

〔原著〕

## 必須脂肪酸欠乏ラットに継代移植された 腹水肝癌細胞 AH 130 の脂肪酸に関する研究

吉田孝宣\* 岡崎伸生\*\* 荒木英爾\*\*\*

(昭和63年2月17日受付, 昭和63年3月7日受理)

### 要 旨

必須脂肪酸欠乏状態にあるドンリユー系雄ラットに腹水肝癌細胞 AH 130 (以下, 無脂肪食 AH 130細胞)を継代移植して, その脂肪酸構成の変化を観察し, 宿主の栄養環境の変化が腫瘍細胞に与える影響について検討した。その結果, 無脂肪食 AH 130細胞の脂肪酸組成は普通食で飼育したラットに移植した AH 130細胞のそれに比べ, 18:1 (n-9) の増率と18:2 (n-6) の減率, および, 20:3 (n-9) の出現と20:3 (n-6) の消失が見られた。一方, 無脂肪食で飼育したラットの肝と血清では, これらの変化に加え20:4 (n-6) の減率も認められた。

無脂肪食 AH 130細胞に見られたこれらの脂肪酸組成の変化は, 宿主の肝と血清における変化と同方向の変化で, AH 130細胞の脂肪酸組成は宿主であるラットの栄養環境の影響を強く受けていることを示している。しかし, 20:4 (n-6) が宿主の肝においてのみ有意に減率していた事実は, AH 130細胞独自の脂肪酸代謝機構の存在を示唆しているものと推定される。

**Key words:** 腹水肝癌細胞 AH 130, 必須脂肪酸欠乏ラット, 20:3 (n-9)

略語一覧: 18:1 (n-9): オレイン酸, 18:2 (n-6): リノール酸, 20:3 (n-9): 5, 8, 11 アイコサトリエン酸, 20:3 (n-6): 8, 11, 14アイコサトリエン酸, 20:4 (n-6): アラキドン酸

### はじめに

腹水系腫瘍細胞あるいは培養腫瘍細胞を構成する脂肪酸の大部分は外因性脂肪酸よりなることが *in vitro* の実験で示されている<sup>1)</sup>。一方, 哺乳動物を離乳期より無脂肪食で飼育すると, 必須脂肪酸の著明な減少と非必須脂肪酸であるオレイン酸系列の高度不飽和脂肪酸の増加など, 一連の変化がその臓器組織および血液中に認められることも知られている<sup>2-4)</sup>。しかし, 腫瘍細胞の脂肪酸組成が宿主の脂肪酸環境の変化によって受ける影響についてはいまだ不明な点も多い。

我々は, 腹水肝癌細胞 AH 130をラットに移植し, 宿

主であるラットの脂肪酸環境の変化が AH 130細胞の脂肪酸組成に及ぼす効果について検討したので報告する。

### 実験材料および方法

離乳期のドンリユー系雄ラット (体重40-50g) を Mohrhauser ら<sup>5)</sup>の処方による無脂肪食 (表1) で4週間飼育し, 体重約150g に成長した時点で腹水肝癌細胞 AH 130を継代移植した。移植後6日目に腫瘍細胞 (以下, 無脂肪食 AH 130細胞), 宿主肝組織および血液を採取し, その脂肪酸組成を分析した。対照群は通常の飼料で飼育した体重約150g のドンリユー系雄ラットに継代移植された腹水肝癌細胞 AH 130 (以下, 普通食 AH130

\* 千葉大学医学部内科学第1講座, \*\* 国立がんセンター病院内科, \*\*\* 同臨床検査部生化学, \* 現国立がんセンター病院内科

Takanobu YOSHIDA, Nobuo OKAZAKI and Eiji ARAKI: Studies on Fatty Acids of Rat Ascites Hepatoma AH130 Transplanted into Essential Fatty Acid Deficient Rat.

\* First Department of Internal Medicine, School of Medicine, Chiba University, \*\* Department of Internal Medicine and \*\*\* Clinical Pathology, National Cancer Center Hospital.

Received February 17, 1988. Accepted March 7, 1988.

表 1. 無脂肪食の組成

成 分	重量百分率 (%)
Casein	16
$\alpha$ -cellulose	4
Sucrose	74
Salt mixture	4
Vitamin mixture	1
Choline chloride	1

細胞)とした。

AH130 細胞, 宿主肝組織および血清の脂質は Folch ら<sup>9)</sup>の方法に従い, クロロホルム/メタノール, 2/1で抽出した。抽出した脂質は5% 塩酸メタノール (国産化学)を加え, 沸湯浴中で3時間加温して, 脂肪酸のメチルエステルを調整した。脂肪酸のメチルエステルは silica gel H (メルク社, 西ドイツ)を用いた薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 エチルエーテル/ヘキサン, 10/90) で精製した後, ガスクロマトグラフィーでその組成を分析した。ガスクロマトグラフは日立 F6D, 25% エチレングリコールサクシネートポリエステル (クロマト工業, 東京)を液相, 80-100メッシュのクロモソルブ W (クロマト工業, 東京)を固定相とする100×0.3cm のステンレススチールカラムを用い, 180°C で分析した。ガスクロマトグラム上の脂肪酸の同定はメチルエステルの硝酸銀薄層クロマトグラフィーによる分画, 水素添加および Applied Science 社 (PA, 米国), Sigma 社 (MO, 米国) から購入した標準品との比較によった<sup>7)</sup>。ピーク面積は三角法により計測し, 各脂肪酸組成は百分

比として算出した。

### 成 績

無脂肪食 AH 130細胞は3~6匹のラットに4代まで継代移植したが, 移植率はほぼ100%であった。また, 無脂肪食 AH 130細胞をふたたび通常の飼料で飼育したラットに移植したが, 移植率と発育速度に変化は見られなかった。

普通食ラットに継代移植してきた親株 AH 130細胞およびそれを無脂肪食ラットに3代にわたって継代した AH 130細胞 (F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>), さらに3代目の無脂肪食 AH 130細胞をふたたび普通食ラットに移植した AH 130細胞の脂肪酸組成は表2のごとくであった。すなわち, 無脂肪食 AH 130細胞 (F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>) の脂肪酸組成を親株の普通食 AH 130細胞のそれと比較すると, オレイン酸 [以下18:1 (n-9)] の著増とリノール酸 [以下18:2 (n-6)] の著減, および5, 8, 11アイコサトリエン酸 [以下20:3 (n-9)] の出現と8, 11, 14アイコサトリエン酸 [以下20:3 (n-6)] の消失が目立った変化であった (P<0.01) が, アラキドン酸 [以下20:4 (n-6)] の百分比は両者間で有意の差を認めなかった。これ等無脂肪食 AH 130細胞の所見は無脂肪食ラットに継代移植されている間は持続したが, 普通食ラットに再移植すると親株である普通食 AH130細胞とほぼ同一の脂肪酸組成に戻った。

表3は3代目の無脂肪食 AH130細胞 (表2の F<sub>3</sub>) とその宿主ラット肝および血清の総脂肪酸組成を対照群のそれらと比較して示したものである。18:1の著増と18:2 (n-6) の著減, および20:3 (n-9) の出現と20:3

表 2. 無脂肪食飼育ラットに継代および普通食飼育ラットに再移植した AH 130 細胞の脂肪酸組成

脂 肪 酸	親株 (普通食 AH 130細胞) (%)	無脂肪食ラットに継代した AH 130 細胞			*普通食ラットに再移植した AH 130 細胞 (n=5) (%)
		F <sub>1</sub> (n=3) (%)	F <sub>3</sub> (n=5) (%)	F <sub>2</sub> (n=5) (%)	
14:0	1.3	0.9±0.2	1.0±1.2	1.3±0.3	1.0±0.3
16:0	20.6	21.0±3.6	22.3±0.5	22.5±0.8	23.1±3.1
16:1(n-7)	4.1	7.3±1.6	7.2±0.9	7.0±1.3	4.0±0.6
18:0	20.6	13.0±1.3	14.3±1.1	13.6±0.7	18.1±3.0
18:1(n-9)	25.2	46.7±2.1	45.5±2.1	43.3±2.1	25.3±1.3
18:2(n-6)	18.2	3.1±0.7	1.3±0.6	2.2±1.5	20.5±4.1
18:3(n-3)	1.5	1.5±0.3	1.8±0.4	1.9±0.4	1.7±0.2
20:1(n-9)					
20:2(n-6)	0.7	—	0.4±0.1	0.5±0.2	0.7±0.4
20:3(n-9)	—	3.4±0.6	2.8±0.5	3.9±0.9	—
20:3(n-6)	1.2	—	—	—	0.4±0.0
20:4(n-6)	6.6	3.1±0.8	3.5±0.7	4.7±2.0	5.2±2.3

\* 親株は無脂肪食 AH 130 細胞 F<sub>3</sub>

表 3. 無脂肪食飼育ラットと普通食飼育ラットに移植した AH 130 細胞および宿主肝と血清の総脂肪酸組成

脂 肪 酸	無脂肪食飼育ラット (n=6)			普通食飼育ラット (n=6)		
	AH 130細胞 (%)	肝 (%)	血 清 (%)	AH 130細胞 (%)	肝 (%)	血 清 (%)
14:0	1.3±0.3	1.3±0.5	1.0±0.3	1.2±0.6	0.4±0.1	0.6±0.2
16:0	22.5±0.8	27.2±3.1	28.2±1.4	22.1±1.8	25.2±1.7	26.4±2.1
16:1(n-7)	7.0±1.3	10.4±1.7	9.6±1.6	4.0±0.7	3.7±0.5	3.7±0.6
18:0	13.6±0.7	12.6±2.6	9.2±0.9	21.5±1.3	15.9±3.2	10.8±2.1
18:1(n-9)	43.3±2.1	30.3±4.3	35.5±1.7	25.9±1.1	12.7±2.2	15.1±2.2
18:2(n-6)	2.2±1.5	4.5±1.5	3.4±0.6	16.7±2.3	19.8±6.5	23.5±1.6
18:3(n-3)	1.9±0.4	—	1.0±0.7	2.0±1.2	0.3±0.3	1.4±0.4
20:1(n-9)						
20:2(n-6)	0.5±0.2	—	0.3±0.5	1.0±0.2	0.1±0.2	—
20:3(n-9)	3.0±0.9	4.6±1.1	6.8±2.1	—	—	—
20:3(n-6)	—	—	—	0.3±0.1	0.8±0.4	0.7±0.2
20:4(n-6)	4.7±2.0	9.1±4.5	5.0±1.7	5.3±1.1	21.1±3.2	17.8±3.7

(n-6) の消失を特徴とする無脂肪食 AH 130細胞の変化は、宿主である無脂肪食ラット肝と血清にも認められた。しかし、無脂肪食ラットの肝と血清では、無脂肪食 AH 130細胞には見られない変化であった20:4 (n-6)の著減も認められた (P<0.01)。

考 察

腹水肝癌細胞 AH 130を無脂肪食で飼育したラットに移植すると、宿主肝や血清と同様に20:3 (n-9) の出現と20:3 (n-6) の消失、および18:1 (n-9) の著増と18:2 (n-6) の著減などが見られた。この現象は必須脂肪酸欠乏状態にある哺乳動物<sup>2-4)</sup> や脂質成分をまったく含まない高カロリー輸液を長期間つづけたヒト<sup>8-10)</sup> の諸臓器および血液に見られる脂肪酸組成の変化とほぼ同様であり、腹水系の腫瘍細胞である AH130を構成する脂肪酸の大部分が外因性脂肪酸よりなることが推定される<sup>1)</sup>。さらにこの変化は、20:3の位置異性体である20:3 (n-9) と20:3 (n-6) とが同時に増率し、しかも18:2 (n-6) などの必須脂肪酸の減率を伴わないヒト肝細胞癌における脂肪酸組成の変化<sup>11)</sup>とは異なるものである。

しかし一方では、このような無脂肪食 AH 130細胞の変化もリノール酸系列の必須脂肪酸である20:4 (n-6)の減率に関しては、宿主肝よりも軽微であった。これは、宿主に存在しているわずかの必須脂肪酸を無脂肪食 AH 130細胞が取り込み、その細胞構成成分としていることを示すものと推定される。

以上の成績より、必須脂肪酸欠乏状態下にある AH

130細胞の脂肪酸組成の変化は、宿主を介する二次的な変化が大部分であるが、腫瘍細胞独自の脂肪酸代謝機構の存在を示唆している。

稿を終るにあたり、多大な御指導、御校閲を賜りました千葉大学医学部第一内科学教室大藤正雄教授に深く感謝いたします。

SUMMARY


AH 130 ascites hepatoma was transplanted into the Donryu rat on a fat-free diet and the distribution of fatty acids in the AH 130 tumor cells, the host liver and the serum were analyzed to clarify the mechanism of lipid metabolism in the malignant tumor cells. In the AH 130 tumor cells, the host liver and the serum, increment of content of 18:1 (n-9) and decrement of content of 18:2 (n-6) with appearance of 20:3 (n-9) and disappearance of 20:3 (n-6) were found. However, content of 20:4 (n-6) which was decreased in the host liver and the serum was unchanged in the AH 130 tumor cells.

These results suggest that a specific mechanism for lipid metabolism exists in the AH 130 tumor cells although the composition of fatty acids in the AH 130 tumor cells was influenced by the change of those in the host under the condition of essential fatty acid deficiency.

文 献

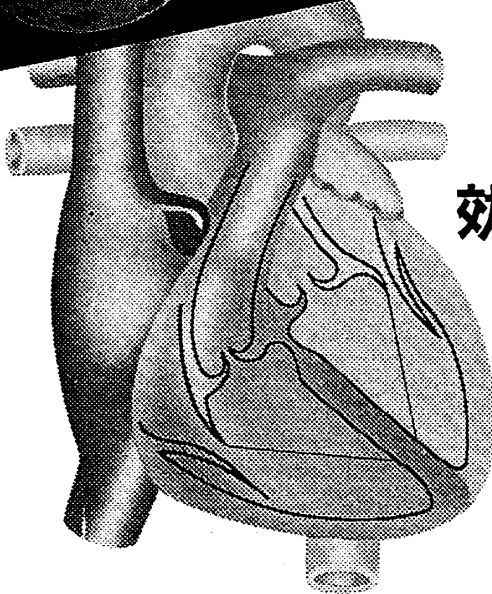
- 1) Spector, A. A.: The importance of free fatty acid in tumor nutrition. *Cancer Res.*

- 27, 1580-1586, 1967.
- 2) Fulco, A. J. and Mead, J. F.: Metabolism of essential fatty acids. VIII. Origin of 5, 8, 11-eicosatrienoic acid in the-fatdeficient rat. *J. Biol. Chem.* **234**, 1411-1416, 1959.
  - 3) Holman, R. T.: The ratio of trienoic: tetraenoic acids in tissue lipids as a measure of essential fatty acid requirement. *J. Nutr.* **70**, 405-410, 1960.
  - 4) Klenk, E. and Pflüger, H.: Über die Biogenese der  $\Delta^5,8,11$ -Eicosatriensäure bei fettfrei ernährten Ratten. *Physiol. Chem.* **335**, 53-62, 1963.
  - 5) Mohrauer, H. and Holman, R. T.: The effect of dose level of essential fatty acids upon fatty acid composition of the rat liver. *J. Lipid Res.* **4**, 151-159, 1963.
  - 6) Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G. H.: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509, 1957.
  - 7) Araki, E. and Okazaki, N.: Studies on fatty acids of human liver. 1. Partial characterization of fatty acids of human liver. *J. Chiba Med. Soc.* **49**, 399-401, 1973.
  - 8) Collins, F. D., Sinclair, A. J., Royle, J. P., Coasts, D. A., Maynard, A. T. and Leonard, R. F.: Plasma lipids in human linoleic acid deficiency. *Nutr. Metabol.* **13**, 150-167, 1971.
  - 9) Paulsrud, J. R., Pensler, L., Whitten, C. F., Stewart, S. and Holman, R. T.: Essential fatty acid deficiency in infants induced by fat-free intravenous feeding. *Am. J. Clin. Nutr.* **25**, 897-904, 1972.
  - 10) 真島吉也, 樋口道雄, 山野元, 綿引義博, 宮司勝, 青木靖雄, 田代靖雄, 田代亜彦, 滝沢淳, 大野一英, 山森秀夫, 綿貫重雄: 経中心静脈栄養法施行時の血清脂質の変動と脂肪乳剤投与の影響. *外科* **36**, 711-718, 1974.
  - 11) 岡崎伸生, 荒木英爾: 脂肪酸. *最新医学* **29**, 1769-1774, 1974.



# Frاندول


健保適用



## ISDN持効錠

(硝酸イソソルビド)

### 効果持続で狭心発作の改善に



虚血性心疾患治療剤〈持効錠〉

## フランドル


■成分 1錠中に日本薬局方・硝酸イソソルビド20mgを含有

■適応症 狭心症, 心筋梗塞(急性期を除く), 冠硬化症(慢性虚血性心疾患, 無症候性虚血性心疾患, 動脈硬化性心疾患)

■包装 フランドル(20mg) 100錠 1,000錠


※用法・用量, 使用上の注意等詳細については添付文書をご参照ください。

製造



トアイ

発売



山之内製薬