

# *Lepidium meyenii* Walp, *Jatropha macrantha* および *Epimedium koreanum* の生殖能力 および抗更年期障害の薬剤についての研究

大嶋 正己

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：具 然和)

## 論文概要

近年、環境汚染と複雑な社会の変化により、性機能障害の問題や更年期障害が社会問題になっている。そこで本研究では、*Lepidium meyenii* Walp, *Jatropha macrantha* および *Epimedium koreanum* を雌雄のマウスに単独および混合摂取させ、雄では血中テストステロン値の測定、X線を精巣に照射し精巣重量および総精子数の回復に対する影響を観察した。また、雌では血中エストラジオール-17 $\beta$ 値および血中プロゲス

テロン値の測定、着床率および生存胎児数に対する影響を観察した。造精機能の改善には、*L. meyenii* Walp, *E. koreanum* 単独投与および *L. meyenii* Walp + *E. koreanum* の混合投与が有効であった。また、女性の更年期障害に有効な血中エストラジオール-17 $\beta$ 値の上昇作用は、*E. koreanum* 単独投与および *E. koreanum* + *J. macrantha* の混合投与が有していた。女性の血中プロゲステロン値の上昇および着床率上昇に対しては *L. meyenii* Walp 単独投与が効果的に作用していた。

## 三酸化二砒素の固体腫瘍に対する血流遮断効果及び温熱、放射線感受性の増感効果に関する研究

門前 一

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：長谷川武夫)

従来の癌化学療法剤の大部分の効果はDNAを化学修飾、複製阻害することである。しかし、このような抗癌剤の治療効果には限界があることが明白となり、新しい作用機構を持つ抗癌剤の開発が必要である。近年、中国やアメリカの研究者により発表された三酸化二砒素(ATO)によるアポトーシス誘導療法が白血病を克服する可能性がでてきた。その薬剤は、急性骨髄性白血病の原因タンパク質であるPML-RAR $\alpha$ 融合タンパク質や細胞骨格構成物のチューブリンを標的としている。このように癌細胞の分化やアポトーシス誘導に関与する分子群を標的とする抗癌剤の開発は現実的な課題となってきているが、固体腫瘍への有効性は研究が始まって間もなく、今後の研究が期待されている段階である。

本研究は、そのATOの固体腫瘍への致死効果および有効性、固体腫瘍治療時に併用されるハイパーサーミア、放射線療法への増感効果を検討した。また薬剤投与後の固体腫瘍へのアポトーシス誘導を、TUNEL法を用いて検討した。ATOを単独でマウスに腹腔投与した時の固体腫瘍病理標本上の変化は投与後1日目から線維肉芽腫、扁平上皮癌で非常に特徴的な変性、壊死、出血領域出現、またアポトーシスの誘導傾向が確認された。薬剤と温熱治療の併用実験では、熱感受性

を修飾した。マウスに担癌した固体腫瘍の病理所見では単独投与で得られた病理標本より明らかに温熱併用治療後1日目、3日目で壊死領域が拡大し、体積変化では全ての腫瘍において体積の縮小があるなど、ATOは熱感受性を増感していた。温熱増感された要因は、薬剤投与後に生じた腫瘍内血流低下によるpHの低下に起因する増感であると推察した。放射線の併用実験では、扁平上皮癌の病理所見では単独投与で得られた病理標本より明らかに放射線併用治療後3日目で構造の破壊、分離の上、壊死領域が見られ、腫瘍の体積変化では併用治療後、数日間腫瘍体積の縮小があり、放射線感受性を増感していた。増感の要因として、血管損傷等による無酸素細胞領域に酸素が進入して、効果を修飾された可能性を考えたが、薬剤と放射線の併用時期、間隔やその作用機序等今後の課題が残った。

本研究から、ATOが固体腫瘍に対しても十分効果が望める薬剤であり、ハイパーサーミア、放射線治療との併用によって固体腫瘍に対する相乗効果も期待出来ることが明らかとなった。ATOは固体腫瘍内の血流遮断や血管を破壊する事によって直接腫瘍を損傷し、また白血病細胞に対する効果同様に、固体腫瘍にアポトーシスを誘導する事によって抗腫瘍効果が生ずる可能性が示唆された。

# Mild-Hyperthermia と化学療法併用における 薬剤取り込みと抗腫瘍効果の増強

小野 博史

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：長谷川武夫)

## 目 的

温熱療法は 42.5℃ 以上の温度で患部を加温することで抗腫瘍効果が期待できる。また、化学療法との併用では抗癌剤の抗腫瘍効果を増強することができる。しかし近年、42.5℃ 未満の温度を用いた Mild-Hyperthermia が免疫を活性化させ、腫瘍成長を抑制すると報告されている。また同様に Mild-Hyperthermia でも化学療法との併用で抗腫瘍効果を増強することができるという報告も散見する。そこで本実験では、Mild-Hyperthermia と化学療法との併用における抗腫瘍効果の確認と基礎的なメカニズムを組織内への薬剤の取り込み量より調査した。

## 対象および方法

実験動物は C3H/He マウス (♂, 8 週令) を使用し、SCC-VII 細胞をマウスの右大腿に  $1 \times 10^6$  個移植し、長径が 6mm 程度に成長した時点で各処理を行った。腫瘍成長の観察は、無処理群、41℃ 加温群、43℃ 加温群、Cisplatin 投与群、41℃ 加温処理と Cisplatin 併用群、43℃ 加温処理と Cisplatin 併用群の 6 群を用い、腫瘍の病理標本を作成した。また各群の血液・臓器を摘出し、原子吸光度計により Cisplatin の取り込み量を測定した。同様に in vitro においては SCC-VII 細胞を用いて生存率、細胞中の取り込み量、電気泳動に

よりアポトーシスを測定した。さらに、Mild-Hyperthermia 処理による腫瘍内の血流量の変化を観察した。

## 結 果

Mild-Hyperthermia と Cisplatin の併用群は Cisplatin 単独群と比較して、in vivo では約 1.5 倍の腫瘍成長遅延、約 3 倍の血中および腫瘍内 Cisplatin 濃度の上昇が確認できた。同様に in vitro でも生存率の顕著な低下と、約 8 倍量の腫瘍細胞内 Cisplatin 濃度の上昇が確認できた。また、病理標本と電気泳動により腫瘍細胞に顕著な細胞損傷 (アポトーシス誘導) が確認された。さらに、腫瘍内の血流は Mild-Hyperthermia 処理を行うと血流量増加が観測された。

## 結 論

Mild-Hyperthermia により、血管拡張による血流増加に伴う薬剤の組織の取り込みと、細胞膜の機能的変化が起こり、これらの作用により Cisplatin が腫瘍細胞と結合しやすくなり腫瘍内の取り込みが増加したと考えられる。その結果、Cisplatin の腫瘍組織への取り込み量と腫瘍内滞留時間の延長により、抗腫瘍効果が増強された可能性が考えられる。

## 結 語

本法は Mild-Hyperthermia と化学療法を併用する事で抗腫瘍効果を増強し、加温による患者の負担の減

少、抗癌剤の投与量制限による副作用の軽減、免疫活性による転移予防などの可能性をもつことから、悪性腫瘍治療患者の QOL の向上が期待できる。

# *Lyophyllum decastes sing* と *Propolis* の放射線防護効果 および抗腫瘍効果に関する研究

田島 将行

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：具 然和)

## 【研究目的】

悪性腫瘍の治療において放射線治療は有用な治療法である。しかし、白血球減少および免疫低下が副作用として問題である。従って本研究では *Lyophyllum* と *Propolis* 及びそれらの併用による放射線防護効果と、その際の腫瘍に与える影響について検討し、放射線防護剤および免疫増強剤への基礎データとして資することを目的とした。

## 【研究方法】

Heat water extract *Lyophyllum decastes sing* および Water extract *Propolis* を distilled water で溶解したものを投与物とし、細胞レベルの影響を検討する為に、末梢血球細胞数および T リンパ球の解析、Antioxidant activity の測定を行った。末梢血球数測定においては日本 SLC 社より購入した生後 5 週齢の雄性 (体重 25~27g) ICR マウスを用い、非照射群として Control (Top water) 群, *Propolis* 群, *Lyophyllum* 群, Mix 群を用い、2Gy 全身照射群として X 群, *Propolis* + X 群, *Lyophyllum* + X 群, Mix + X 群の以上 8 群 (n=10) とした。投与方法は O. P 隔日、投与量は 250mg/kg/0.3ml とし 2 週間の事前投与終了後に測定を開始した。末梢血球細胞数測定には自動血球測定器を用い、照射 1 日前、照射 3 時間後、

12 時間後、24 時間後、3 日後、7 日後、15 日後、30 日後に白血球 (リンパ球, 単球, 顆粒球) を測定した。有意差検定には ANOVA 検定を行った。フローサイトメトリーによる T リンパ球分画では日本 SLC 社より購入した生後 3 週齢の雄性 (体重 13~14g) C57Bl マウスを用い、実験群は血球測定と同様の 8 群とした。投与は隔日 I. P, 100mg/kg/0.2ml 行い、2 週間の事前投与終了後に実験を開始した。Antioxidant activity の検討として AAPH 法と SOD 様活性測定法を行った。実験動物は末梢血球数測定とし、実験群は Control (Top water) 群, *Propolis* 群, *Lyophyllum* 群, Mix 群の以上 4 群 (n=10) とした。投与方法は O. P にて隔日で行い、投与量は 250mg/kg/0.3ml とし 2 週間の事前投与終了後に実験を開始した。さらに、放射線防護剤が腫瘍に与える影響を検討する為、腫瘍の成長測定を行った。その際、放射線治療を模擬するため、2Gy × 3 回の計 6Gy 局部照射の群を用いた。実験動物は末梢血球数測定の場合と同様とし、実験群は Control (Top water) 群, *Propolis* 群, *Lyophyllum* 群, Mix 群, 6Gy 治療群として X 群, *Propolis* + X 群, *Lyophyllum* + X 群, Mix + X 群の以上 8 群 (n=8) とした。腫瘍細胞は Sarcoma180 ( $2 \times 10^6$  cells) をマウス左大腿部へ移植した。投与方法は O. P 隔日で行った。有意差検定は Willcoxon 順位和検定を行った。

### 【結果および考察】

*Lyophyllum* はヘルパー T-cell の増強に関与した免疫的側面に加え, superoxide radical に対する radical scavenging による側面からも放射線照射後の副作用である白血球低下を抑止していることが示唆された。これは *Lyophyllum* の主成分である  $\beta$ -(1-3) D グルカン,  $\beta$ -(1-6) D グルカンによる腸上皮間 T リンパ球の活性に関わることが考えられる。なお, Mix 群では白

血球数の変化および抗酸化の側面では相加的 ( $\omega \approx 1$ ) である事が示唆された。

腫瘍への影響において未治療群においては *Propolis* および Mix ( $\omega > 1$ ) は成長抑制がみられ, X 線治療群の場合では全ての群に成長抑制傾向がみられた。以上により, *Propolis*, *Lyophyllum*, Mix は免疫細胞に放射線防護を果たし, 腫瘍自体においては放射線治療との拮抗作用は無いことが明らかになった。

# *Fuscoporia obliqua* と全溶解 *Propolis* による放射線防護効果および抗腫瘍効果に関する研究

田中堅一郎

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：具 然和)

## [研究目的]

近年、放射線治療はめざましく進歩し、病巣にピンポイント照射が可能となってきたが他組織への被曝線量はまだまだ高く放射線による副作用は避けられない。また、毒性や副作用が強く抗ガン剤などの薬剤との併用による複合副作用が問題とされている。そこで本研究は、副作用の少ない天然物質である *Fuscoporia obliqua* (以下 FO) と *Propolis* の抗酸化作用、免疫賦活作用、抗腫瘍効果に着目し、放射線治療時の副作用低減と抗腫瘍効果について、血球数への影響、SOD 様活性、ケミルミネッセンス法による抗酸化作用および ESR によるラジカル消去能、T リンパ球のサブセット、腫瘍成長抑制への影響および腫瘍壊死因子である TNF- $\alpha$  を検討した。

## [研究方法]

血球数への影響については、FO、*Propolis* およびそれらを 1 : 1 で混ぜた併用物 LD500mg/kg を 5 週間経口投与し、投与開始 15、18、21 日後に右大腿部に X 線 2Gy 局所分割で計 6Gy 照射し、照射前日から採血を行い自動血球測定器にて血球数（白血球数、リンパ球数、単球数）の経時の変化を測定した。SOD 様活性およびケミルミネッセンス法による抗酸化測定は LD250mg/kg を 3 週間投与し SOD 様活性の測定は

NTB 還元法により血清中の SOD 様活性度を測定した。ケミルミネッセンス法は 2, 2'-アゾビス (2-アミノジプロパン) 二塩酸塩 (AAPH) の加温発生ラジカルとアルカリ条件下のルミノール発光を組み合わせた系を用い測定した。ESR は 3 週間投与し ESR 管に血清を 200 $\mu$ l 入れ液体窒素にて凍結させた後、JEOL JES-REIX ESR Spectrometer にてラジカル量を測定した。T リンパ球サブセットの解析については血球数が顕著に増加していた FO についてのみ行った、C57BL マウスに LD250mg/kg を 4 週間投与後、2Gy 全身照射し、その後直ちに心臓採血を行い全血法により得られたリンパ球を、リンパ球サブセット用フローサイトメトリ試薬により蛍光染色し、フローサイトメータにより CD3CD4 および CD3CD8 ダブルポジティブの解析を照射前日、7 日後、10 日後に行った。腫瘍成長抑制への影響については、Ehrlich Carcinoma ( $1 \times 10^6$ 個) を ICR マウスの右大腿部に皮下接種後、LD500mg/kg を 5 週間投与し、腫瘍のサイズを 1 日おきに測定した。腫瘍接種後 35 日目に腫瘍摘出し、重量から腫瘍抑制率を求めた。照射は腫瘍接種 15、18、21 日後に右大腿部に X 線 2Gy 局所分割で計 6Gy 照射した群の腫瘍の成長も検討した。TNF- $\alpha$  については、ICR マウスに LD250mg/kg を 3 週間投与し血清を用い Mouse TNF- $\alpha$  ELISA Kit により吸光度より求めた。

### [結果及び考察]

*FO* と *Propolis* は放射線照射により生じたフリーラジカルをラジカルスカベンジング作用により消去し、有機ラジカルの生成を阻害し、過酸化脂質の生成など酸化による細胞の障害を軽減させることで、放射線照射によるリンパ球数の減少を抑えたことより放射線防護効果が認められた。ESRにより直接、絶対的な有機ラジカル量を測定したところ、有意な差はないもののラジカル量が減少していたことによりフリーラジカル

スカベンジング作用が働いたことが認められ、明らかな放射線防護効果があることの強い裏付けとなった。また、*FO* と *Propolis* は免疫力の低下を防ぐと共に、細胞の酸化を防ぎ、免疫力を高めることにより、腫瘍の成長を抑制した。よって抗腫瘍効果があることが確認された。これはマクロファージによって産出される腫瘍壊死因子である  $\text{TNF-}\alpha$  が増加していたことにより裏付けられた。よって、*FO* と *Propolis* には放射線防護効果と抗腫瘍効果があることが証明された。

# 電気化学癌治療 (ECT : Electro Chemical Treatment of tumors) に対する細胞レベル及び DNA レベルのメカニズムの研究

田邊 裕朗

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：具 然和)

## [研究目的]

電気化学がん治療 (Electro chemical treatment (ECT) of cancer) は直流をがん組織内に流すことにより、腫瘍の退行を誘発する有望な新しい方法である。有効性, dose-response, 細胞毒性の評価の分野ではほとんど基礎研究がなされてはならず, ECT の生物学的メカニズムは未だ判明していない。そこで本研究では, マウスを用いた基礎研究により ECT のメカニズムを検討する。したがって, ECT の抗腫瘍効果における細胞レベル及び DNA レベルのメカニズムを研究し, ECT の基礎研究にデータを資することが目的である。

## [研究方法]

細胞レベルでの研究では, ICR マウス, C3H マウス (♂ : 5 週齢) に腫瘍細胞 (Sarcoma-180, Scc-7, Ehrlich) をマウスの右大腿部上部に皮下注入し実験に用いた。pH 測定実験では ECT 後, 直後に陰極側, 陽極側に pH 測定電極を刺入し, Control, 1c, 5c, 10c 群の pH 値を各 5 回測定した。組織学的レベルの検討では, C3H マウスの右足の上方部に接種した腫瘍に ECT を行ない, 各群 ECT 後 6, 12, 24hr 後に腫瘍の摘出を行った。摘出した腫瘍を 10%ホルマリンによ

り組織固定を行ない, 得られた組織切片より HE 染色, Apoptosis 抗体染色を行ない観察した。

## [研究結果]

細胞レベルでの研究では, 腫瘍成長測定実験・腫瘍重量測定実験においては Sarcoma-180, Scc-7, Ehrlich において, 有意差が認められた ( $p < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。また, 腫瘍内 pH 測定実験においては Control 群に比べ各群で, 陽極及び陰極において統計学的な有意差が認められた ( $p < 0.01$ )。組織学的レベルでの検討では HE 染色したスライドを観察したところ, ECT 後 6hr, 12hr, 24hr 後で Necrosis の増加が, Apoptosis 抗体染色したスライドを 400 倍の拡大率で顕微鏡観察したところ, Apoptosis の増加が認められた。

## [結論]

ECT を行うことにより生体内に微弱な電流が流れる。このことにより, 組織内 pH の変化や, ガスの発生などが起こる。本実験においても腫瘍内 pH 値が陽極側で強酸性に, 陰極側で強アルカリ性になることが確認された。また, ECT の治療中にガスの起こることが本実験で確認された。この pH の変化などにより細胞内の環境の変化, たんぱく質の変性, Apoptosis

や Necrosis が引き起こされる。本実験においても Control 群に比べて有意な Apoptosis の増加が確認された。また、腫瘍成長測定実験、腫瘍重量測定実験に

おいても ECT による治療効果が認められた。これらの実験結果より ECT は腫瘍治療方法として有効であると考えられる。

# 衝動性眼球運動の測定と解析 ——眼球運動の正確さと遅れ時間——

森田 聡明

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：奥山文雄)

視覚は人間が外界から最も多くの情報を受容する重要な感覚である。その視野は左右  $220^\circ$  に及ぶが、空間分解能、すなわち視力が優れているのは中心視部分の直径約  $10$  度の範囲しかない。これは網膜の中心窩とよばれる部分に相当し、文字情報や画像のような詳細な情報は、主としてこの中心窩から得られる。

跳躍的に運動する衝動性眼球運動 (saccade) は、高速性にその特徴があり視標を網膜の空間解像度の最も高い中心窩付近に瞬時に移動する際に起こる眼球運動である。衝動性眼球運動は、脳内における認知メカニズムと密接に関係しており、衝動性眼球運動応答特性によりそのメカニズムを解明しようとする研究は多く、衝動性眼球運動を正確に測定することは視覚系の情報処理機構を明らかにする上で重要である。修正衝動性眼球運動は、衝動性眼球運動の視標が視野周辺部にある場合、最初の衝動性眼球運動だけでは視標を補足できず、さらに第2、第3の衝動性眼球運動が生じて視標に達するように発生する。この第2、第3の衝動性眼球運動を修正衝動性眼球運動と呼ぶ。とくに目標となる視標が暗中で呈示された場合や、大きな振幅の衝動性眼球運動が必要な場合に生じる。

今回は眼球運動の中で高速な眼球運動である衝動性眼球運動について、運動を測定・解析するシステムを構築し視標による視覚刺激と眼球運動との関係を明らかにすることを目的とした。また、衝動性眼球運動の

正確さと遅れ時間を求め、日常生活での衝動性眼球運動について明らかにすることを目的とした。

## 測定と結果

まず予備実験として衝動性眼球運動を測定するために、水平方向の眼球運動を正確にとらえやすく、被験者への負担の少ないリンバストラッカー法を用いた。測定機器には竹井機器の眼球運動モニター装置を用い、中心のLEDを注視してもらい、左右水平方向LEDを点灯させ測定を行った。また今回は、視力が1.0以上の被験者10人で計測を行った。測定したデータは、TEAC ExtrTAFfによって波形データの解析をした。

遅れ時間(潜時)は視標呈示から眼球運動が始まるまでの時間で約  $200\text{ms}$  と言われている。持続時間は眼球運動の時間である。衝動性眼球運動の速度は振幅/持続時間で求められる。衝動性眼球運動速度は約  $300\text{--}600$  ( $^\circ/\text{sec}$ ) と言われている。結果は潜時、持続時間も多少のばらつきはあったが平均すると従来とほぼ同じ値だった。

次に従来の研究では明るい環境でのシングルステップの衝動性眼球運動の実験は少ないので、通常の室内光下の実験より被験者3人で視標から  $5^\circ$ 、 $10^\circ$ 、 $15^\circ$ 、 $20^\circ$  の呈示位置で眼球運動の正確さと遅れ時間について明らかにするために計測を行った。

その結果、視標呈示位置  $5^\circ$  の場合、衝動性眼球運動の振幅誤差は  $-0.3^\circ$ 、修正衝動性眼球運動後の最終誤差は  $0.4^\circ$  である。呈示位置  $20^\circ$  の場合は修正衝動性眼球運動後で  $-0.5^\circ$  であり、従来の暗室での実験よりも振幅が正確であった。しかし、修正衝動性眼球運動も含めた時間は長くなった。

## 考 察

衝動性眼球運動の測定・解析を行った結果、従来と同じような値を示すことができた。また、室内光下での衝動性眼球運動は、従来の暗室の実験と比較して修

正眼球運動がない場合でも従来の結果と比較して振幅は正確であった。また、遅れ時間は修正眼球運動が起きる場合と起きない場合では大きく違うことも確認できた。したがって、日常生活では従来の暗室で得られた結果より正確な衝動性眼球運動を行うことができる。しかし、日常生活での衝動性眼球運動は、暗室よりも多くの視標があるので、さらに多くの視標による実験で運動の振幅や遅れ時間を求めることが必要だと思われる。

# リハビリテーションデータベースによる脳卒中入院患者の 検討研究——脳卒中機能障害評価法 (SIAS) と 機能的自立度評価法 (FIM) を用いて——

渡辺 章由

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療画像情報学専攻

(指導教員：河村徹郎)

我々は、脳卒中機能障害評価法 (Stroke Impairment Assessment Set；以下、SIAS) と機能的自立度評価法 (Functional Independence Measure；以下、FIM) を用いて脳卒中患者のリハビリ開始時・退院時データを概観した。

先行研究においては、すでに道免らにより発症後1ヶ月の機能障害のみから、退院時の移動・移乗 FIM をステップワイズ重回帰分析により予測しているが、今回は藤田保健衛生大学病院におけるデータベースから、機能障害 (SIAS) と能力障害 (FIM) の評価結果を用いて、リハビリ開始時から退院時の帰結予測を行い比較検討を行った。さらに退院時の FIM 運動領域 (以下、FIM-M) と退院時の歩行能力の帰結予測も加えた。また FIM の難易度においては辻、正門、二木らによって報告されているが、我々のデータをもとに比較検討した。

SIAS の開始時・退院時変化では相関が高く ( $r=0.92$ )、「一定利得」の傾向が示された。

FIM 合計点の開始時・退院時の関係においては「下方硬直性」が示され、さらに退院時には満点 (126 点) 近くに多くの患者が到達するという「天井効果」がみられ、特に開始時得点の良好な症例で明らかであった。

開始時 SIAS 合計点と退院時 FIM 合計点の関係においては、開始時の機能障害 (SIAS) が高得点群では

退院時の能力 (FIM) で天井効果がみられた。

ADL (FIM-M) 項目の難易度では本研究からは整容 (FIM) が容易なグループと同様の結果となった以外、ほぼ同様の結果が得られた。

また、障害側 (右・左) 別の平均得点の推移において有意差は認められなかったが、開始・退院時ともに、左麻痺より右麻痺の方が平均点が高い傾向が示された。

帰結予測ではそれぞれ5項目の説明変数による予測式を作成した。FIM 合計点、FIM-M、FIM 歩行のすべてにおいて観測値が低得点の場合は予測値が高めになり、観測値が高得点の場合は予測値が低くなるという傾向が示された。退院時 FIM 合計点の帰結予測では、リハビリ開始時に SIAS の評価項目から、下肢近位 (股)・非麻痺側大腿四頭筋筋力・言語・腹筋力・年齢の5項目を評価することにより60%説明することができた。同様に FIM 運動領域では、下肢近位 (股)・下肢触覚・非麻痺側大腿四頭筋筋力・腹筋力・年齢の5項目の評価にて63.6%説明できた。さらに退院時 FIM 歩行得点では、下肢近位 (股)・下肢触覚・握力・腹筋力・年齢の5項目の評価にて56.5%説明することができた。

# リブレフラワー（RF）の脂質代謝に及ぼす影響に関する研究

川波多 美穂

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療栄養学専攻

（指導教員：鈴木郁功）

## 【目的】

RFは酸化に強い高品質の玄米全粒微粉末であり、玄米に含まれている栄養成分がほとんど破壊されずに含まれている。RFは脳卒中、動脈硬化などを予防する効果があると言われており、これらと脂質代謝に関連があると考え、脂質代謝に対する効果を検討した。

## 【実験方法】

高コレステロール（Cho）食負荷による高Cho症マウスに及ぼす影響：ICR系雄性マウスを用い、Control群、Sample群には高Cho食を与え、Control群には蒸留水、Sample群には籾ブラウン懸濁液（PB）、リブレフラワーブラウン懸濁液（RFB）、リブレフラワーホワイト懸濁液（RFW）を14日間経口投与し、採血を行い、総コレステロール濃度（TC）、トリグリセライド濃度（TG）を測定した。正常マウス血清脂質に及ぼす影響：ICR系雄性マウスを用い、Control群には蒸留水、Sample群にはPB、RFB、RFWを14日間投与し、採血を行い、TC、TGを測定した。高Cho食負荷による高Cho血症マウスに及ぼす用量依存性に対する影響：ICR系雄性マウスを用い、Control群、Sample群には高Cho食を与え、Control群には蒸留水、Sample群にはRFB、RFWを用量依存的に14日間投与し、採血を行い、TC、TGを測定した。Triton WR-1339誘発高脂血症マウスに及ぼす影響：ICR系雄性マウスを用い、Control群には蒸留水、Sample群

にはRFB、RFWを14日間投与し、Triton WR-1339を尾静脈内投与し、採血を行い、TC、TGを測定した。腸におけるChoの吸収に及ぼす影響：ICR系雄性マウスを用い、Control群には蒸留水、Sample群にはRFB、RFWを投与し、腸にCho液を注入し、結紮後腹腔内に戻し、腸を摘出し、生理食塩水で腸内を洗浄し、Cho濃度を測定し、Choの吸収量を求めた。抗酸化能の測定：DPPHラジカル消去能の測定とロダニン法による抗酸化活性の測定を行った。

## 【結果・考察】

玄米をホロニック・テクノロジーで蒸しながら遠赤焙煎し、高速回転粉碎処理した酸化に強い玄米微粉末より得られたレブレフラワーブラウン懸濁液（RFB）、リブレフラワーホワイト懸濁液（RFW）を用いて、in Vivo, in Vitroにおける脂質代謝に及ぼす影響について調べた。正常マウスでは検体1000mg/Kg/dayの用量で、2週間反復経口投与で血清総コレステロール（TC）及びトリグリセライド（TG）値には何ら影響をおよぼさなかった。高コレステロールを負荷した高脂血症マウスでは籾ブラン Paddy Brown（PB）と共に血清TC値のみ上昇抑制を示し血清TG値には何ら変化しなかった。RFBとRFWの50、100及び1000mg/Kg/dayP. O. 用量の反復経口投与では、いずれも有意（ $P < 0.05$ ）な用量依存的な血清TC上昇抑制効果が認められ、RFRの用量反応曲線からID30値を求めると78mg/Kg/dayPOが得られた。

RFW は RFB に比べてやや弱い抑制効果を示した。この Cho 負荷による血清 TC 濃度を低下させる作用機序には、1 つは肝臓における Cho 合成阻害と今回、胃底部からの有意 ( $P < 0.05$ ) な腸管からの吸収抑制が認められたこの腸管からの Cho 吸収阻害と胆汁酸や Cho 再吸収阻害が考えられる。

更に、RF には多少含有する食物繊維の働きと

DPPH におけるラジカルスカベンジ (消化能) 及びリノール酸を基質としてロダン鉄法による抗酸化作用が標準物質 Trolox を凌駕する作用が認められた。リブレフラワー (RF) には脂質における過酸化に対する抗酸化作用を発現して高脂血症の改善する機能をもつ食品と考えられる。

# チベット人參水抽出物 (WET) の抗腫瘍効果並びに 水迷路学習能の効果に関する研究

児島 孝子

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療栄養学専攻

(指導教員：鈴木郁功)

## 【目的】

チベット人參はベンケイソウ科の多年生草本で、ビタミン類、グリコシド配糖体、フラボン類人參素、アルギニンやグルタミン酸を多く含み、たくさんの栄養素を含有している。老化や癌をはじめとする生活習慣病や現代社会におけるストレスは大きな問題とされている。そこで WET を用いて抗酸化、免疫活性、抗腫瘍効果、水迷路学習能を検討した。

## 【方法】

抗酸化効果の判定：DPPH ラジカル消去能の測定とロダン鉄法により測定した。L/P 活性：Hand らの方法に準じ Swiss-webster 系マウス (6~12hr) の同腹の新生仔を二群に分け、対照群として生理食塩水、検体群として WET を腹腔内注射した。注射前、注射後 6, 10, 14 日に採血し、リンパ球と多形核白血球を総数 100 個数えた。免疫賦活効果：ICR 系マウスを用い、対照群として生理食塩水、検体群として WET を 2, 4, 5, 6 日目に、また検体群とデキサメサゾン (DM) 群に DM を 0, 2, 4, 5 日目に腹腔内注射した。7 日目に細胞を採取し培養し、リンパ球とマクロファージと活性化マクロファージ数を数えた。S-180 固形癌に対する抗腫瘍効果 (腫瘍内投与)：ICR 系マウスを用い、右鼠経蹊部皮下に S-180 固形癌を移植した。移植後

3 日おきに右鼠経蹊部皮下の腫瘍内に対照群として生理食塩水、検体群として WET を注射した。

S-180 固形癌に対する抗腫瘍効果 (経口投与)：ICR 系マウスを用い、右鼠経蹊部皮下に S-180 固形癌を移植した。移植後、対照群として蒸留水を、検体群として WET を 35 日間連続経口投与した。腫瘍の増殖は毎週腫瘍の大きさを測り、35 日目に腫瘍を摘出した。

水迷路学習能：Morris の方法に準じ、ICR 系マウスを用い、水の張った円筒の水槽と入水したマウスが回避できるため、壁から 25cm 離れたところにプラットホームを設置し、壁には 3ヶ所に標識をはり認識させた。水面下 1cm になるように 25℃ 前後の水を張った。対照群として生理食塩水、検体群として WET を 13 日間連続腹腔内注射し、プラットホームに到達するまでの時間を測定した。ストレスに対する水迷路学習能：対照群として生理食塩水、検体群として WET を腹腔内注射し、学習効果の現れた時点で、毎日 1 回 6 日間連続でマウスを適当に投げ入れ、ストレスを与えて遊泳時間を測定した。ピレンゼピン投与による水迷路学習能：対照群として生理食塩水、検体群として WET を腹腔内注射し、学習効果の現れた時点で、ピレンゼピンを両群に腹腔内注射し、注射前、及び注射後 30, 60, 120 分に遊泳時間を測定した。

**【結果・考察】**

チベット人参抽出物 (WET) の DPPH ラジカル・スカベンジャー (消去能) 並びにリノール酸を基質としたロダン鉄法による抗酸化作用では, 標準物質 Trolox 以上の優れた活性を認めた。免疫活性には新生仔マウスにおける L/P 活性の増多作用と DM 処理した免疫不全由来のリンパ球数並びにマクロファージ活性のいずれも有意 ( $P < 0.05$ ) な増強効果が認められた。S-180 固形癌の担癌マウスには腫瘍内投与及び反復経

口投与と共に明らかに腫瘍増殖抑制効果を認めた。これは WET の腫瘍細胞に対し, 直接作用と宿主における免疫機能を高めて, 抗腫瘍作用を発現したものと思われる。Morris 法に準じた水迷路学習能への影響では遊泳時間 (到達時間) の短縮が認められ, ムスカリン受容体拮抗剤ピレンゼピン処理には影響されなかつた事により, WET を与えたマウスの海馬のコリン作動性経路の活性化と空間学習能における記憶力を増強するいくつかのメカニズムを有するものと思われる。

# アガリクス、プロポリス及びパフィア混合物（ABP）による 抗腫瘍作用に関する研究

光本 教秀

鈴鹿医療科学大学大学院 保健衛生学研究科 医療栄養学専攻

（指導教員：鈴木郁功）

## 【目的】

種々の新薬の開発により、様々な難病が克服されてきたが、未だ癌で命を落としているのが現状である。南米地方の薬草には薬効を有する物質が豊富であり、特に薬効が知られているプロポリス（PO）、アガリクス（AG）、パフィア（PF）に注目し、検討した。

## 【実験方法】

抗酸化作用の判定：DPPH ラジカル消去能の測定とロダン鉄法による抗酸化活性の測定を行った。リンパ球対多形核白血球比増加作用（L/P 活性）に Swiss-Webster 系マウスの生後 6~12 時間内の同腹の新生仔を二群に分け、一方には対照群として生理食塩水を、他方には検体群として ABP、AG、PO、PF を腹腔内注射し、注射前、注射後 6、10、14 日に採血し、L/P 比を求めた。抗腫瘍作用：ICR 系雄性マウスを用い、Ehrlich 固形癌を右鼠頸部皮下に移植した。対照群には蒸留水、検体群には ABP、AG、PO、PF を毎日経口投与し、腫瘍の増殖をノギスで測定し、35 日目に摘出し、腫瘍重量を測定した。同様の方法で Sarcoma-180 (S-180) の固形癌について検討した。IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  産生能：ICR 系雄性マウスを用い、S-180 固形癌を右鼠頸部皮下に移植した。対照群には蒸留水、検体群には ABP、AG、PO、PF を投与し、28 日目に

PBS を腹腔内投与し、腹水を採取した。腹水を凍結し、融解物を遠心分離後、上澄液を透析膜を用いて濃縮し、この濃縮液中の IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  活性値を ELISA 法で測定した。IgM、IgG 産生能：ICR 系雄性マウスを用い、S-180 固形癌を右鼠頸部皮下に移植した。対照群には蒸留水、検体群には ABP、AG、PO、PF を投与し、28 日目に採血し、血清を用いて IgM、IgG 活性値を ELISA 法で測定した。

## 【結果・考察】

ABP、PF、AG には DPPH- ラジカル・スカベンジャー（消去能）の測定ならびにロダン鉄法によって優れた抗酸化作用が認められた。天然に存在す ascorbic acid や  $\alpha$ -tocopherol などは、生体内で抗酸化剤として働くだけでなく nitrosamine の生合成を阻害することより、発癌抑制に広く役立っていることが知られている。免疫能力の増加作用には新生仔マウスによる生後 10、14 日目における L/P 活性の増強効果が認められた。マクロファージ系のサイトカイン、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  の産生能には、ABP、PF、AG といずれも高値を示した。IgM、IgG の産生能では未分化 B 細胞から IgM を発現し、IgG への産生能が高められた。従って、免疫担当細胞のうちリンパ球数ならびにマクロファージ活性が増強され、これからサイトカインの IFN- $\gamma$  や TNF- $\alpha$  等のサイトカインの放出、ヘルパー

T細胞の活性化, キラー T細胞を活性化, B細胞の抗体産生の促進へと免疫賦活効果が考えられて, ABP

の2種固形癌を介した免疫機能の増強によって, 明らかに腫瘍増殖抑制効果が発揮されたものと思われる。