

[J. Toxicol. Sci., 4, 327 (1979)]

### Analysis of the Process of Cell Degradation induced by Triton X-100 in Ehrlich Ascites Tumor Cells

HIDEO SAWADA, TSUYOSHI YOKOI, SHINGO ASANO, HIDEOH KOMORIYA\*,  
ISAO OHYA\*

#### Triton X-100 によるエールリッヒ腹水がん細胞の細胞崩壊過程の解析

沢田英夫, 横井 毅, 浅野進吾, 籠谷秀翁\*, 大谷 勲\*

細胞は種々の外来毒性物質によって障害を受け, また形態学的, 生化学的変化を受ける。エールリッヒ腹水がん細胞を細胞材料として, これに緩和な界面活性剤である Triton X-100 を細胞崩壊剤として用い, 細胞の崩壊してゆく過程を解析した。

細胞損傷の指標として, 細胞膜の損傷には細胞質局在酵素である glucose 6-phosphate (G-6-P) dehydrogenase の漏出度, 細胞内顆粒リソゾーム膜の損傷については acid phosphatase,  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase, acid DNase のリソゾーム酵素 3 種の漏出度を用いた。実験条件は, 各種濃度の Triton X-100 と細胞 ( $1 \times 10^7$  cells/ml) を混和し, 25°C, 15 分間反応後, 上清へ漏出する酵素活性を測定した。また, 細胞の生理学的生死は Trypan blue 色素による染色の有無を判定指標とした。

細胞内物質の漏出過程は第 1 次相と第 2 次相に大別して観察された。Triton X-100 濃度 0.01% において, 低分子化合物, リン酸及び M-260 物質の漏出が観察され (第 1 次相), Triton X-100 濃度 0.03% で G-6-P dehydrogenase, 3 種の lysosomal enzymes, protein などの高分子化合物の漏出が認められた (第 2 次相)。そして, この高分子漏出曲線と Trypan blue による細胞染色曲線とは一致した。また, 形態学的には Triton X-100 濃度 0.01% で細胞は膨大し始め, 0.02% 濃度で最高に膨張するが, この段階の細胞は Trypan blue によって染色されない (第 1 次相)。0.03% におよび一部の細胞の崩壊が観察され, 0.04% で殆んど細胞は崩壊し, 細胞質の遊出が認められるが, 核の破壊はない (第 2 次相)。0.1% 濃度にいたり核残存体の凝集が観察される。すなわち, Triton X-100 による細胞崩壊は Triton 濃度 0.01% の段階では低分子化合物の漏出と細胞の膨大化は認められるが, Trypan blue によって染色されず, 細胞の崩壊は開始されていない。0.03% の段階で細胞は破壊され, 高分子化合物は漏出し, Trypan blue 染色も受ける。この細胞破壊の初発について, その時要する Triton X-100 濃度について, 別の実験系から解析し, 182  $\mu$ g/ml の値を得た。この値はよく Triton X-100 の CMC (150  $\mu$ g/ml) に近似し, この濃度に等しく, またはそれ以上で細胞の崩壊は開始されると考えられる。

\* 富山医科薬科大学