

# 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 竹 本 健 一

主論文 1編

Evaluation of the efficacy of peritoneal lavage with distilled water in colorectal cancer surgery: in vitro and in vivo study.

Journal of gastroenterology 50(3):287-97, 2015

## 審 査 結 果 の 要 旨

大腸癌診療においては治癒切除症例であったとしてもなお、腹水洗浄細胞診所見が独立した予後因子となることが知られ、また術中操作中に癌細胞が腹腔内に散布され腫瘍化するリスクがあることから、有効な腹腔洗浄法の開発が望まれている状況にある。

こうした背景の中、申請者は、ヒト大腸癌細胞株の DLD-1, HT-29, そして CACO-2 を用い、低浸透圧の及ぼす影響を検討した。まず、Video-Enhanced Contrast システム微分干渉顕微鏡を用いて蒸留水刺激による大腸癌細胞の形態変化をモニターし、細胞膨化に引き続いて破裂に至る形態変化を観察し、蒸留水がたしかに殺細胞効果をもつことを確認した。次いで、Cell Lab Quanta を用いて様々な浸透圧下での連続細胞容積変化を観察し、蒸留水刺激による細胞断片化や低浸透圧下での調節性容量減少 (regulatory volume decrease: RVD) など、低浸透圧刺激下における細胞容積変化の詳細な動態を明らかにした。こうした観察から、細胞破壊には極端な低浸透圧刺激に加え、約 10 分程度の蒸留水暴露時間が必要となるものと結論づけた。

この結果を受けて申請者らは続いて in vivo 実験へと進んだ。ここでは、重要なことに、試験管内で大腸癌細胞を蒸留水暴露した後にヌードマウスに腹腔内投与すると、蒸留水暴露群では腹膜播種を形成せず、腹膜播種が抑制されることを見出した。これは、低浸透圧による制癌効果を世界に先駆けて動物モデルによって示したものと評価出来る。一方、所属研究室の先行研究からは、じっさいの腹腔内蒸留水洗浄では腹腔内分泌物等によって浸透圧が上昇し殺細胞効果が減弱している可能性があること、そしてクロライドチャンネルブロッカー 5-nitro-2-(3-phenylpropylamino)-benzoic acid: NPPB が RVD を抑制することなどが示唆されていた。そこで低浸透圧溶液による細殺細胞効果増強を目的に、大腸癌細胞株に NPPB を用いた実験を試みた。その結果、NPPB は低浸透圧刺激時にすべての細胞において細胞膨化を促進し、低浸透圧溶液の殺細胞効果を増強した。すなわち、大腸癌細胞においてクロライドイオンチャンネル活性化は RVD の主たるメカニズムであり、低浸透圧刺激時のクロライドチャンネル抑制によって細胞膨化及び殺細胞効果が増強されることがここに明らかにされた。ただし、NPPB は神経毒性のため生体実験では使用が困難であり、また他にも現時点で生体に使用可能なクロライドチャンネルブロッカーは知られていない。そこで申請者らは、生体での使用にはより特異的な試薬や新たな siRNA 輸送法などの開発が必要となることを提唱している。

以上が本論文の要旨であるが、申請者らは独自の実験方法を駆使し、大腸癌手術時の浮遊癌細胞に対する蒸留水腹腔洗浄の有効性を示した点で、医学上価値ある研究と認める。

平成 28 年 1 月 21 日

審査委員 教授 奥 田 司 ㊞

審査委員 教授 佐 和 貞 治 ㊞

審査委員 教授 柳 澤 昭 夫 ㊞