

渡部 誠一郎 (長崎県) 昭和25年12月8日生

授与年月日 平成3年3月31日

主論文 Evaluation of SOD Activity in Gastric Cancer

論文内容の要旨

緒言

Mitomycin Cを始めとする制癌剤、癌組織に対する放射線治療、温熱療法等、癌治療における活性酸素の役割は大きい。Superoxide に対する scavenger である superoxide dismutase (SOD) が担癌体において如何なる状態にあるか検討する事は、癌治療を考える上でも有用な事と考える。しかし、現在までに担癌の進行に基づいた系統的な非癌組織の SOD 活性の報告は、一部動物実験でみられる他、ヒト固形癌における臨床的検討はほとんどみられない。今回、著者は癌患者における活性酸素に対する生体防御能を解明する目的として、胃癌患者の末梢血球 SOD 活性を測定し、臨床病理学的要因との検討を行った。又、SOD 活性の低下の原因検索の為、血球内外の影響要因について基礎的検討を行うと共に、制癌剤の血球に及ぼす影響についても検討した。

対象と方法

臨床的検討：未治療の胃癌患者44例を対象とし、静脈血採取後、赤血球 (RBC)、単核白血球 (MNC)、多核白血球 (PMN) に分離。赤血球は McCord らの方法、白血球は石瓶らの方法にて試料を作成した。尚、対照として健康成人39名の血液を用いた。

基礎的検討：SOD 活性低下要因の検索の為、次の各条件下で、末梢リンパ球を用いた培養実験を行った。

1. 細胞外要因、①ヒト癌培養細胞株 (HeLa) との混合培養、②末期癌患者血清による培養、③免疫抑制蛋白 ASP (Acid Soluble Glycoprotein) 添加培養、④各種 glucose 濃度培地での培養、⑤各種 FBS 培地での培養、2. 細胞内要因、① PHA-P 刺激によるリンパ球幼若化実験、リンパ球幼若化時の経時的な SOD 活性の変化と Flowcytometry による DNA、RNA 量の変化を観察した。② DNA 合成阻害剤 (Mitomycin C/ MMC, adriamycin/ADM, Cisplatinum/CDDP)、RNA 合成阻害剤 (Actinomycin D/ACTD)、蛋白合成阻害剤 (Puromycin) との接触培養実験。

SOD 活性測定法：McCord & Fridovich の報告に基づいたチトクローム C 還元阻害法により測定し、50%活性阻害量を SOD 活性 1 単位とした。Mn-SOD 活性分画は KCN 1mM 添加にて測定した。

結果と考察

1. 対照群では、各血球 SOD 活性共に、年齢、性によ

る有意の差はみられなかった。

2. 胃癌患者全体では、各血球 SOD 活性共に対照群と有意の差はみられなかった。しかし、胃癌患者を早期癌、進行癌にわけて検討すると、進行癌は、多核白血球・単核白血球 SOD 活性において早期癌群・対照群に比べ有意に低下していた。

3. 胃癌取り扱い規約に基づいて検討すると、stage 間では、stage1, 2 に比べ、Stage4では、赤血球・単核白血球・多核白血球 SOD 活性共に有意の低下 ($P < 0.01$) がみられ、肝転移群では、単核白血球 SOD 活性の低下 ($P < 0.05$)、腹膜播種群では赤血球・多核白血球 SOD 活性が低下 ($P < 0.01$) した。ly (+) 群は ly (-) 群に比べ、また、v (+) 群は v (-) 群に比べ、多核白血球 SOD 活性は低値であった。肉眼型では、Borrmann 4型が各 SOD 活性共に対照群より有意に低下していた。

4. Mn-SOD 活性は消失することなく、total SOD 活性とはほぼ同様の変化を示した。

5. SOD 活性低下の要因検索のため、リンパ球を用いた in vitro の実験を行ったが、担癌末期患者の血清、癌細胞、免疫抑制蛋白、糖濃度、栄養の各件等の細胞外の要因により、リンパ球の SOD 活性は変化しなかった。

6. リンパ球幼若化では RNA 量の増加と共に、SOD 活性は上昇した。DNA 合成阻害剤のうち、MMC、CDDP の接触培養では、SOD 活性は有意の上昇、ADM では低下を示した。RNA 合成阻害剤である ACTD、蛋白合成阻害剤である Puromycin では SOD 活性は有意に低下した。

著者が行った胃癌患者の血球 SOD 活性の検討の結果、担癌の進行と共に各血球の SOD 活性は低下し、殊に、stage4の症例、肝転移、腹膜播種をきたしている症例において、SOD 活性が低下している事が明らかとなった。血球 SOD 活性は、臓器 SOD 活性を反映しているとの報告もあり、この結果、担癌生体では、癌の進行と共に非癌諸臓器において活性酸素に対する scavenge 機能の低下の可能性が大いに推察される。SOD 活性の低下要因の検索により、SOD 活性の発現には、RNA 合成、蛋白合成が直接関与をしている可能性が考えられたが、結論をみるには至らなかった。しかし、stage4症例、Borrmann4型胃癌症例に対して化学療法を行う場合、ADM、ACTD では更に SOD 活性を低下させる危険性があり、進行癌患者に対する投与に際しては、SOD 活性を測定するなど十分な注意を要する事が考えられた。

論文審査の結果の要旨

渡部誠一郎は昭和53年3月長崎大学医学部を卒業後長崎大学医学部附属病院、北九州市立八幡病院、三菱

病院, 佐世保市立総合病院, 国立嬉野病院, 国立長崎中央病院を歴任し外科診療の経験を重ねながら, 消化器外科を専攻しながら消化器癌の治療成績の向上を目指して研究を続けた。平成2年6月主論文 Evaluation of SOD activity in gastric cancer を完成し参考論文34篇を附して長崎大学医学研究科委員会に医学博士の学位を申請した。

長崎大学医学研究科委員会はこれを平成3年1月9日の定例委員会に付議し論文内容の要旨を検討し, 研究歴を審議した結果受理して差し支えないものと認めたので上記の通り審査委員を選定した。委員は主査を中心として慎重審査の上平成3年3月6日の定例委員会でその結果を報告した。主論文は癌治療における活性酸素の役割に注目し, 活性酸素活性からみた癌組織におよぼす放射線治療, 温熱療法の影響を明らかにしようとし, 胃癌症例について活性酸素の scavenger である superoxide dismutase (SOD) 活性を検討し胃癌の進行因子との関連について考察した。SOD は CuZn-SOD (cytoplasm) と Mn-SOD (mitochondria) の二種類に加えて微量 EC-SOD (細胞外) が存在することが明らかにされているが Mn-SOD は KCN1mM 添加で測定した。対象として未治療胃癌患者44例を対象とし, 静脈血採血後, 赤血球 (RBC) 単核白血球 (MNC) 多核白血球中 (PMN) に分離し, 赤血球は McCord 法, 白血球には石瓶らの方法により試料を作成し, 健康人39名の血液と対比し検討した。癌細胞の DNA RNA 解析は flow cytometry により, SOD 活性は McCord and Fridovich 法によりチトクロームC還元阻害法により測定し50%活性阻害量を1単位とした。基礎的検討として細胞外要因として, ①ヒト癌培養細胞株 (HeLa) との混合培養, ②癌患者血清添加培養, ③免疫抑制蛋白 ASP (acid soluble Glycoprotein) 添加培養, ④各種 glucose 濃度培養, ⑤各種 FBS 培養。細胞内要因として, ① PHA によるリンパ球幼若化誘発時の SOD の変化と癌細胞 DNA RNA 量の変化の観察, ② DNA 合成害剤 (MMC ADM CDDP) RNA 合成阻害剤 (ACTD) 蛋白合成阻害剤 puromycin との接触培養結果を検討し, SOD 活性測定に関連する因子を明らかにした。胃癌患者では各血球 SOD 活性ともに対照群と有意差はなかったが, 進行癌では早期癌に比し PMN MNC 活性が低下していた。病期進行度別では RBC MNC PMN の SOD 活性は有意に低下 ($P < 0.01$) し, 肝転移例で MNC の低下 ($P < 0.05$), 腹膜播種群で RBC PMN の低下 ($P < 0.01$), リンパ管侵襲例は血管侵襲例に比し, PMN の低下, 肉眼型で Borr4 に低下がみられた。SOD 活性低下の要因分析では担癌体の血清, 癌細胞免疫抑制蛋白, 糖濃度, 栄養の条件で変化しないことを実験的に明らかにし, リン

パ球幼若化で RNA 量増加が SOD 活性を高めた。一方 SOD 活性は DNA 合成阻害剤 MMC CDDP で上昇, ADM で低下し RNA 合成蛋白合成が直接的に関与することを示唆する結果を示した。併せて化学療法を行うとき ADM ACTD では更に SOD 活性を低下させるので生体に及ぼす活性酸素を考慮する必要があることを明らかにしたもので従来の報告にみられない新知見を提供したもので学位に価するものとして合格とした。

審査担当者	主査	教授	富田	正雄
	副査	教授	小池	正彦
	副査	教授	原	耕平