

氏名	十 川 紀 夫		
学位の種類	歯 学 博 士		
学位授与番号	博 甲 第 920 号		
学位授与の日付	平成 3年 3月 28日		
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻 (学位規則第5条第1項該当)		
学位論文題目	腫瘍発育に及ぼす生理活性アミンの影響に関する研究 —ヒスタミンを中心として—		
論文審査委員	教授 古田裕昭	教授 岸 幹二	教授 谷口茂彦

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【研究目的】

ヒスタミン (Hi) の生体における役割の一つとして、その貯蔵細胞である肥満細胞と共に腫瘍発育に対する作用が示唆されているが、これが促進的、抑制的いずれであるかは異論が多く未だ明確ではない。また、近年、Bartholeyns らが Hi の生成酵素であるヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) により新たに生合成された非肥満細胞由来の代謝の速い Hi の働きが腫瘍増殖に重要であると報告し、以来非肥満細胞由来の HDC および Hi の細胞増殖に果たす役割についても多くの関心が寄せられている。

一方、最近になり WBB6F<sub>1</sub>W/W<sup>V</sup> (W/W<sup>V</sup>) マウスが先天的に肥満細胞を欠如していることが見出され、非肥満細胞由来 Hi の影響を検討するための有用なモデルであることが示唆されている。また一般に、皮膚や舌は肥満細胞の豊富な組織だとされるが、W/W<sup>V</sup>ではこれらの組織の Hi 含量は少なく、対照と比較すれば Hi の影響を研究するのに適した組織であると考えられる。

本研究では、マウス舌にエーリッヒ腹水癌細胞 (EAC) を移植することにより、腫瘍発育に及ぼす肥満細胞 Hi および非肥満細胞 Hi の影響について検討した。

#### 【研究方法】

##### 1. 動物実験

動物は W/W<sup>V</sup>とその正常コンジェニックである +/+、および ddY 系マウスを用いた。予めマウス腹腔内にて増殖させた EAC を採取、洗浄後、麻酔下にて  $5.5 \times 10^5$  個/0.01ml をマウス舌左側に筋注・移植した。移植一定時間後に舌を摘出、腫瘍体積を計測し、6 日間の変化を記録した。

##### 2. Hi およびポリアミン類の定量

採取した組織を0.02M磷酸緩衝液にてホモゲナイズした。遠沈後、pHを調整した上清液をP-セルロースカラムにて分画し、HiはOPA、ポリアミン類はフルオレスカミンを用い蛍光法にて定量した。

### 3. HDC および ODC 活性の定量

上記ホモジネート液の一部を遠沈後、Endoの方法にて作成したHDC、ODCの酵素液にHDC、ODCそれぞれの基質であるL-ヒスチジン、L-オルニチンを加え、インキュベートし(37℃, 4h)、生成したHi・プトレシン(Put)を上記アミン定量法で定量した。

### 4. HDCの阻害

非可逆的で特異的なHDC阻害剤である $\alpha$ -Fluoromethylhistidine( $\alpha$ -FMH, 0.5mg/10g/日)を生理食塩水に溶解し、腫瘍移植前より1日2回腹腔注にて投与した。

### 5. HDC活性の誘導

腫瘍移植1日前にポリミキシンB(PB; 20 $\mu$ g/10gまたは2.5 $\mu$ g/10g)を生理食塩水に溶解し、マウスに腹腔注することによりHDC活性を誘導した。

#### 【研究結果】

#### 1. 腫瘍発育とアミン類の定量

他の2種のマウスと比較し抑制的だが腫瘍発育はW/W<sup>V</sup>においても認められ、また、この時体積の平均は舌のHi量およびHDC活性の順と一致していた。Hi量の経日的変化は+/+とddYで類似し移植後2日をピークに減少傾向を示したが、W/W<sup>V</sup>では一貫して増加していた。ポリアミン類およびODCについても合わせ検討した結果、ポリアミン量はどのマウスでもほぼ経日的な増加傾向を示し、またODC活性も腫瘍発育への関与を示唆する結果を得た。

#### 2. 腫瘍発育に対するHDC阻害剤の効果

W/W<sup>V</sup>において移植1日前より $\alpha$ -FMHの投与を継続したところ、対照と比べ移植6日目において腫瘍体積、Hi、HDCともに減少した。ddYにおいても $\alpha$ -FMH投与で同様の結果が得られた。

#### 3. 腫瘍発育に対するPBの効果

ddYにPB(20 $\mu$ g/10g)を投与すると、マウス舌で持続的なHDC活性増加を脱顆粒による一時的なHi量減少が見られ、この状態のマウスにEACを移植すると腫瘍発育は通常よりも促進された。W/W<sup>V</sup>においては、PB(2.5 $\mu$ g/10g)投与によりHi量とHDC活性の増加がみられた。この条件下での移植6日目の腫瘍体積は対照より増大した。

#### 【考察および結論】

1. ddYおよび+/+と比較すれば抑制的ではあるがW/W<sup>V</sup>においても腫瘍発育は認められ、肥満細胞欠損時においても腫瘍は発育することが示された。また、それに伴い舌組織重量あたりの非肥満細胞由来Hi量は増加を示した。

2. ddYおよびW/W<sup>V</sup>において $\alpha$ -FMHにより腫瘍発育が抑制されたことより、HDCにより生合成されるHiの腫瘍発育過程における重要性が示唆された。

- 3 先天性肥満細胞欠如マウス  $W/W^V$ において、PB 投与後認められた Hi 量、HDC 活性の増加は PB が生体内において非肥満細胞由来の Hi 生成を誘導し得ることを示している。
4. ddY において PB 投与時に肥満細胞からの脱顆粒により一時的に Hi 量が減少したにもかかわらず腫瘍の発育促進が認められた。3. の結果と考えあわせると非肥満細胞由来の Hi 生成が PB により誘導されていると推察され、この微量な Hi が腫瘍発育に関与したと考えられる。このことは  $W/W^V$ を用いた同様の実験より確認された。
- 以上本研究より、移植した腫瘍の発育早期において非肥満細胞由来 Hi が促進的作用を示すこと、PB が生体内において非肥満細胞由来の Hi 生成を誘導し得ることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、先天性肥満細胞欠如マウス  $WBB6F_1W/W^V$ とその正常コンジェニックである  $+/+$ 、および ddY 系マウスを用い、マウス舌にエーリッヒ腹水癌細胞を移植し、腫瘍発育における非肥満細胞由来のヒスチジン脱炭酸酵素およびヒスタミンの影響について研究したものである。本研究において、①肥満細胞欠損時においても腫瘍は発育し、それに伴う非肥満細胞由来ヒスタミン量の増加を認めた。②ヒスタミン生合成阻害時において腫瘍発育の抑制が認められ、腫瘍の発育過程におけるヒスタミンの重要性が示唆された。③肥満細胞からの脱顆粒によるヒスタミン放出作用が知られるポリミキシン B がマウス生体内において、非肥満細胞由来のヒスタミン生合成誘導作用を示すことを認めた。④正常マウスにおいて、ポリミキシン B により肥満細胞内ヒスタミン量減少時においても腫瘍の発育を認め、非肥満細胞由来ヒスタミンが腫瘍の早期発育に促進的に関与することを示唆するなど、新たな知見が得られた。

よって、審査委員一同は本論文を歯学博士学位論文としての価値あるものと認めた。