

氏名	網 島 正 和
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 授 与 番 号	乙 第 1305 号
学 位 授 与 の 日 付	昭和57年 6 月 30日
学 位 授 与 の 要 件	博士の学位論文提出者（学位規則第 5 条第 2 項該当）
学 位 論 文 題 目	トリプシン及びコラゲナーゼ還流分散成熟ラット肝細胞の性状 の差異
論 文 審 査 委 員	教授 小田 琢三 教授 小川 勝士 教授 栗井 通泰

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

トリプシン及びコラゲナーゼ還流分散肝細胞を初代培養し、両肝細胞系の初代培養内動態の違いを生物学的に又生化学的に比較し、考察した。トリプシンは小型の肝細胞を、一方コラゲナーゼは大型の肝細胞を比較的多く分離した。コラゲナーゼ分散肝細胞の培養 24 時間目の接着率はトリプシンの系の約 2 倍であった。培養細胞数の継時的推移は両細胞系の間で著しく異った。トリプシンの系では、1 日の遅滞期の後培養細胞数は増加し始め、8 日目に最高に達した。一方コラゲナーゼの系では、培養初日より細胞数は漸減し、14 日頃から徐々に増加した。トリプシンで分離された成熟型肝細胞は障害を強く受けており、培養内での生存期間が短く、培養 6 日頃までに消滅した。一方コラゲナーゼで分離された成熟型肝細胞は比較的障害が少なく、又培養内での維持が良く、培養 8 日頃まで生存した。未成熟型（増殖型）肝細胞の出現時期については、トリプシン分散肝細胞系の方がコラゲナーゼの系に比べて極めて早期であった。コラゲナーゼ分散肝細胞を 1 日間培養し、トリプシン処理して継代した場合も未処理の系と同様の培養経過を示し、増殖型肝細胞の出現時期は早まらなかった。両肝細胞系は共に培養約 1 週間にアルブミン産生や G6Pase 及び TAT 活性を示した。G6Pase 活性レベルは両系の間で著明な差異は認められなかった。しかしコラゲナーゼの系はトリプシンの系に比べてアルブミン産生量は多く、特に TAT 活性は培養 2 日目まで約 3 倍の高値を示した。デキサメサゾン（ $1 \times 10^{-5} \text{M}$ ）及びインスリン（ $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）を同時添加すると、両系共に接着率が増加し、成熟型肝細胞の培養内生存期間が延び、更にアルブミン産生が高まり、TAT 活性が増加した。このホルモンへの応答性もコラゲナーゼの系でより強く認められた。以上の事実から、肝還流酵素の違いにより分離される肝細胞種の割合及び分離肝細胞

の状態（特に細胞膜の状態）に差異があり，増殖型肝細胞の培養にはトリプシン法が，一方成熟型肝細胞の培養にはコラゲナーゼ法が有利であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

トリプシンまたはコラゲナーゼの還流で分散したラット肝細胞を初代培養し，比較研究した結果，増殖型肝細胞の培養にはトリプシン法が，成熟型肝細胞の培養にはコラゲナーゼ法が有利であることを見出したもので，価値ある業績であると認める。

よって，本研究者は医学博士の学位を得る資格があると認める。