

氏 名 ( 本 籍 )                      とり                      やま                      かず                      よし  
   鳥                      山                      和                      壮

学 位 の 種 類                      医                      学                      博                      士

学 位 記 番 号                      医                      第                      8 0 4                      号

学位授与年月日                      昭 和   4 8   年   7   月   1 1   日

学位授与の要件                      学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴                      昭 和   3 6   年   3   月   2 5   日

東北大学理学部卒業

学位論文題目                      Absorption, Distribution and Excretion  
   of Neocarzinostatin (NCS) in Mice after  
   Oral Adminislration.

( ネオカルチノスタチンのマウス経口投与時  
に於ける吸収, 分布, 排泄の動態 )

( 主 査 )

論文審査委員   教授   佐 藤 春 郎   教授   山 根                      績

教授   斎 藤 達 雄

# 論文内容要旨

## 〔 研 究 目 的 〕

Neocarzinostatin (NCS) は酸性蛋白で 109 個のアミノ酸よりなる分子量 10,700 の抗腫瘍性抗生物質であり、N 末端はアラニン、C 末端はアスパラギンで分子内に 2 個の S-S 架橋を有し、この 2 個の S-S 架橋を含む高次構造が NCS の生物活性に関与している。

NCS は酸性で安定、また蛋白分解酵素のトリプシン、キモトリプシン、プロナーゼ等の作用に対し安定であることから経口投与でも吸収される可能性を考え、マウスで生体内分布の動態を調べる事を試みた。

## 〔 材 料 及 び 方 法 〕

NCS：供試 NCS は DEAE セルロースにより精製された単一の物質で、156.0 mcg U/mg の力価を有する。急性毒性：マウス、ラット、家兎について検討した。マウス、ラットは 1 群 10 匹ずつ、家兎は 2 匹を実験に用いた。NCS の検定法：Sarcina lutea PCI 1001 株を被検菌とした薄層カップ法により検定。本法で測定し得る最小濃度は 0.02-0.05 mcg/ml。生体内分布：雄 ddN, 21 日のマウスを用い、200 mg/Kg の NCS を経口投与後所定時間後の血中及び各組織内濃度の検討を行ない、100-200 mg/Kg 静注の夫と比較した。排泄糞便中の回収率：6 匹のマウスに 200 mg/Kg の NCS 濃度を経口投与し、6 時間毎に 1 匹ずつ測定した。in vitro に於ける消化管組織乳剤中での不活性化：胃、小腸、大腸の各 10% 組織乳剤に 50 mcg/ml になるよう NCS を調製し、4℃ と 37℃ 1 時間放置後の不活化率を求めた。

## 〔 実 験 結 果 〕

1) NCS の急性毒性：マウスに対する NCS 静注及び経口投与での急性毒性は前者が 0.96 mg/Kg、後者が 1 g/Kg。同様な差 (1:1,000) はラット、家兎でも認められた。次にマウスに静注、経口共に 1 LD<sub>50</sub> 量を投与時の症状をみると立毛、食思不振、体重減少など様相が極めて類似する。また剖検的に肺及び小腸出血、脾及び胸腺の縮小が共通して認められたが、経口投与では消化管の出血傾向がやや強い。2) 経口投与後の NCS の生体内動態：両投与法共 1 LD<sub>50</sub> の NCS を与えると毒性症状が似ている事より経口投与後腸管からの吸収が考えられたので 200 mg/Kg 経口投与後血中濃度及び体内分布の検討を行ない、静注の夫と比較した。静注では投与 3 分以内に血中濃度は 1550 mcg/ml に達し、半減期は 3-4 分で、2 時間後には認められなくなる。経口では 60 分後 0.5 mcg/ml、90 分後 0.2 mcg/ml の血中濃度が認められ吸収の起っている事が明らかになった。次に同一血中濃度を得るための投与量の比較を行なうと経口：静注 = 400 という値が得られ LD<sub>50</sub> 値の比 1,000 と近似であった。経口後の消化管の検索では胃、小腸の内容と組織に証明され、大腸には短時間で移行し難い事を示した。しかし 2-6 時間迄調べると大腸にも長時間にわたり証明された。消化管以外の臓器では肺、皮フ、脾に認

められ、肺には  $0.2 - 0.44 \text{ mcg/g}$  ( 静注時の  $1/10 - 1/20$  ), 皮フには  $0.16 - 0.53 \text{ mcg/g}$  ( 静注時の  $1/25 - 1/100$  ) と両組織共低濃度であるが長時間 NCS が検出された。脾では 30 分と 60 分に  $0.15 \text{ mcg/g}$  を認めた。静注と異なり尿中排泄は僅かであった。3) 糞便中の NCS 回収率: 血中及び腸管外の臓器に NCS は非常に低濃度にしか認められない事から NCS の大部分は糞便中へ排泄される事が予想されたので、 $200 \text{ mcg/Kg}$  の NCS を経口投与後糞便への排泄率を検討した。その結果、投与量の  $2.65\%$  (  $11 - 42\%$  ) が 12 時間以内に回収された。4) *in vitro* に於ける消化管組織乳剤中での NCS 不活性化: 経口投与後 NCS の糞便中への回収率が予想に反し比較的少ない事から消化管中での NCS の不活性化が考えられたので胃、小腸、大腸の各 10% 乳剤中にて  $50 \text{ mcg/ml}$  NCS の  $4^\circ\text{C}$  と  $37^\circ\text{C}$  に於ける不活化率を検討したところ、 $4^\circ\text{C}$  で胃乳剤に  $16\%$ 、小腸及び大腸乳剤で約  $25\%$  の吸着が認められ、 $37^\circ\text{C}$  1 時間の反応後胃乳剤中で  $22\%$ 、小腸及び大腸乳剤中で  $50\%$  の不活性化が認められ、小腸及び大腸での不活性化は胃より大である事が推定された。

#### 〔 考 察 〕

NCS の経口投与と静注の  $50\%$  致死量に  $1,000$  倍という大きな差が認められたのでその差の解析を行なった。静注及び経口投与で  $1 \text{ LD}_{50}$  を投与した場合のマウスの毒性症状は殆んど同一であったので NCS は経口投与後腸管から血中へ僅かであるが吸収される事が予想された。両投与法で NCS の同一血中濃度を得るための経口投与量は静注のその  $400$  倍を要し、この比は毒性の比 (  $1,000$  ) に近似の値である。 $1 \text{ g/Kg}$  という高濃度の NCS を経口投与すると初めて NCS の血中濃度は毒性濃度に達し脾、胸腺、胃腸組織へ血中より移行すると思われ同じ毒性症状で死亡する。経口時の NCS 血中濃度は 1 時間後最高値 (  $0.5 \text{ mcg/ml}$  ) に達し、2 時間以後には検出されなかったが消化管内容に NCS は高濃度に長時間存在する事から NCS は腸管壁を通し持続的に吸収され肺、皮フに分布する事が推定される。血中濃度の比較から経口での毒性は  $400 - 500 \text{ mcg/Kg}$  と推定されたが実際には  $1 \text{ g/Kg}$  であった。この差は小腸及び大腸内で  $50\%$  失活する事で説明出来、事実経口投与量の  $2.6\%$  しか糞便へ排泄されなかった事と小・大腸乳剤中で NCS の失活がみられた事はこれを支持する。最近佐藤らは NCS 経口投与により腹水肝癌中肺転移性の認められる肝癌に明確な抗腫瘍効果のある事を示した。これは経口投与後 NCS は肺へ分布する事を証明したものといえる。

#### 〔 結 論 〕

分子量  $10,000$  の抗腫瘍性抗生物質である NCS をマウスに経口投与すると腸管から吸収される事実を明らかにし、その生体内動態の詳細をのべた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は制癌性抗生物質のひとつで分子量約 1 万のたん白であるネオカルチノスタチン (NCS) を主としてマウスを用い経口投与し、吸収・排泄・分布の動態を同物質の静注後の動態と比較した論文である。

著者は第 1 に経口投与と静脈内投与の際急性毒性 ( $LD_{50}$ ) を示す投与絶対量を比較し 1,000 : 1 の比であること、ただし両者ともに 1  $LD_{50}$  を投与すると近似の毒性症状と病理所見でマウスは死亡することを明らかにした。この事は経口投与した NCS の約 1/1000 が吸収される事を示唆するが、第 2 に経口投与量と静注投与量とを変えて、同じ血中濃度を確保するに必要な投与量を比較するとはば 500 : 1 で前述の 1,000 : 1 と近似する事を認めた。第 3 に経口投与された NCS の腸管内動態を追求すると胃、小腸、大腸の内容物のみならず腸管の組織にも NCS の証明される事、またこれを時間的に追及し、漸次上から下へ移行して行く状況を明らかにした。第 4 にそれでは糞便に経口投与した NCS の何%が証明されるかしらべると 26% (11~42%) が回収された。即ち腸管内で一部 NCS の不活化が起るとすればこの数字は前述の 500 : 1 と 1,000 : 1 の量比を説明するのに妥当である。そこで第 5 に *in vitro* でとり出した腸管各組織のホモジェネートによる NCS の不活化をしらべると小腸、大腸にこの様な活性が証明された。以上から経口投与の NCS の約半分は腸管内で不活化され、のこりの 1/500 が吸収されるものと想定された。なお経口投与法の利点として腸管組織以外に皮膚や肺にもよく移行し、不活化されずにかかなり長時間とどまる事が明らかになった。これは NCS の経口投与によって肺に転移性の高いラット肝癌を特異的に治療可能であるとする佐藤博のデータと一致する。

以上著者は NCS という高分子たん白の経口投与後に於ける生体内動態の詳細を明らかにし、これを経口投与による癌治療の問題とむすびつける系統的な研究を行った点、本論文は学位授与に値するものと認める。