



DMBA誘導ハムスター舌癌モデルにおけるビタミンの影響

大矢, 隆志

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1986-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0612

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000612>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	お　　や　　たか　　し 大　　矢　　隆　　志　　（兵庫県）
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	医博い第504号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与の日付	昭和61年3月31日
学位論文題目	DMBA誘導ハムスター舌癌モデルにおけるビタミン の影響
審　査　委　員	主査 教授 島 田 桂 吉 教授 岩 井 誠 三 教授 杉 山 武 敏

論 文 内 容 の 要 旨

I. 緒 言

近年、実験的化学発癌を中心とした抗酸化剤の発癌抑制に関連して、ビタミンEも抗酸化作用を有することから発癌抑制作用が検討されてきたが、発癌剤、あるいはビタミンEの種類、量、投与時期、投与期間などによってさまざまな報告があり、ビタミンEの発癌抑制作用の有無、その抑制機序については明確な結論が得られていない。

一方、ビタミンAにおいても、ビタミンAの低下、あるいは欠乏状態が発癌に関与することが明らかにされて以来、副作用の少ないビタミンA誘導体が導入され、その発癌抑制作用が報告されている。しかし、その抑制機序については、細胞膜やライソゾーム膜の不安定化などの直接作用、さらにリンパ系細胞を介する免疫増強作用などの間接作用が考えられているが、未だ不明な点が多い。

そこで、ヒト舌癌と類似し、かつその増殖に宿主免疫能が大きく関与していると考えられるDMBA誘導ハムスター舌癌モデルを用い、発癌過程に及ぼすビタミンE、（[d1]- α -tocopherol）、ビタミンA類縁化合物であるポリプレニン酸（E-5166）の影響を検討し、併せてその抑制機序を解明する目的で、免疫系、特に腫瘍免疫の中心とされる細胞性免疫に及ぼす影響について検討した。さらに、制癌剤であるFT 207（フトラフル、以下FTと略）との併用効果についても検討を行った。

II. 実験材料および方法

神戸大学医学部口腔外科学教室で確立した発癌方法で行った。すなわち、週3回、11週まで、エーテル麻酔下に、生後2カ月の雄ゴールデンシリアンハムスターの右舌側縁中½に機械的刺激を加えた後、1.0% DMBA アセトン溶液を塗布し、4週放置後、15週末に屠殺した。

第1に、ビタミンEが正常ハムスター細胞性免疫能に及ぼす影響について、ビタミンE 1, 5, 10, 20, 40, 80mg/kg, HCO 60, 0.5 ml, および対照として生理食塩水 0.5 ml をそれぞれ14日間連日腹腔内投与した。投与後の脾細胞の mitogen (Con A, PHA, LPS) に対するリンパ球幼若化反応を測定し、同時に血中ビタミンE濃度、脾臓重量について検索した。

第2に、ビタミンEの投与時期、期間と発癌抑制作用との関連を検討する目的で、発癌操作と同時に、11週まで、週3回、または7週より13週まで、週3回、または発癌操作開始前2週間連日、それぞれビタミンE 20mg/kg を投与した。11週終了後、4週放置し、15週末に動物を屠殺し、腫瘍体積、発癌率、白血球数およびリンパ球数、脾臓重量、あるいは体重の経時的変化を検索し、同時に細胞性免疫能を脾細胞の mitogen (Con A, PHA, LPS) に対するリンパ球幼若化反応により検索した。

第3に、E-5166が同モデルに及ぼす影響を検討するために、11週までの発癌操作と平行して、15週まで 週3回、E-5166を10mg/kg, または40mg/kg を胃チューブにて強制経口投与した。15週末には屠殺し、腫瘍体積、発癌率、白血球数およびリンパ球数、脾臓重量、あるいは体重の経時的変化を検索し、同時に細胞性免疫能を脾細胞の mitogen (Con A, PHA, LPS) に対するリンパ球幼若化反応で検索した。

第4として、DMBAで誘発した舌癌ハムスターにおけるE-5166の生体内分布について、15週終了時、¹⁴C-E-5166を経口投与後(40mg/kg), 全身オートラジオグラフィーを用いて検索した。

第5として、ビタミンE, あるいはE-5166とFTとの併用効果を検索する目的、前述したビタミンE, E-5166にそれぞれFT 100mg/kgを11週より15週まで、週6回、腹腔内投与した。15週末に屠殺し、腫瘍体積、発癌率、白血球数およびリンパ球数、脾臓重量、あるいは体重の経時的変化を検索し、同時に細胞性免疫能を脾細胞の mitogen (Con A, PHA, LPS) に対するリンパ球幼若化反応で検索した。

III. 結果

ビタミンE 1, 5, 10, 20, 40, 80mg/kg/dayを14日間連日投与した後の脾細胞の mitogen に対するリンパ球幼若化反応は、5~40mg/kgの投与量でCon A, PHA に対する反応が有意に亢進し、非特異的細胞性免疫賦活作用を認めた。この作用は、特に20mg/kgの投与量で最も強く認められ、この時の血中ビタミンE濃度は対照群の約2倍を示した。しかし、80mg/kgの投与量ではこの免疫賦活作用は認められなかった。

発癌操作と同時に、11週まで、週3回、ビタミンE 20mg/kgを投与することにより、細胞性免疫能の低下が有意に軽減され、白血球数およびリンパ球数の減少が緩和される傾向がみられた。また、腫瘍体積および発癌率を抑制する傾向がみられた。しかし、7週より13週まで、あるいは発癌操作開始前

投与のみでは、細胞性免疫能の低下軽減はみられず、腫瘍体積、発癌率に影響はみられなかった。

E-5166 に関しては、E-5166, 10mg/kg, または40mg/kgを15週まで、週3回、投与することにより、細胞性免疫能の低下が有意に軽減され、白血球数およびリンパ球数の減少緩和傾向がみられた。また、腫瘍体積および発癌率の抑制傾向がみられ、特にE-5166, 40mg/kgでは発癌率の有意な低下が認められた。

E-5166の生体内分布を全身オートラジオグラフィーを用いて検討した結果、¹⁴C-E-5166 投与後24時間で舌腫瘍相当部への放射能の移行が強くみられ、全身的には、8時間後に顎下腺、肝臓、脾臓への放射能の移行が著明であったが、これらの臓器では24時間後に放射能が徐々に低減する所見がみられた。

ビタミンE, あるいはE-5166とFTとの併用効果について検討した結果、ConA反応に対しては、FT投与により抑制され、この抑制はビタミンE, E-5166投与によって有意に防止された。また、併用により脾臓重量の減少が予防される傾向がみられた。腫瘍体積においてもFT単独に比し、併用により抑制される傾向がみられた。

IV. 考 察

ビタミンE 5~40mg/kg投与により、ConAおよびPHA反応が有意に亢進し、ビタミンEが細胞性免疫を賦活する作用を有することが明らかになった。この作用は20mg/kg投与で最も強いが、逆に80mg/kgではこの作用は消失し、ビタミンEによる免疫賦活作用には、至適濃度が存在すると考えられた。また、ビタミンE 20mg/kg投与時、すなわち、細胞性免疫能が最も高まった状態での血中ビタミンE濃度は、対照群の約2倍を呈し、臨床位ビタミンE投与量を決定するための1つの指標が示唆された。

本実験より、ビタミンE投与時期としては、乳頭腫様小腫瘍の段階で、未だ自律的増殖能を獲得していない時期での早期投与が望ましいことが明らかとなった。

ビタミンE, あるいはE-5166によるDMBA誘導ハムスター舌癌の抑制機序については、ビタミンE 20mg/kgを11週まで週3回、あるいはE-5166, 40mg/kgを15週まで週3回投与によって細胞性免疫能抑制が軽減されること、さらに白血球数およびリンパ球数の減少を緩和する生体の恒常性維持に係わる作用をもつことが考えられた。

全身オートラジオグラフィー所見より、24時間後に舌腫瘍相当部への放射能の移行が強くみられ、E-5166の腫瘍に対する直接作用の可能性が示唆された。

ビタミンE, あるいはE-5166とFTの併用により、FT単独に比し、抗腫瘍効果は減弱されず、むしろ増強される傾向がみられた。これは、FTによる細胞性免疫能の低下がビタミンE, あるいはE-5166の併用により有意に防止されることに起因すると考えられる。

これらの結果は、ビタミンE, あるいはE-5166が癌主病巣を外科的に切除した後の残遺癌細胞や化学療法剤による生体の免疫抑制に対して、治療上、十分に有用な薬剤であることを示唆するものと考えられる。

V. 結 語

- 1) 正常ハムスターにビタミンE 5~40mg/kgを14日間連日腹腔内投与した結果, ConA, PHA に対する反応が亢進し, ビタミンEが細胞性免疫賦活作用を有することが明らかになった。この作用は, ビタミンE 20mg/kgで最も強く, 80mg/kgでは消失し, ビタミンEによる免疫賦活作用には至適濃度が存在すると考えられた。
- 2) ビタミンE 20mg/kg投与後の血中ビタミンE濃度は, 対照群の約2倍を示し, 臨床上ビタミンE投与量を決定するための指標が得られた。
- 3) 発癌操作と同時に11週まで週3回, ビタミンE 20mg/kgを投与した場合, 腫瘍体積および発癌抑制傾向がみられた。従って, ビタミンEが発癌起始過程に強い影響を及ぼしているものと考えられた。
- 4) ビタミンEによる抑制機序として, ビタミンEの持つ細胞性免疫賦活作用および白血球数, リンパ球数の減少を緩和する作用が一因であると考えられた。
- 5) 11週までの発癌操作と平行して, 15週まで週3回, E-5166, 40mg/kgを強制経口投与した場合, 有意の発癌抑制および腫瘍体積の抑制傾向がみられた。
- 6) E-5166による抑制機序として, ビタミンE同様, 細胞性免疫賦活作用および生体の恒常性維持に係わる作用が考えられた。また, 全身オートラジオグラフィー所見より, E-5166の腫瘍への直接作用の可能性も示唆された。
- 7) ビタミンE, あるいはE-5166とFTとの併用により, 抗腫瘍効果は減弱せず,むしろ増強すること, かつ, FTによる細胞性免疫能の低下が防止されることが明らかとなった。
- 8) ビタミンE, E-5166の長期投与による副作用は特に認められない。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

癌治療の補強療法として, しばしば臨床で用いられるビタミンE, ビタミンAとその誘導体およびビタミンA類縁化合物の制癌効果については, 口腔扁平上皮癌にその治療効果を認める報告は多いが, 投与量, 投与時期, 投与期間などは種々で, in vivoにおける作用機序についての検討は少なく, 未だ明確な指標は示されていない。

申請者は当教室で確立したDMBA誘導ハムスター舌扁平上皮癌モデルを用い, ビタミンEにはその同族体の中で最も生物学的活性が強いとされる[dl]- α -tocopherol, ビタミンA類縁化合物には合成レチノイドに匹敵するパピローマ抑制効果を示し, 副作用の少ないポリプレノ酸を選び, 舌扁平上皮癌に及ぼす影響を細胞性免疫を中心に, その抗腫瘍作用に関する投与量, 投与時期および期間について検索し, 併せて常用制癌剤であるフトラフルとの併用効果についても検討した。

実験方法は, DMBAで誘導されたゴールデンシリアン舌癌ハムスターを実験モデルとして, 細胞免疫能については, 脾細胞に対するリンパ球幼若化反応, 即ち, Concanavalin A (Con A), phytohemagglutinin (PHA), lipopolysaccharide (LPS)で, 血中ビタミンE濃度は高速液体クロマトグラ

フィーを用い、また、ポリプレレン酸の生体内分布については、 ^{14}C でラベルし、全身オートラジオグラフィで検索した。その他、腫瘍体積の算出には Van Woert らの方法を用い、発癌率は病理組織所見で検討した。それぞれの測定値検定は t -検定で行った。実験に供された舌癌ハムスター総数は 186 匹である。

まず、ビタミンEについては、その投与量、投与時期および期間が細胞性免疫能に及ぼす影響を正常ハムスターで調べた結果、ビタミンE $20\text{mg}/\text{kg}$ 、腹腔内連日14日間投与時に、リンパ球幼若化能が他の投与量に比して有意に強く亢進することが認められた。80 mg/kg の高投与量になると、この免疫賦活作用は消失し、ビタミンEの細胞性免疫賦活作用には至適量のあることが示唆された。

ビタミンEの投与時期および期間と腫瘍増殖抑制効果の関連については、発癌操作と平行して11週まで週3回、ビタミンE $20\text{mg}/\text{kg}$ を腹腔内投与した場合に、腫瘍体積の増大抑制ならびに発癌抑制傾向が認められたが、前投与、あるいは自律的増殖能獲得時期の前後の投与のみでは無効であり、ビタミンEはDMBA誘導舌癌の発癌初期の過程で抗腫瘍作用を有することが示された。また、ポリプレレン酸についても発癌操作と平行して、40 mg/kg を胃チューブで強制投与した場合に、有意に発癌抑制および腫瘍体積の増大抑制が認められた。この作用機序については、ビタミンE、ポリプレレン酸ともに細胞性免疫能低下を有意に軽減し、かつ、白血球、リンパ球数の減少を緩和する作用がその一因と考えられる。ポリプレレン酸にはオートラジオグラフィの所見より、腫瘍組織への取り込みが観察され、腫瘍への直接作用をもつ可能性も推定される。

抗癌剤フトラフルとの併用では、ビタミンE、ポリプレレン酸ともにフトラフル単独に比し、細胞性免疫低下を軽減し、腫瘍体積の増大を有意に抑制したが、発癌率に関しては、ポリプレレン酸とフトラフルを併用した場合にのみ、発癌率を抑制することが明らかにされた。

これらの結果から、本研究は従来殆んど行われなかったビタミンE、およびビタミンA類縁化合物の抗免疫抑制、抗腫瘍作用には、投与量、投与時期および期間によって差のあることを実験的に証明し、有効な舌癌化学療法に新たな知見を加えたものであり、価値ある集積であると認める。よって、申請者は医学博士の学位を得る資格があると認めた。