

氏名	三 崎 昌 和
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与番号	博乙第 2865 号
学位授与の日付	平成7年3月25日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者（学位規則第4条第2項該当）
学位論文題名	抗癌剤による好中球減少に対するRecombinant human G-C S Fの至適投与時期に関する研究
論文審査委員	教授 松村智弘 教授 西嶋克巳 教授 古田裕昭

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】

癌治療において手術療法, 化学療法, 放射線療法, 免疫療法などを併用した集学的治療が主体をなしている. その際, 化学療法時に随伴する副作用の1つである骨髓抑制, とりわけ好中球減少は致死的感染症を誘発する危険があるためその施行に際しlimiting factorとして臨床上問題となることがある. これに対して近年, 顆粒球系前駆細胞（以下前駆細胞）に作用し, 末梢血中の好中球数を増加させる造血因子である顆粒球コロニー刺激因子（recombinant human granulocyte colony stimulating factor, 以下rhG-CSF）が遺伝子工学的手法によって生産され, その有用性が報告されるとともに至適投与時期についての研究が行われている. しかしその効果は末梢血中の白血球数や好中球数のみで評価されており, 好中球産生の中心的役割を果たしていると考えられている骨髓造血細胞の動態を併せて検討した報告は少ない. 本研究では, 副作用として重篤な好中球減少が知られており, なおかつ臨床上頻用されている抗癌剤 Cyclophosphamide（以下CPA）あるいは5-fluorouracil（以下5-FU）による好中球減少に対してrhG-CSFの投与時期が及ぼす影響をマウス好中球数および前駆細胞動態を指標として観察し, rhG-CSFの至適投与時期について検討を加えた.

【材料と方法】

実験には体重18-20gのC57BLマウスを用いた. CPAおよび5-FUは腹腔内投与し, rhG-CSFは所定期間1日1回皮下投与した. rhG-CSFの投与スケジュールとしては, CPAあるいは5-FU投与翌日からrhG-CSFを開始したrhG-CSF後投与群, CPAあるいは5-FU投与前からrhG-CSFを開始したrhG-CSF前後投与群（rhG-CSF前投与の時期によりCPA投与群ではさらに3群, 5-FU投与群では2群に分類した）とした. なお, CPA, 5-FU投与翌日から生理的食塩水を投与した対照群とした.

1) 好中球数測定法

心臓穿刺により採血し, 通常の血球計算法に従い算定後, 塗沫標本上で血球200個を分類して算出した.

2) 骨髓前駆細胞数測定法

三浦の方法に従い, 大腿骨骨髓細胞を軟寒天コロニー形成法にて培養後, 形成されたコロニー数を算定し, 前駆細胞数とした.

3) S期前駆細胞数および非S期前駆細胞数測定法

Beckerらの方法に準じて大腿骨骨髓細胞を ^3H -thymidineとともにインキュベートしたのち軟寒天コロニー形成法を行った。 ^3H -thymidineに殺傷されずにコロニーを形成し得た非S期前駆細胞数を算定し、 ^3H -thymidine非添加時に算定した前駆細胞数をコントロールとして比率を算出することによって、非S期前駆細胞の割合およびS期前駆細胞の割合 (suicide率) を求めた。

【結果および考察】

1) rhG-CSFを単独で2日連日または3日連日投与した場合、suicide率およびS期前駆細胞数は、好中球数と同様にrhG-CSF投与とともに増加し、rhG-CSFの前駆細胞に対する増殖促進効果が認められた。しかしrhG-CSF投与中止後からsuicide率は低下し、非S期前駆細胞数が顕著に増加した。したがって、rhG-CSFは投与期間中だけでなく、投与中止後からも前駆細胞動態を顕著に変動させることが判明した。

2) CPA対照群では投与翌日のS期前駆細胞はすべて殺傷されたが、非S期前駆細胞は一部生存し、その後早期に回復した。一方、5-FU対照群では投与翌日から投与後7日目まで前駆細胞はその細胞周期を問わずすべて殺傷され、CPA対照群と比べて回復が遅れた。

3) CPAを投与した際のrhG-CSF前後投与群のうち、rhG-CSF前投与により非S期前駆細胞数が最低となった時点でCPAを投与した群では、CPA投与後の好中球数および前駆細胞数、CPA対照群と比べて、最低値の低下がみられた。一方、rhG-CSF前投与により非S期前駆細胞数が最高となった時点でCPAを投与した群では、各群中もっとも好中球数および前駆細胞数の最低値が上昇した。

4) 5-FU投与後の好中球数および前駆細胞数は、CPAとは異なり、5-FU投与時の前駆細胞動態に影響を受けないことが予想された。しかし、rhG-CSF前後投与群のうち、rhG-CSF前投与の時期によっては、CPAと同様、好中球数の減少期間の短縮と前駆細胞数の早期回復がみられた。

以上より、CPAあるいは5-FU投与による好中球減少に対するrhG-CSFの投与時期としては、末梢血好中球数だけでなく、前駆細胞動態によって決定されることが望ましく、rhG-CSFを前後投与することでもっとも効率良く好中球減少の軽減が得られる可能性が示唆された。すなわち、CPAまたは5-FU投与後の好中球減少を軽減するためには、CPA、5-FU投与後の前駆細胞数の減少を軽減することが重要であり、rhG-CSF投与による前駆細胞動態の改善の必要性が示唆され、CPA投与の場合、投与時の非S期前駆細胞数が重要な因子であることが推察された。一方、5-FU投与後の好中球数および前駆細胞数は、CPA投与と異なり、5-FU投与時における前駆細胞の細胞周期には影響を受けないことが判明した。したがって、rhG-CSFの投与時期を評価するにあたっては、抗癌剤が前駆細胞の細胞周期に影響するものか否かを考慮することが必要があり、その効果は、抗癌剤によって異なることが考えられる。

論文審査結果の要旨

本研究は、抗癌剤Cyclophosphamide（以下CPA）、5-fluorouracil（以下5-FU）による好中球減少に対するヒト型顆粒球コロニー刺激因子（以下rhG-CSF）の至適投与時期について、マウス好中球数および顆粒球系前駆細胞動態を指標として検討したものである。

好中球減少を軽減するためには、CPA、5-FU投与後の顆粒球系前駆細胞数の減少を軽減することが重要であり、rhG-CSFを前後投与することでもっとも効率良く好中球減少の軽減が得られる可能性が示唆された。CPA投与による好中球減少では、CPA投与時の非S期顆粒球系前駆細胞数が重要な因子であることが示唆された。一方、5-FUによる好中球減少では、CPAとは異なり、5-FU投与時の顆粒球系前駆細胞の細胞周期に影響を受けないことが認められた。よって、rhG-CSFの投与効果は抗癌剤によって異なることが示唆された。

これらの知見は、抗癌剤による好中球減少に対するrhG-CSFの投与時期としては、末梢血好中球数だけでなく、顆粒球系前駆細胞動態を考慮して決定することが重要であり、rhG-CSFの前後投与によって好中球減少がもっとも軽減する可能性があることを示したもので価値ある業績と認める。よって、本研究者は博士（歯学）の学位を得る資格があると認める。