



Title	ACNUの抗脳腫瘍効果に関する基礎的研究
Author(s)	中川, 秀光
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33171">https://hdl.handle.net/11094/33171</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	中 川 秀 光
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 5 4 5 号
学位授与の日付	昭 和 57 年 3 月 3 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	ACNU の抗脳腫瘍効果に関する基礎的研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 最上平太郎
	(副査) 教 授 坂本 幸哉 教 授 神前 五郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

脳腫瘍に対する化学療法に際しては、薬剤の血脳関門の通過性が大きな問題とされ、その点より近年脂溶性制癌剤とくにニトロソウレア系制癌剤が用いられる場合が多い。本研究は最近本邦で開発されたニトロソウレア系制癌剤〔1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloro-ethyl)-3-nitrosourea hydrochloride〕(ACNU)の実験グリオーマに対する抗脳腫瘍効果を *in vitro* ならびに *in vivo* で検討したものである。

### 〔方法ならびに成績〕

1. 実験動物は生後4～6週の雄C<sub>57</sub>BLマウスを用いた。実験脳腫瘍はC<sub>57</sub>BLマウス脳内に20-methyl-cholanthrene pelletを挿入することにより誘発された malignant glioma (203 glioma)を同系マウス背部皮下に継代移植したものである。細胞培養系の実験は上記皮下移植腫瘍よりえられた培養株細胞を用い、20% fetal bovine serumを加えたEagle MEM 5 mlを標準培養液として60mm plastic Petri dishにて、37℃、5% CO<sub>2</sub>条件下で培養した。

2. 継代48時間後の培養細胞にACNUを、標準培養液中の濃度が、0, 5, 10, 20および50μg/mlになるように加えて1時間 incubate した。その後TD液にて洗滌し再び標準培養液を加えて24時間 incubate した後生細胞数を測定し、対照群(ACNU非添加)に対するその割合を算出した。また各濃度のACNUを1時間作用させた後、経時的に細胞数を測定し、腫瘍細胞の growth curve を求めた。その結果ACNUの濃度(5～20μg/ml)に比例して濃度が高いほど logarithmic phaseの培養グリオーマ細胞の増殖が抑制され、cell viabilityが低下するのが観察された。

3. ACNU (5, 10および50 $\mu\text{g/ml}$ )の培養細胞のDNA, RNA, および蛋白合成に対する阻害作用を $^3\text{H}$ -thymidine,  $^3\text{H}$ -uridine,  $^3\text{H}$ -leucine (それぞれ1  $\mu\text{Ci/dish}$ )の酸不溶性分画への取り込み抑制より観察した(37 $^{\circ}\text{C}$ , 30分間 incubate)。その結果ACNU濃度に比例して $^3\text{H}$ -thymidineの取り込み阻害がみられた。 $^3\text{H}$ -uridineの取り込みはACNU 5  $\mu\text{g/ml}$ では阻害されなかったが, 10, および50 $\mu\text{g/ml}$ の高濃度では阻害された。 $^3\text{H}$ -leucineの取り込み阻害はこのACNU濃度では認められなかった。この結果よりACNUは, DNAおよびRNAの合成阻害をもたらすことが明らかにされた。

次にACNU (5および10 $\mu\text{g/ml}$ )を持続的に作用させながら, 経時的に $^3\text{H}$ -thymidine,  $^3\text{H}$ -uridineの取り込み阻害を調べた。その結果ACNU 10 $\mu\text{g/ml}$ では $^3\text{H}$ -thymidine,  $^3\text{H}$ -uridineともに漸次取り込み阻害が増強されたが, 5  $\mu\text{g/ml}$ では $^3\text{H}$ -uridineの取り込みは, 対照群と差はみられなかった。

一方培養細胞に $^{14}\text{C}$ -thymidineをあらかじめ24時間接触させた後, ACNUを1時間, あるいは持続的に接触させ, 経時的に $^3\text{H}$ -thymidineの取り込みをみた結果では, ACNU処理群と非処理群の間に $^{14}\text{C}$ の放射活性の差はみられず, また経時的な $^{14}\text{C}$ の放射活性の低下もみられなかった。この結果培養細胞の既存DNAは, ACNU存在下でbreak downされ難いと考えられた。

4. 過剰thymidineを用いて同調培養を行い, その同調細胞に対するACNUの増殖抑制効果を検索した。その結果ACNUは培養細胞の細胞周期のall phaseに増殖抑制効果を示したが, 特にS期細胞に対しcell killing effectが強く, M期細胞に対し最も弱かった。

5. ACNU (10 $\mu\text{g/ml}$ )を同調培養細胞の $G_1$ 期に添加すると, DNA合成を阻害し, cell progressionを遅延させ $G_2$ , M期が延長し, 細胞が $G_2$ , M期に集積するパターンを示した。

6. In vivo実験では10 $^6$ 個(0.1 ml)の腫瘍細胞を, マウス大腿部皮下に注入移植して作成した皮下移植グリオーマの増殖が, ACNUの投与量(1 mg/kg $\sim$ 10mg/kgを5回反復投与, あるいは10mg/kg $\sim$ 20mg/kg 1回投与)に比例して抑制された。

また10 $^6$ 個の腫瘍細胞を経皮的に脳内に移植することにより作成した頭蓋内移植グリオーママウスの生存日数が, ACNU (10, 20mg/kg)投与により有意に延長した。

7. 腹腔内に投与されたACNUの体内分布を高速液体クロマトグラフィー法により調べた。その結果ACNUはすみやかに脳ならびに実験脳腫瘍内に取り込まれたが, とくに脳腫瘍組織の濃度は長時間高く維持される傾向がみられた。

#### 〔総括〕

マウス実験グリオーマを用いてACNUの抗腫瘍効果をin vitroおよびin vivoで検討した。その結果ACNUはこの実験グリオーマに対し強い抗腫瘍効果を有し, また全身投与されたACNUは容易に脳腫瘍内に取り込まれることが明らかとなった。

### 論文の審査結果の要旨

本研究は, ニトロソウレア系制癌剤ACNU [1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-

3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride] の抗脳腫瘍効果を、マウス実験グリオーマ (203 Glioma) を用いて in vitro および in vivo で検討したものである。その結果本剤が、強い抗グリオーマ作用を有し、また脳腫瘍内に高濃度に取り込まれることを明らかにした。

この研究結果は、脳腫瘍に対する化学療法に際して、本剤の臨床応用上の有用性を強く示唆するものであり、十分学位に値するものと考えられる。