

平成22年3月31日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19791531

研究課題名（和文）

免疫栄養が口腔癌化学療法に及ぼす影響についての基礎的研究

研究課題名（英文）

Influence of immunonutrition in oral carcinoma patients receiving chemotherapy

研究代表者

吉富 泉（YOSHITOMI IZUMI）

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：90363457

研究成果の概要（和文）：

immunonutrientsを低濃度から高濃度に含有した培地と非含有培地（通常培地よりグルタミン・アルギニンを完全に除去した）を用い口腔癌樹立細胞株(HSC-4, SAS, SCC-25)の培養を行い、細胞増殖能の検討を行ってきた。さらにこれらの細胞株に5-FU系薬剤を作用させ、抗腫瘍効果と栄養素濃度との関係についての検討を行った。また、5-FUの代謝酵素のうち副作用の発現と関連するとされる酵素であるOPRT（オロテートホスホリボジルトランスフェラーゼ）、薬物代謝に強い関係のあるDPD（ジヒドロピリミジン脱水素酵素）の発現の有無と上記の実験における結果との関連についても検討を行った。

研究成果の概要（英文）：

In this study, I examined the cell proliferation of oral squamous cell carcinoma cell lines with immunonutrients. Furthermore, the cells were exposed to various 5-FU, I examined cytotoxicity and relations with the nutrient density. I examined the expression of OPRT which related to the expression of the side effect and DPD which correlate with drug metabolism.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	900,000	0	900,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	690,000	3,890,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：私学・外科系歯学

キーワード：臨床腫瘍学、免疫栄養

1. 研究開始当初の背景

癌の治療における化学療法の役割は重要で、临床上多くの抗癌薬が用いられているが、なかでも口腔扁平上皮癌の治療においては、5-FU系薬剤を含めた多剤併用療法が施行されている。代表研究者は平成16～18年度の科学研究費採択研究として口腔扁平上皮癌における抗癌薬代謝酵素の発現と薬剤耐性に関する基礎的研究を行い、抗腫瘍効果について知見を得ることができた。（第16回IAOMS, Vienna 2005, Orotate phosphoribosyl transferase mRNA expression in oral squamous cell carcinoma and its relationship with the dihydropyrimidine dehydrogenase expression and the clinical effect of 5-fluorouracil. Oral Oncology 42 : 880-887, 2006.）

しかしながらその研究結果をもとに抗癌薬を投与した場合、一定の抗腫瘍効果を得ることはできたが、副作用、特に消化器毒性の発生が多く、対症療法を行うも、その治療を完遂できないことや、化学療法後の手術療法の延期を余儀なくされる症例も認められた。そして、そのことが一次治療終了後の再発や遠隔転移などの予後に関与する場合も認められた。よって、化学療法前に副作用の発現の可能性をいかに減少させておくかは重要であると考えられる。

そこで、代表研究者は、薬剤によるいわゆる外的な副作用の発現に加え、宿主因子である栄養状態による副作用の違いに着目した。

一般に、担癌患者は栄養需要の高まり（グルコース消費量は3倍、たんぱく質消費量は4倍に増大）による栄養障害を伴っていることが高率にあり、そのことが、化学療法を含

めた癌治療に大きな影響を及ぼすことはこれまでも報告されている。しかしながら、単に、グルコースやタンパク質を増加することは腫瘍増殖の刺激となることも多く、未だ議論が続けられている。そこで、総合栄養素ではなく免疫力を高めるとされる特定の栄養素を付加する immunonutrition（免疫栄養）が副作用の発生にいかに関与するかということについて検討を行うこととした。加えて、抗癌薬の抗腫瘍効果に及ぼす効果についてもあわせて検討を行うこととした。なお、代表研究者はこれまでに「口腔癌周術期における免疫栄養法の意義」について検討を行い報告した。（第50回日本口腔外科学会総会；大阪, 2005. 第84回 IADR, Brisbane Australia, 2006, 第21回日本静脈経腸栄養学会；岐阜, 2006.）

一般に免疫栄養とは生態防御能や免疫能を維持・亢進させる栄養管理法の総称であり、経腸栄養による腸管免疫賦活やグルタミン、アルギニン、 ω -3系脂肪酸、核酸などの生態防御能を高める特殊栄養成分（immunonutrients）を含有した濃厚流動食による栄養法のことである。その目的は、免疫力を高め、生体反応を修飾することによって生態防御能を増強し患者の転帰を改善することである。

口腔癌患者は、治療開始時においてすでに経口摂取困難になっていることもあり、血液学的に明らかな低栄養を示さない場合にも、近年重要視されている腸管免疫能の低下が予測できる。そのような状態において化学療法を行うことは消化器毒性の一つである下痢を助長するばかりでなく、bacterial translocation を引き起こすことにつながる

と考えられる。そこで、immunonutrients の中でも、小腸粘膜、大腸粘膜、免疫系細胞のエネルギー基質として利用されるグルタミンに着目し、これまでにほとんど行われていない基礎的研究を行い、その結果を臨床に応用できるのではないかと考えている。

2. 研究の目的

本件研究では、第1に免疫栄養の有無によるがん細胞の動態の違いについて検索することを目的とする。通常培地およびimmunonutrientsを多く含有した培地を用い培養した口腔癌樹立細胞株の細胞増殖能を検索し、これらの細胞株に5-FU系薬剤を作用させ、抗腫瘍効果を検索する。さらに、癌細胞そのものの有害事象の発現に対する関与について検索し、特に起炎性という点から5-FU作用後の癌細胞株の上清における炎症性メディエーターを検索し各々の培地間での比較を行う。第2に、正常組織への影響のについて調べることを目的とする。癌細胞株の上清を末梢血単核球に作用させ免疫能の検討ならびに、炎症性メディエーターの検索を行う。

上記に加えさらに、これまで行ってきた研究と関連する内容として、5-FUの代謝酵素のうち副作用の発現と関連するとされる酵素DPDとOPRTの発現の有無と上記の実験における結果との関連についても検討を行い、有害事象を軽減させる方法を見出すことを目的とする。

3. 研究の方法

①抗癌剤の効果に及ぼす免疫栄養の影響についての検討

口腔扁平上皮癌細胞株HSC-2, HSC-3, HSC-4, OSC19, OSC20, SAS (以下癌細胞株と記す)を通常培地およびグルタミン添加培地 (以下両培地と記す) で培養し細胞増殖能をMTTアッセイおよびDNA合成能測定にて検討し、in vitro インベーションアッセイを用いて浸潤能を測定した。さらに、それらの細胞株に5-FUを作用させ、細胞毒性 (または感受性) を同様の方法にて検討した。CDDP, CBDCAでも同様に検討するとともに5-FUとの組み合わせでの検討も行った。

②癌細胞から分泌される物質による細胞毒性の検討

1) 1.での培養条件下 (抗癌剤作用後) に得られた培養上清中のLDH酵素や炎症性サイトカインなどの発現を、RT-PCR, ウェスタンブロット法および酵素抗体法などで検索した。

2) ヒト末梢血単核球を分離し2-aで得られた上清で刺激し、その増殖能を検討するとともに、炎症性メディエーター (IL-1 α ・ β , PGE2など) や末梢血単核球に多く存在するとされるDPDの活性について測定した。CDDP, CBDCAでも同様に検討するとともに5-FUとの組み合わせでの検討も行った。

副作用に関係する遺伝子発現抑制・導入と免疫栄養との関連についての検討

口腔扁平上皮癌細胞株の遺伝子発現の検討
各々の癌細胞株についてDPD, OPRTの発現をRT-PCR法を用いて確認した。

4. 研究成果

初年度よりimmunonutrients (グルタミン・アルギニン) を低濃度から高濃度に含有した培地と非含有培地 (通常培地よりグルタミン・アルギニンを完全に除去した) を用い口腔癌樹立細胞株 (HSC-4, SAS, SCC-25) の培養を行い、細胞増殖能の検討を行ってきた。さらにこれらの細胞株に5-FU系薬剤を作用させ、抗腫瘍効果と栄養素濃度との関係について

の検討を繰り返し行っている。また、これまでの研究（平成16年度～18年度若手研究B）と関連する内容として、5-FUの代謝酵素のうち副作用の発現と関連するとされる酵素であるOPRT（オロテートホスホリボシルトランスフェラーゼ）、薬物代謝に強い関係のあるDPD（ジヒドロピリミジン脱水素酵素）の発現の有無と上記の実験における結果との関連についても検討を重ねている。あわせて、口腔癌の治療に多用されている白金製剤であるCDDP(シスプラチン)も同様に作用させ、抗腫瘍効果と栄養素濃度との関連について検討を行っている。

一方、昨年度より行っているがん細胞の有害事象の発現に関与する検索の中で起炎性について炎症性メディエーターを検索しているが、これについては、いまだ確かな結果を得られていない。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計0件）

〔学会発表〕（計1件）

① Yoshitomi, I., Kawasaki, G., Yanamoto, S., Mizuno, A., Tobita, T., Yamaguchi, T. Perioperative immunonutrition in patients with oral carcinoma.

1st World Congress of the International Academy of Oral Oncology, Amsterdam, The Netherlands, 2007.

{Oral Oncol Supplement 2 (1): 150, 2007}

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉富 泉 (YOSHITOMI IZUMI)

長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：90363457

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：