

氏 名（本籍） 松 本 宏

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 4 2 5 号

学位授与年月日 平 成 4 年 2 月 26 日

学位授与の条件 学位規則第4条第2項該当

最 終 学 歴 昭 和 57 年 3 月 25 日
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 バリン欠乏アミノ酸インバランス輸液による抗
腫瘍効果の in vivo における検討

（主 査）

論文審査委員 教授 森 昌 造 教授 松 野 正 紀

教授 金 丸 龍之介

論 文 内 容 要 旨

癌に対するアミノ酸インバランス療法とは、栄養の面より積極的に腫瘍の増殖を抑制しようとする試みであり、いくつかのアミノ酸について、臨床応用を目的とした検討が報告されているが、バリン欠乏アミノ酸インバランスについては、これまでに報告がない。一方、バリン欠乏アミノ酸インバランス輸液の投与により、腫瘍の増殖が著明に抑制されることが、教室より報告されており、癌に対するアミノ酸インバランス療法として、バリン欠乏アミノ酸インバランス輸液が有用と考えられる。今回は、バリン欠乏アミノ酸インバランス輸液の腫瘍増殖抑制効果を増強する目的で、抗癌剤との併用効果を検討し、さらに、輸液自体の効果を増強する目的で、バリン欠乏インバランス輸液へのロイシン増量およびロイシンのケト酸である α -ケトイソカプロン酸(KIC)添加の効果について検討した。また、これらの輸液が腫瘍の細胞周期に及ぼす影響を、経口摂取と完全静脈栄養(TPN)輸液を対照に検討した。

実験には、腹水肝癌 AH109-A 細胞 1×10^7 個を皮下移植したドンリュウラットを、中心静脈栄養下に 8 日間飼育する *in vivo* の実験系を用い、実験期間中は体重と腫瘍径を計測した。8 日目に、腹部大動脈より脱血して犠殺し、腫瘍重量と臓器重量を計測するとともに、白血球数、血漿中総蛋白およびアルブミン値などを測定し、さらに、血漿中の遊離アミノ酸濃度も測定した。また、腫瘍の細胞周期は、3 日目に 5-Bromo-Deoxyuridine (BrdU) 20mg/kg を静脈内投与して、1 時間後に脱血犠殺して腫瘍を摘出し、FITC 標識抗 BrdU 抗体および Propidium Iodide で二重染色した後、Flow cytometry で測定した。

その結果、バリン欠乏アミノ酸インバランス輸液単独の腫瘍増殖抑制効果は抗癌剤よりも優れていたが、宿主に対する影響も大きく、脂肪肝、脾臓と胸腺の萎縮、白血球減少、低蛋白血症を認めた。また、バリン欠乏アミノ酸インバランス輸液との併用が有効な抗癌剤は、CDDP と MMC であり、しかも、バリン欠乏アミノ酸インバランス輸液により、CDDP に対する腫瘍の薬剤感受性が高まった可能性が示唆された。しかし、5-FU をバリン欠乏アミノ酸インバランス輸液と併用した場合には、バリン欠乏インバランス輸液単独の場合よりも腫瘍増殖は大きく、adverse effect が認められ、薬剤感受性は低下していた。これらの薬剤の併用により、バリン欠乏アミノ酸インバランス輸液の副作用が増強することはなかったが、ADR との併用の場合は、5 匹中 4 匹が 8 日目までに死亡しており、毒性が増強した。

バリン欠乏アミノ酸インバランス輸液にロイシンを増加することにより、また、さらに KIC を添加することにより、輸液自体の腫瘍増殖抑制効果が増強する可能性が期待された。一方、その副作用はバリン欠乏のみの輸液の場合と同程度か、やや増強していた。血漿中の遊離アミノ酸の

アミノグラムは、輸液中のバリンを欠乏させても、血漿中のバリン濃度の低下は約40%ほどであったが、他のアミノ酸のアミノグラムに乱れが生じていた。また、ロイシンを増量することにより、血漿中のロイシン濃度は有意に増加したが、KICを添加しても、ロイシン濃度には影響を与えなかった。腫瘍の細胞周期は、完全静脈栄養輸液において、すでに、経口摂取よりもG₀G₁期の細胞の割合が増加し、S期の細胞の割合が減少していたが、完全静脈栄養輸液とバリン欠乏アミノ酸インバランス輸液との間に有意差はなく、また、ロイシンを増量したり、KICを添加しても細胞周期の各期の細胞の割合には大きな差はなかった。

以上の結果より、8日間にわたるバリン欠乏アミノ酸インバランス輸液は優れた腫瘍増殖抑制効果を示すものの、副作用も強いことより、副作用を軽減する目的で、投与期間を3日間に短縮し、代わりに、ロイシンとKICを加えたバリン欠乏アミノ酸インバランス輸液を用い、インバランス期間中にCDDPを投与し、通常のTPN輸液に変更後にMMCを投与するスケジュールを検討した。その結果、腫瘍重量は対照群の約13%にまで抑制されており、しかも、その時の副作用は、化学療法単独の場合とほぼ同程度であった。

バリン欠乏アミノ酸インバランスあるいはバリン欠乏・ロイシン増量・KIC添加インバランスは、化学療法の補助療法として、臨床応用が可能であると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、癌に対するアミノ酸インバランス療法として、必須アミノ酸のうち、バリン欠乏インバランスについて、抗腫瘍効果の増強と副作用の軽減を目的に検討している。

以下に、本研究の方法、結果とその意義について示す。

実験には、薬剤耐性である腹水肝癌 AH109A 細胞 1×10^7 個を、ドンリュウラットの皮下に移植し、中心静脈栄養下に 8 日間飼育する実験系を用い、8 日目に脱血犠殺し、腫瘍および臓器重量の測定と組織学的検索を行い、血液生化学的検査と血漿中の遊離アミノ酸濃度を測定している。抗腫瘍効果の増強を目的とした実験として、まず CDDP, MMC, 5-Fu, ADR を用いて抗癌剤との併用効果を検討し、次いで、輸液自体による腫瘍増殖抑制効果を増強するため、ロイシンおよび α -ケトイソカプロン酸 (KIC) を添加したバリン欠乏インバランス輸液について検討し、さらに、腫瘍の細胞周期を二重染色した Flowcytometry を用いて測定している。

その結果、CDDP と MMC はバリン欠乏アミノ酸インバランス輸液との併用が有効な抗癌剤であり、しかもバリン欠乏インバランスにより CDDP に対する腫瘍の薬剤感受性が高まる可能性が示唆され、副作用もバリン欠乏インバランス輸液単独の場合と同程度であった。しかし、5 Fu の併用では adverse effect が認められ、ADR との併用の場合は毒性が増強していた。また、バリン欠乏インバランス輸液にロイシンや KIC を添加することにより、輸液自体の腫瘍増殖抑制効果が増強する可能性が期待されるが、その副作用である脂肪肝、脾臓と胸腺の萎縮、白血球減少、低蛋白血症は同程度か、やや増強していた。血漿中のアミノグラムでは、輸液中のバリンを欠乏させても血漿中のバリン濃度の低下は約 40% ほどであり、ロイシンを増量することにより血漿中のロイシン濃度は増加するが、KIC を添加してもロイシン濃度には影響を与えなかった。

また、腫瘍の細胞周期の各期の細胞の割合には大きな差はなかった。

これらの結果をもとに、8 日間にわたるバリン欠乏インバランスの副作用を軽減する目的で、ロイシンと KIC を加えたバリン欠乏インバランス輸液を 3 日間に短縮して投与し、インバランス期間中に CDDP を投与し、完全静脈栄養輸液に変更後に MMC を投与するスケジュールを検討している。その結果、腫瘍重量は対照群の約 13% にまで抑制されており、しかもその時の副作用は、化学療法単独の場合とほぼ同程度であり、バリン欠乏アミノ酸インバランスあるいはバリン欠乏、ロイシン増量、KIC 添加インバランスは、化学療法の補助療法として臨床応用が可能であると考えられた。バリン欠乏アミノ酸インバランスの研究は、これまでに研究報告のない独創的な研究であり、近い将来、臨床に応用せんとする意図にあり、さらなる発展を期待するものである。よって本論文は学位に値するものである。