



Title	Cisplatin up-regulates glutamine transport in human intestinal epithelial cells : The protective mechanism of glutamine on intestinal mucosa after chemotherapy
Author(s)	野瀬, 聰子
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54107
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	野瀬聰子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学 位 記 番 号	第 23687 号
学 位 授 与 年 月 日	平成22年3月23日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学 位 論 文 名	Cisplatin up-regulates glutamine transport in human intestinal epithelial cells : The protective mechanism of glutamine on intestinal mucosa after chemotherapy (ヒト腸管上皮細胞においてCisplatin投与はグルタミントransportを增加させる—化学療法後の腸管粘膜障害に対するグルタミンの保護機構)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 福澤 正洋 (副査) 教授 下村伊一郎 教授 野口眞三郎

論文内容の要旨

〔 目的 〕

化学療法に伴う腸管障害は、腸管運動障害、下痢、吸収障害などを特徴とし治療に難渋する臨床的に重要な合併症の一つであり、それを防止する対策は重要な課題である。グルタミンは、腸管粘膜のエネルギー源として必須のアミノ酸であり、様々な腸管障害に対して、その投与効果が報告されている。また、アミノ酸は、細胞膜内の各アミノ酸に特異的な受容体(トランスポーター)によって細胞内に移行し、蛋白合成やエネルギー産生に用いられる。今回、化学療法に伴う腸管粘膜障害に対するグルタミンの投与効果およびそのメカニズムを、細胞膜アミノ酸トランスポーターの面から検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

1. 化学療法に伴う腸管粘膜障害に対するグルタミンの投与効果の検討

200-250gのWistar系雄性ラットを用い、対象をControl群(N=6), Cisplatin群(N=6), Cisplatin+グルタミン(GLN)投与群(N=6)の3群に分類した。Control群には生理的食塩水を、Cisplatin群およびCisplatin+GLN群ではCisplatin(7mg/kg body weight)を、腹腔内投与した。同時にそれぞれ、生理的食塩水またはグルタ

ミン (1g/kg body weight) を経胃管的にbolusにて投与した。3日目に犠死せしめ、Treitz靭帯より10cmの空腸を摘出し、腸管粘膜組織像を評価した。その結果、Cisplatin群の腸管粘膜はControl群に比し、著明な萎縮を認めたが、Cisplatin+GLN群ではこれらの変化を認めず、Control群と同程度の粘膜構造を呈した (絨毛高: Control群 703±61 μ m, Ciplatin群 497±44 μ m, Cisplatin+GLN群 673±28 μ m, 陰窩深: Control群 145±18 μ m, Ciplatin群 115±12 μ m, Cisplatin+GLN群 144±21 μ m)。

この結果は、Cisplatin投与後的小腸粘膜障害に対するグルタミン投与の有用性を示している。しかしそのメカニズムに関しては明らかではない。そこで、ヒト腸管上皮細胞cell lineを用いて、グルタミンの投与効果を腸管上皮細胞の細胞膜アミノ酸トランスポート活性の面から検討した。

2. Cisplatin投与による細胞膜アミノ酸トランスポート活性の検討

ヒト腸管上皮細胞としてCaco-2 cellを用い、37°C, 5 % CO₂/95 % airの条件下で培養液Dulbecco's Modified Eagle medium (DMEM)を用いて細胞培養した。細胞が100 % confluentになった段階で、細胞をCisplatin群と対照群 (前記標準条件下培養群)に分けた。Cisplatin群は、Cisplatin 5 μ g/mlを含む培養液に交換することで作成した。グルタミントランスポーター (ASCT2) のmRNAの解析は4時間後に定量的RT-PCR法を用いて、蛋白発現量の解析は16時間後にwestern blotを用いて行った。また各アミノ酸トランスポート活性は、³H-グルタミン、³H-ロイシンおよび³H-グルタミン酸を用いて、Gazollaらの方法にて24時間後に測定した。同時に、細胞内glutathione量およびglutaminase活性を測定した。その結果、Cisplatin群でのグルタミンおよびロイシントランスポートは、対照群に比し有意に上昇した。グルタミン酸トランスポートは有意な変化を認めなかった。また、Cisplatin群では、ASCT2のmRNAおよび蛋白の発現は、対照群に比し有意に増加した。Cisplatin投与により、細胞内glutathione量およびglutaminase活性は有意に増加した。

[総 括]

Cisplatin投与による腸管粘膜障害に、グルタミンの投与効果が示された。そのメカニズムとして、Cisplatin投与によりグルタミン細胞膜トランスポートがup-regulateされることで発揮される可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

抗癌剤の投与に伴う腸管粘膜障害は、腸管運動障害、下痢、吸収障害などを特徴とし、臨床的に重要な合併症の一つである。その障害メカニズムを解明することは、本病態に対する治療法の開発にもつながる研究である。今回、Cisplatin投与に伴う腸管粘膜障害に対するグルタミンの投与効果およびメカニズムを主に細胞膜アミノ酸グルタミントランスポートの面から検討した。

始めに、グルタミンがCisplatin投与によるラット腸管粘膜障害を予防することを示した。

次に、ヒト腸管上皮細胞としてCaco-2を用い、Cisplatinがアミノ酸トランスポートに及ぼす影響の検討を行った。Cisplatinにより、グルタミントランスポートは上昇し、そのmRNAおよび蛋白発現は増強した。同時に、ロイシントランスポートの上昇とその蛋白発現の増強も認めた。また、グルタミン分解酵素活性および細胞内グルタチオン量も測定し、Cisplatinにより、これらが増加することを示した。

これらの結果は、Cisplatin投与に伴う腸管粘膜障害に対するグルタミンの投与効果が、グルタミントランスポートがup-regulateされることで発揮される可能性を示したもので、学位の授与に値すると考える。