軟骨の退行性疾患に対する研究の進歩とともに、諸種ホルモン製剤による治療が行なわれているが、軟骨細胞自体に及ぼす諸種ホルモン製剤の影響に関する研究はきわめて少ない。

骨軟骨組織を含む間葉系組織と密接な関係を有するホルモン製剤として ACTH, Hydrocortisone, MAD (Methylandrostenediol) および Parotin 等があげられるが、前二者は間葉系組織、特に線維芽細胞の増殖および肉芽化に対して抑制的に働き、後二者は成長促進的に働くといわれている。

著者は鶴海 (1958) のトリプシン消化法により孵化10日目の鶏胚上顎軟骨の純培養を試み、成長度計測に適当な培養条件を検討するとともに純培養軟骨細胞の成長に及ぼす諸種ホルモン製剤の影響を検討した。

培養条件のうち、トリプシン消化時間については 37°C 下で、 $\text{pH } 7.1$ のトリプシン溶液 ($1000^{\text{u}}/\text{cc}$) にて 0 分～30分間にわたり消化作用を受けた軟骨組織片を培養し、その成長状態から10分～15分間の消化が適当であることがわかった。さらに、15分間消化処理を受けた軟骨組織片を培養し、その培養液の成分すなわち、鶏胚圧搾液および人血清の添加量と細胞成長との関係を検討し、鶏胚圧搾液は20%の添加により良好な細胞成長がみられ、人血清は一般に成長抑制的に働くが10%～20%の添加により安定した成長状態がみられた。また組織片の大きさと成長状態を検討した結果、成長度計測には $310\sim 500\text{mm}^2/32^{\circ}$ の範囲のものが適当であることがわかった。

以上決定し得た条件すなわち、孵化10日目の鶏胚上顎軟骨を $310\sim 500\text{mm}^2/32^{\circ}$ の細片とし、 37°C 下で15分間トリプシン消化処理の後、カレル瓶培養法により培養し、その液状成分に被験ホルモン製剤を種々の濃度に添加して細胞成長に及ぼす影響を培養 96時間および 120時間後の成長係数によって比較検討した。

i) ACTH: オランダ N. V. オルガノン社製 Cortrophine を塩類溶液で溶解希釈し $0.005\sim 2.5^{\text{Iu}}/\text{cc}$ の割合に添加し培養した。 $0.005\sim 0.05^{\text{Iu}}/\text{cc}$ の濃度群では対照群と大差ないが、 $0.1\sim 0.25^{\text{Iu}}/\text{cc}$ の濃度群では成長促進的で最高26%増となっている。しかし、それ以上の濃度群では成長抑制的であった。

ii) Hydrocortisone: 日本メルク万有 K K 製 Hydrocortisone を用い生理的食塩水で希釈し添加して

0.005~1.0mg/cc の濃度系列として培養した。全濃度群で成長抑制傾向がみられ、特に 0.05mg/cc 以上の濃度群に著明であった。

iii) MAD: 帝国臓器製薬 K K 製 Megabion を用い生理的食塩水にて稀釈し添加して 0.0005~1.0mg/cc の濃度系列とし培養した。0.001mg/cc の濃度群で軽度の成長促進傾向がみられたが、それ以上の濃度では成長抑制的であった。

iv) Parotin: 帝国臓器製薬 K K 製 Parotin を用い塩類溶液にて溶解稀釈し添加して 0.001~0.25mg/cc の濃度系列とし培養した。0.001~0.0025mg/cc の濃度群では対照群と大差ないが 0.005~0.025mg/cc の濃度範囲では著明な成長促進効果がみられ、最高21%増となっている。しかし、0.05mg/cc 以上の濃度では逆に抑制的となり作用の逆転現象がみられた。

以上を要約するに

1) 孵化10日目の鶏胚上顎軟骨組織の純培養に際して、トリプシン消化は pH 7.1, 37°C 下で 10分~15 分間が適当で、液状成分は伝研組織培養室処方組成でじゅうぶん良好な細胞成長がみられ、組織片の大きさは310~500mm²/32² の範囲のものが成長度計測に適当である。

2) ACTH 添加群では 0.1^μg/cc の濃度をピークとして著明な成長促進傾向が認められたが ACTH の不安定性、混入物による作用等も考慮され、直ちに ACTH の作用とは断定し得なかった。

3) Hydrocortisone 添加群では全濃度群に成長抑制効果が認められた。

4) Megabion添加群では 0.001mg/cc の濃度群に軽度の成長促進傾向がみられたが推計学的には有意ではなかった。

5) Parotin 添加群では 0.01mg/cc の濃度をピークとして著明な成長促進効果が認められたが、高濃度では抑制的となり、作用の逆転現象がみられた。

論文審査の結果の要旨

間葉系組織と密接な関係を有するホルモンの組織培養に及ぼす影響についての研究のうち、骨、軟骨組織を培養材料としたものはきわめて少なく、ことに純培養軟骨細胞を用いた報告は文献上見当たらない。よって、著者はトリプシン消化法により処理した鶏胚上顎軟骨細胞の純培養を行ない、諸種ホルモン製剤の影響を検討した。

ホルモン製剤としては、ACTH, Hydrocortisone, Megabion, Parotin が用いられたが、実験の結果、前三者では有意の成長促進効果が認められなかったが、Parotin 添加群では 0.01mg/cc の濃度をピークとして、軟骨細胞増殖、成長に対する著明な促進効果が見られた。

以上の研究成績は、軟骨細胞の体外培養に関して新知見を与えたものといえることができる。よって、この論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。

〔主論文公表誌〕

中部日本整形外科災害外科学会雑誌 第2巻(昭.34)第5号

〔参考論文〕

1. 腰部椎間板ヘルニアによる麻痺症状
(藤田 仁ほか5名と共著)
公表誌 中部日本整形外科災害外科学会雑誌 第1巻(昭.33)第3号
2. 脊椎分離症及び圧り症に対する脊椎固定術の成績
(桐田良人ほか4名と共著)
公表誌 中部日本整形外科災害外科学会雑誌 第2巻(昭.34)第1号
3. 汎発性線維性骨炎について
(藤田 仁ほか3名と共著)
公表誌 中部日本整形外科災害外科学会雑誌 第2巻(昭.34)第3号
4. 造影法による膝関節メニスクス障害の診断とその造影限界
(鶴海寛治ほか1名と共著)
公表誌 中部日本整形外科災害外科学会雑誌 第2巻(昭.34)第4号