

Title	スフィンゴ脂質の抗腫瘍活性
Author(s)	丸, 守正
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36558
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	まる 丸	もり 守	まさ 正
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	8504	号
学位授与の日付	平成元年3月10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	スフィンゴ脂質の抗腫瘍活性		
論文審査委員	(主査)	教授 加藤 四郎	
	(副査)	教授 濱岡 利之	教授 谷口 直之

論文内容の要旨

(目 的)

糖脂質は動物細胞の主要成分として存在し、細胞の生物学的機能の発現に重要な役割を果たしていると考えられている。免疫学的応答に関しても、糖脂質が種々な影響を及ぼしていることが知られている。とくに、糖脂質の *in vivo*, *in vitro* におけるマクロファージの活性化及びマウスに投与した場合の抗腫瘍性の発現等において興味深い報告がある。

本研究はこの点に着目し、糖脂質の基本骨格である ceramide 及び数種の低分子糖脂質における抗腫瘍活性を、C3H/HeN マウスを用いた同系腹水腫瘍 (MH134 及び MM102) により評価し、その作用機序を検討することを目的としたものである。

(材料と方法)

実験動物と腫瘍：マウスは C3H/HeN CrJ (6週令, ♀) を使用した。同系腹水腫瘍としては MH134 肝癌 (MH134) 及び MM102 乳癌 (MM102) を用いた。化学物質：スフィンゴ脂質は、我々の研究室で抽出した lactosyl ceramide と SIGMA 社から購入した 6 種 (ceramide type 3, ceramide type 4, galactocerebroside type 1, galactocerebroside type 2, glucocerebroside, 及び cerebroside sulfate) を用いた。又、抗マクロファージ物質としては, lambda carrageenan (SIGMA 社) を使用した。抗腫瘍活性の評価：100LD₅₀/mouse の腫瘍をマウスに ip 接種して 24 時間後に、スフィンゴ脂質 (2mg/mouse) を ip 投与した。これ等の動物は 45 日間観察し、腫瘍死の有無を確認した。Goldin A. and Carter SK. の方法に従って ILS (increase in life span) を計算し、30% 以上の ILS を抗腫瘍活性陽性とし、見なした。

細胞増殖阻害の評価：10%牛胎仔血清加MEMにより200 μ g/mlの薬剤溶液を作製し、37 $^{\circ}$ Cの5%CO₂ incubatorでMH134又はMM102を培養した。培養液を経時的に採取し、細胞数を計測し、薬剤無添加対照との増殖率を比較した。細胞傷害作用の評価：2mg/mlの薬剤と腫瘍細胞を混合し、37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ incubatorで5時間作用させた後、腫瘍細胞を種々の濃度に希釈してマウスに、ip接種し、細胞接種量と腫瘍死の関係を対照群と比較した。マウスのカラゲナン処理：抗腫瘍作用がマクロファージを介して行われているか否かをしらべるために、腫瘍を接種する3日前と1時間前の2回、カラゲナン(0.5mg/mouse)をマウスにip投与した。Winn assay：Effectorとしては、薬剤(2mg/mouse)をマウスにip投与し24時間後に腹腔浸出細胞(PEC)を採取して使用した。Effector：Target ratioは100：1として、37 $^{\circ}$ C、30分間CO₂ incubatorで培養後マウスにip接種した。マウスは、腫瘍の増殖に伴う体重の増加率を対照群と比較するために15日間観察した。

〔結果〕

1. 7種のスフィンゴ脂質の抗腫瘍活性

スフィンゴ脂質の基本骨格であるceramideでは、 α 水酸化脂肪酸を含むceramide type 4の場合に、両腫瘍(MH134及びMM102)に対して強く安定した抗腫瘍作用が誘導された。しかし、ceramide type 4にGalactoseが1分子付加されることにより、MM102に対しては無効となった。cerebroside sulfate及びlactosyl ceramideでは両腫瘍に対する抗腫瘍活性は認められなかった。

2. Ceramide type 4のMH134及びMM102に対する作用機序

- a. 本物質は、腹水腫瘍に対し、ip投与したときは有効であったが、皮下(sc)投与では無効であった。
- b. 本物質は、腫瘍接種24時間後にip投与したときに最も強い抗腫瘍効果を示した。
- c. 本物質は、200 μ g/mlの濃度で、in vitroにおける細胞増殖阻害作用は認められず、又2mg/mlの濃度での37 $^{\circ}$ C、5時間の作用では、in vivoにおける腫瘍増殖を指標にしてみた場合、細胞傷害作用は認められなかった。
- d. カラゲナンで前処理したマウスでは、本物質の抗腫瘍活性は認められなかった。
- e. 本物質(2mg/mouse)で前処理(24時間前)したマウスのPECを採取し、Winn assayを試みた。その結果、腫瘍増殖に伴うマウスの体重増加が、初期の段階で対照群に比較し多少抑制されたが、最終的にはすべてのマウスが腫瘍死した。

〔総括〕

7種の動物組織由来スフィンゴ脂質の抗腫瘍活性をC3H/HeNマウスとその同系腹水腫瘍(MH134及びMM102)を用いて評価した。その結果、 α 水酸化脂肪酸をもつceramide(ceramide type 4)が強い抗腫瘍作用を誘導した。この抗腫瘍作用は、腫瘍細胞に対する増殖阻害や傷害作用ではなく、マクロファージを介した宿主依存性の作用と考えられた。

論文の審査結果の要旨

本研究は、7種の動物組織由来のスフィンゴ脂質の抗腫瘍活性を、C3H/HeNマウスと同系腹水腫瘍であるMH134肝癌及びMM102乳癌を用いて比較するとともに、その作用機作を検討したものである。

その結果、両腫瘍に対し、セラミド4型が最も強い抗腫瘍効果のあることを見出した。さらに、本物質により誘導される抗腫瘍活性は、直接腫瘍細胞に傷害を与えたり、その増殖を阻害するものではなく、マクロファージを介した宿主依存性の反応に基づくものであることを明らかにした。

最近、ある種のガングリオシドに抗腫瘍効果などの生物活性のあることが報告されているが、本論文はセラミドについて初めて抗腫瘍活性を見出すとともに、その作用機構を示したものであり、学位論文に値すると思われる。