



Title	Tumor-Derived Components Were Responsible for Suppression of Ornithine Decarboxylase Activity in the Rat Wounded Skin
Author(s)	安部, 嘉男
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39354">https://hdl.handle.net/11094/39354</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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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	あ べ 嘉 男
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	第 1 1 4 4 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 5 月 1 9 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Tumor - Derived Components Were Responsible for Suppression of Ornithine Decarboxylase Activity in the Rat Wounded Skin (ラット創傷皮膚オルニチン脱炭酸酵素活性に対する腫瘍 由来物質の抑制作用について)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 田 暉 (副査) 教 授 杉 本 侃 教 授 高 井 新 一 郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目 的]

癌の進展と共に肝をはじめとする各種組織において種々の担癌に特徴的な蛋白質代謝異常が生じ、その結果の一つとして創傷治癒遅延が起こると考えられるが、その機序は明らかでない。サイトカイン、細胞増殖因子に関する膨大な研究成果は問題解決の糸口を見いだしつつあるが、多くは *in vitro* 実験であり結果は限定的である。そもそも腫瘍が存在しなければ悪液質も創傷治癒遅延もない。腫瘍から担癌生体への働きかけが、まず最初に存在するはずであり、腫瘍由来物質の関与が想定される。一方、ポリアミン代謝系の律速酵素であるオルニチン脱炭酸酵素（以下ODC）は、細胞増殖をはじめとする種々の刺激により、細胞内 DNA, RNA 合成に先だって顕著かつ鋭敏に誘導されることから、細胞の増殖、分化、蛋白質合成の鋭敏な指標となることが知られている。

私たちは創傷皮膚 ODC 活性を指標として、創傷治癒遅延因子を腫瘍由来物質の中から抽出することを試み、それが非担癌生体に創傷治癒遅延を惹起するか否かを BrdU labeling index を用い、*in vivo* で検証することにした。

### [方 法]

癌腫は toxohormonal property が強いとされる腹水系吉田肉腫を、対象は雄性呑竜ラット（5～8週令）を用いた。

癌細胞の分画：Miyazaki らの方法により粗核分画を、Durban & Lea の方法により純核分画及び NaCl 抽出核蛋白分画を調整した。

創傷作製および創傷皮膚の採取：Stein らの方法を用い、径5mmのコルクボーラーで20穴の full - thickness wound を作製し、創傷8時間後に皮膚欠損部周囲約1mmの皮膚をドーナツ状に採取した。

癌細胞分画投与の量とタイミング：粗核分画、非核分画は、創傷作製24時間前および創傷直後の2回腹腔内投与とした。投与のタイミングは、創傷皮膚 ODC 活性の抑制効果が、創傷直後に投与した際（活性測定の8時間前）に最大であったことから、純核分画、NaCl抽出核蛋白分画は創傷直後の1回腹腔内投与とした。

創傷皮膚 ODC 活性の測定：採取した創傷皮膚は VirTis'45'homogenizer を用いてホモジネートとし、100,000 × 1 時間遠沈した上清を Russel & Snyder の bioassay に供した。

BrdU 免疫組織化学染色 : 創傷直後, 10mg protein/100gBW の NaCl 抽出核蛋白分画を腹腔内投与。創傷23時間後, 100mg/kg 量の BrdU を腹腔内投与し, その1時間後に創傷皮膚を採取, Hoshino, Hayashi, Nakane らの方法に準じて BrdU 染色し, 創縁0.3mmの濃染上皮基底細胞核数/全上皮基底細胞核数 BrdU labeling index とし百分率で表した。

#### [成績]

粗核分画投与時の創傷皮膚 ODC 活性は  $185.9 \pm 159.8$  (pmol/mg protein/hour) と対照群の  $534.0 \pm 59.1$  に比し有意に抑制された。一方, 非核分画投与では対照群間に差を認めなかった。純核分画投与時の創傷皮膚 ODC 活性用量曲線は, 1mg 蛋白量投与で, むしろ有意に活性増強がみられ, 5mg 蛋白量以上で抑制された。NaCl 抽出核蛋白分画では, nuclear sup と呼ばれる 0.15M NaCl 分画投与で, 創傷皮膚 ODA 活性は最も抑制された (対照  $445.9 \pm 73.6$  vs 投与群  $233.5 \pm 14.5$ )。HMG protein を含む 0.35M NaCl 分画も対照群に比し有意に活性を抑制したが ( $352.3 \pm 63.2$ ), histone protein を主体とする 1.00M NaCl 分画には抑制効果を認めなかった ( $421.1 \pm 128.5$ )。創縁上皮細胞の BrdU labeling index は 0.15M NaCl 分画により対照群の約 52% に低下し, 2次創傷治癒課程の上皮再生期が, G<sub>1</sub> 期~S 期で障害されることが示唆された。

#### [総括]

腫瘍負荷の少ない早期病変に対応する少量の核分画由来物質投与時には, 創傷皮膚 ODC 活性は増強され, 腫瘍負荷が増加し癌悪液質に陥った状態に対応する大量の核分画由来物質投与時には ODC 活性は抑制され, 上皮再生が傷害された。癌悪液質における創傷治癒遅延の成立に腫瘍由来物質が関与していることが推察される。

一方, TNF/Cachectin,  $\beta$ -TGF, IL-1, IL-6 等の各種サイトカインや細胞増殖因子が, 癌悪液質の成立に関与することが判明しており, 今回部分抽出した腫瘍由来物質との相同性や相互作用が問題となる。その予備実験において TNF  $\alpha$  の創傷皮膚 ODC 活性抑制効果の発現と, 今回使用した腫瘍由来物質による創傷皮膚 ODC 活性の最大抑制効果発現の時間経過が異なることから, 両者が同一機序で作用するとは考えにくい。しかし腫瘍由来物質が内因性の TNF をはじめとするサイトカインを誘導し, 誘導されたサイトカインが相乗的, 相加的に創傷治癒過程を遅延させるという network を形成する可能性が考えられる。癌悪液質において, カスケード反応が存在する可能性が考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

一般に担癌生体において創傷治癒遅延が生じることは周知の事実であるが, その原因についてはよくわかっていない。本研究は, 担癌生体でみられる創傷治癒遅延の根本原因を腫瘍由来物質に求め, 腹水系吉田肉腫由来物質と皮膚創傷治癒遅延との関連をラットの創傷皮膚オルニチン脱炭酸酵素 (ODC) 活性を指標として検討したものである。

肉腫細胞核由来の 0.15M NaCl 可溶性分画を非担癌ラットの腹腔内に投与すると, 創傷皮膚 ODC 活性の誘導が著明に抑制されることが判明した。さらに創縁表皮再生過程が著しく阻害されることが, BrdU の表皮基底細胞核への取り込み実験で明らかとなった。これらの成績は, 担癌ラットの栄養状態に配慮をしても変わることはなかった。

また, 核分画由来物質の創傷皮膚 ODC 活性抑制効果発現までの時間は8時間以上と長く, この物質が内因性の TNF をはじめとするサイトカインを誘導し, 誘導されたサイトカインの相互作用の中で創傷治癒過程が阻害されるという network の存在が示唆された。

これらの知見は, 担癌生体の病態を理解する上で重要であり, 学位に値するものと考ええる。