短 報

犬乳腺腫瘍の外科手術における
 $\alpha 1$ -acid glycoprotein ($\alpha 1$ AG) の動態

中田陽子, 船木ひかる*, 田中茂男*,
小坂俊文, 桑原正人, 小出英興

Changes in Serum $\alpha 1$ -Acid Glycoprotein ($\alpha 1$ AG) Concentration
in Dogs with Mammary Tumors following Surgery.

Youko NAKADA, Hikaru FUNAKI*, Shigeo TANAKA*,
Toshifumi KOSAKA, Masato KUWABARA and Fusaoki KOIDE

(平成7年1月9日受付/平成8年3月10日受理)

SUMMARY

Changes in serum $\alpha 1$ -acid glycoprotein ($\alpha 1$ AG) levels in dogs with mammary tumors during perioperation period was investigated. The $\alpha 1$ AG concentration showed higher levels in dogs with malignant tumors than in those with benign tumors before surgery. In most cases of both groups, it increased in 2 days after operation and returned to the pre-operation level within 14 days after operation. However, in cases with advanced stages and poor prognosis, $\alpha 1$ AG levels remained higher on the 14th day. These results suggest that the $\alpha 1$ AG concentration in dogs may be an indicator of the stage of mammary tumor, the possibility of recurrence and poor prognosis.

key words: $\alpha 1$ -acid glycoprotein ($\alpha 1$ AG), mammary tumor (乳腺腫瘍), surgery (外科手術).

は じ め に

近年, 獣医学の進歩に伴い, 犬猫の平均寿命が延長し, それに伴い腫瘍症例の増加がめだつよう

日本大学農獣医学部獣医放射線学研究室・獣医外科学研究室* (〒252 神奈川県藤沢市亀井野 1866)

Department of Veterinary Radiology and Surgery*, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa 252, Japan.

になってきた。現在, その一般的な治療法としては外科的手術が大半を占めている。しかし, 手術などの外科的侵襲時や悪性腫瘍などの疾患時に免疫抑制状態になることが広く知られており, この一つの要因として血清中の免疫抑制酸性蛋白質 (immunosuppressive acid protein: IAP) が増量することが報告されている^{3, 5, 9, 10, 18)}。このIAPの一つとして $\alpha 1$ 酸性糖蛋白質 ($\alpha 1$ -acid glycoprotein: $\alpha 1$ AG) がある。現在, 各種動物に

において外傷、手術侵襲、炎症、化膿性疾患、悪性腫瘍などの情報マーカーとして注目されている血清 $\alpha 1\text{AG}$ は分子量 41,000, 等電点 3.0~3.4, 糖含量 40.9% の物質で、免疫抑制酸性糖蛋白質であると同時に種々の感染、炎症、組織損傷あるいは悪性腫瘍が存在する際の急性期に反応し、血中に増加する急性反応物質の一つでもある^{1, 2, 4, 7, 12, 13, 18)}。

外科的侵襲に対しての初期の主体防御の主体をなしているのは細胞性免疫である。一般に血清中の蛋白成分が種々の病的条件によって変動し、細胞性免疫機能に種々な影響を与えることが知られている^{1, 4, 8, 11, 15)}。免疫抑制状態となっている腫瘍症例において、この血清中の $\alpha 1\text{AG}$ の変動を観察することは、腫瘍摘出後の経過観察および予後を判定する上で有用であると考えられる^{5, 6, 17)}。

本研究では、犬の乳腺腫瘍における腫瘍摘出術前後の $\alpha 1\text{AG}$ 値の変動を観察し、腫瘍の進行度との関連性を検討した。

材料と方法

症例および実験動物：

日本大学家畜病院に 1992 年 4 月~1993 年 7 月に来院した乳腺腫瘍の犬 28 例（病理学的診断による良性 7 例、悪性 21 例:10.8±0.7 歳）を本研究の対象とした。また、乳腺腫瘍症例の対象として臨床におおむね健康な体重 10kg 前後の成犬 6 頭（6.3±1.4 歳）に対して乳腺切除術を行った。

乳腺腫瘍の分類：

乳腺腫瘍の症例 28 例のうち病理組織学的に良性と診断された 7 例全頭が良性混合乳腺腫瘍 (benign mixed mammary tumor), 悪性と診断された 21 例のうち 19 例が腺癌 (adenocarcinoma) 1 例が悪性混合性乳腺腫瘍 (malignant mixed mammary tumor), 1 例が扁平上皮癌 (squamous cell carcinoma) であった。病理組織学的に悪性と診断された症例に対しては、TNM 分類 (WHO, 1980) に基づき¹⁴⁾、臨床ステージの分類を行ったところ、ステージ I が 11 例（生存例）II が 4 例（生存例:3 例、再発・死亡例:1 例）、III が 5 例（再発・死亡例）、IV が 1 例（再発・死

亡例）であった。腫瘍の状態は発赤を示していたものが 5 例（生存例:1 例、再発・死亡例:4 例）、自潰していたものが 1 例（再発・死亡例）、局所のリンパ節浸潤を示していたものが 5 例（生存例:1 例、再発・死亡例:4 例）、遠隔転移を示していたもの 1 例（再発・死亡例）であった。

麻酔および手術：

麻酔は前処置として、硫酸アトロピン（田辺製薬、大阪）0.04mg/kg を皮下注射し、10 分後、アセプロマジン（Aveco Co., Inc.）0.05mg/kg を筋肉注射し、塩酸ケタミン（三共製薬、東京）5mg/kg を静脈注射で導入後、セボフルレン（丸石製薬、東京）の吸入麻酔下で手術を実施した。手術後の病理組織学的検査により悪性腫瘍と診断された犬のうち 9 例には完全片側乳腺摘出術を、6 例には 2 ヶ所の部分乳腺摘出術を、6 例には 1 ヶ所の部分乳腺摘出術を実施した。良性と診断された乳腺腫瘍犬には 1~3 ヶ所の部分乳腺摘出術を実施した。1 例を除いた全症例において術創は順調に治癒し、術後 2 週間目に抜糸した。

対照の乳腺切除群に関しては乳腺腫瘍症例で最も腫瘍の発生が多かった片側の第 4 および第 5 乳腺を切除した。

血清 $\alpha 1\text{AG}$ 濃度の測定：

採血は手術直前、直後、術後 2~14 日目に橈側皮膚静脈より行った。血液は 600g で 15 分間遠心し、血清を回収し、56℃ 30 分間非働化した後に $\alpha 1\text{AG}$ 測定試料とした。 $\alpha 1\text{AG}$ の定量は、一元放射免疫拡散法によるイヌ $\alpha 1\text{AG}$ プレート（細菌化学研究所、仙台）を用いた。測定は、各検体の血清 5 μl をプレートの小穴に注入し、37℃ 48 時間反応させた後、出現した沈降リングの直径を計測し、 $\alpha 1\text{AG}$ の基準液で作成した検量線から血清中の $\alpha 1\text{AG}$ 濃度を算出した。

統計処理法：

各群における $\alpha 1\text{AG}$ 濃度およびその変動はそれぞれの平均値と標準誤差 (S.E.) を求めて示した。それぞれの差の検定は、まず、二標本間の母集団の同一性について分散分析を行った後に、Student's *t*-test, Cochran Cox test または Equal *t*-test を行った。また、各群間に有意差

(有意水準5%) が認められた場合にはグラフ中に※を, 群内で術前値に対する有意差が認められた場合にはグラフ中に★を表示した。

成 績

腫瘍症例と正常犬の α 1AG 濃度の比較:

乳腺腫瘍症例を病理組織学的に良性と悪性に分類し, それぞれと対照群との術前の血清 α 1AG 濃度を比較したところ, 対照群および良性腫瘍ではそれぞれ $288 \pm 66 \mu\text{g/ml}$, $277 \pm 70 \mu\text{g/ml}$ と有意

な差は認められなかった。しかし, 悪性腫瘍では $573 \pm 107 \mu\text{g/ml}$ と対照群および良性腫瘍群と比較し, 明らかに高値を示した ($p < 0.05$) (Fig.1)。

正常犬の乳腺切除術に対する血清 α 1AG 濃度の変動:

正常犬に乳腺切除術を施し, 血清 α 1AG 濃度を経日的に観察したところ, 術後2日目に上昇し ($p < 0.05$), 14日目には術前値へと回復した (Fig. 1)。

乳腺腫瘍における腫瘍摘出後の血清 α 1AG 濃

Fig.1 Changes in serum α 1AG concentration in dogs with mammary tumors after surgical resection. The Student's t -test or equal t -test was used to determine the significant difference between the two groups.

※ $p < 0.05$ compared to control and benign mammary tumor groups

★ $p < 0.05$ compared to pre-operation value in control group

■: Control group (normal dogs)

○: Mammary tumor (benign) group

●: Mammary tumor (malignant) group

Fig.2 Changes in serum $\alpha 1\text{AG}$ concentration in dogs with mammary tumors after surgical resection. The Cochran Cox test was used to determine the significant difference between the survival and recurrence • death groups.

※※ $p < 0.01$ compared to survival and control groups

★ $p < 0.05$ compared to pre-operation value in control group

■: Control group (normal dogs)

○: Survival group

●: Recurrence • Death group

度の変動：

乳腺腫瘍の良性和悪性のそれぞれの血清 $\alpha 1\text{AG}$ 濃度の推移を比較したところ、良性では血清 $\alpha 1\text{AG}$ 濃度の変動は術前値に比較し有意な差は認められず、正常範囲内¹⁵⁾で推移した。一方、悪性では術前から高値を示し、手術直後に一時的に低下し、術前値と比較し有意差は認められないものの2日目に上昇傾向を示した後、低下した (Fig. 1)。

悪性乳腺腫瘍摘出後の生存例と再発・死亡例における血清 $\alpha 1\text{AG}$ 濃度の変動：

悪性乳腺腫瘍症例をさらに術後1ヵ月以内に再発または死亡した症例7例 (再発・死亡群) と前述以外の症例14例 (生存群) に分類し、術後の $\alpha 1\text{AG}$ 濃度の変動を比較した。生存群では術前値は $337 \pm 46 \mu\text{g/ml}$ と正常範囲内の値を示していたが、再発・死亡群では $1046 \pm 221 \mu\text{g/ml}$ と著しく高値を示していた ($p < 0.01$)。また、術後の $\alpha 1\text{AG}$

値は生存群では良性腫瘍と同様に正常範囲内の変動であったが、再発・死亡群では14日においても正常範囲内への回復は見られなかった (Fig.2)。

考 察

一般に、血清中の蛋白成分は細胞性免疫機能とともに感染症、外科侵襲、悪性腫瘍などの種々の病的条件によって変動することが知られている^{3, 5, 9, 10, 18)}。この蛋白成分の変動は、生体への何らかの侵襲、損傷に対する炎症を惹起させるものであると同時に免疫系などへの情報伝達も行^{3, 9, 10, 18)}。この蛋白成分の一つである血清 $\alpha 1$ AG は、侵襲時に血中において反応性に増加する急性反応物質で、好中球の貪食を低下させたり、リンパ球の幼若化を抑制するなど、生体に対して免疫抑制作用を示すことが数多く報告されている^{1, 2, 4, 7, 12, 13, 18)}。

本研究ではIAPのひとつとして考えられている血清 $\alpha 1$ AG について、犬の乳腺腫瘍を対象に腫瘍摘出術前後の変動について調べた。

病理組織学的に良性腫瘍と診断された症例における手術前の血清 $\alpha 1$ AG 濃度は、正常範囲の上限である $500\mu\text{g/ml}$ 以下を示し、術後の変動も対照群より少なく、正常範囲内を推移した。これは、良性腫瘍についてはほとんどの症例において、腫瘍自体が小さく、その摘出範囲も少なかったためと考えられる。腫瘍症例であっても良性腫瘍なら血清 $\alpha 1$ AG 濃度も正常範囲内であると述べている高瀬らの報告と同様であった¹⁶⁾。また、術後2日目の一過性の上昇については、対照群および腫瘍症例に共通して観察されることから、外科的侵襲に対する反応であると考えられる。今回、結果は示さなかったが、胃切開術を施した正常犬の血清は $\alpha 1$ AG 濃度の変動については、今回の結果と同様に術後2日目に最高値を示し、14日目にはほぼ術前値へと戻った。しかし、2日目の血清 $\alpha 1$ AG 濃度は胃切開術を施した犬の方が高値を示していたため、手術侵襲が大きいほど血清 $\alpha 1$ AG 濃度が上昇することが推察される。

一方、病理組織学的に悪性腫瘍と診断された症例では、手術前から正常範囲以上の値を示してい

た。しかし、さらにこれらの症例を術後1ヵ月以内に再発・死亡した症例(再発・死亡群)と生存している症例(生存群)に分けて検討したところ、再発・死亡群では、血清 $\alpha 1$ AG 濃度は $1046 \pm 221\mu\text{g/ml}$ と術前から著しい高値を示していたが、生存群では $337 \pm 44\mu\text{g/ml}$ と正常範囲内の値であった。腫瘍の病理組織型については再発・死亡群と生存群それぞれにおいて一様の傾向はみられず、両群間の差は認められなかった。再発・死亡群では臨床ステージが比較的進行していたり、発赤・自潰等の炎症を伴っていた症例が多くあった。生存群では大部分の症例が臨床ステージIで発赤を伴っているものはわずか1例にすぎなかった。また、生存群では悪性腫瘍摘出後14日目には血清 $\alpha 1$ AG 濃度が正常範囲内にまで戻っていたが、再発・死亡群では術後14日目においても血清 $\alpha 1$ AG 濃度の低下は観察されないため、 $\alpha 1$ AG 濃度が腫瘍症例における術後の予後判定に有用ではないかと思われる。田村・佐藤ら¹⁷⁾は人において癌の進行度とIAP値とは、正の相関を示すと述べており、犬においても人と同様に血清 $\alpha 1$ AG 濃度が腫瘍の進行度に依存していることが示唆された。また、リンパ球幼若化反応とIAP値とは負の相関を示し、経過観察において術後1～2週間目のIAP値の一過性の上昇は手術侵襲による免疫能の低下を示す、とも報告されている¹⁷⁾。このことから、犬においても血清 $\alpha 1$ AG 濃度が著明に上昇している場合には細胞性免疫機能の低下が起こっていることが予測される。

このように、乳腺腫瘍症例における血清 $\alpha 1$ AG 濃度の測定は犬においても人と同様に腫瘍の進行度などに深い関わりを持っており、この血清 $\alpha 1$ AG 濃度の術前値および術後の推移を観察することは、特に乳腺腫瘍症例の手術後における免疫機能の病態の推移を把握する上で有用であることが示唆された。今後、さらに症例を重ね検討して行きたいと考える。

しかし、 $\alpha 1$ AG などのIAPは、腫瘍のみならず感染症などにおいても高値を示すため、腫瘍に対して特異的なものではない^{7, 17)}。今回も自潰等の炎症を伴った腫瘍の症例は高い $\alpha 1$ AG 値を示

す傾向にあった。このように IAP 値の上昇が認められた場合、腫瘍そのものの炎症の有無・状態とともに他の炎症性疾患の併発なども推測できるものと思われる。

要 約

乳腺腫瘍の犬における腫瘍摘出術前後の血清 $\alpha 1$ -acid glycoprotein ($\alpha 1$ AG) 濃度の動態について検討した。

その結果、血清 $\alpha 1$ AG 濃度は悪性腫瘍症例で高値を示した。また良性・悪性腫瘍症例とも手術により血清 $\alpha 1$ AG 濃度は術後 2 日目に上昇するものの 14 日目には術前値に戻った。しかし、悪性腫瘍症例のうち術後再発・死亡した例では 14 日目においても血清 $\alpha 1$ AG 濃度は高値を維持する傾向を示した。

以上のことから、犬において血清 $\alpha 1$ AG 濃度は腫瘍の進行後、術後の経過観察および予後の診断に有用であることが示唆された。

文 献

- 1) Belpair, F.M., Derick, A., Dello, G., Fraeyman, N. and Bogaert, M.G. (1987): $\alpha 1$ -acid glycoprotein and serum binding of drugs in healthy and diseased dogs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 10: 43-48.
- 2) Chiu, K.M., Mortensen, R.F., Osmand, A.P. and Gewurz, H. (1977): Interactions of $\alpha 1$ -acid glycoprotein with the immune system. I. Purification and effects upon lymphocyte responsiveness. *Immunology* 32: 997-1005.
- 3) Currie, G.A. and Basham, C. (1972): Serum mediated inhibition of the patient to his own tumor: A possible role for circulating antigen. *Br. J. Cancer* 26: 427-437.
- 4) Delle, C.P., Belapaire, F.M., Derick, A. and Fraeyman, N. H. (1988): Influence of inflammation on serum concentration, molecular heterogeneity and drug binding properties of canine $\alpha 1$ -acid glycoprotein. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 11: 71-76.
- 5) 藤瀬 浩 (1992): 家畜の急性相蛋白の臨床診断指標としての有用性. *日獣会誌* 45: 731-737.
- 6) 石田名香雄, 田村啓二, 柴田芳実 (1980): 免疫抑制酸性蛋白の性状と癌患者における検出意義. *医学のあゆみ* 115: 423-433.
- 7) 伊藤 博, 元井菫子, 田村啓二, 村田英雄, 千葉 伝, 武田 哲 (1989): 牛白血病における血清 $\alpha 1$ AG 酸性糖蛋白とそのリンパ球幼若化反応に対する影響. *日獣会誌* 42: 39-43.
- 8) Kamo, I. and Friedman, H. (1977): Immunosuppression and the role of suppressive factors in cancer. *Adr. Cancer Res.* 25: 271-321.
- 9) 松田好史, 田村啓二, 北目文郎, 石田名香雄 (1987): 癌患者血清中に存在する免疫抑制酸性蛋白 (IAP) の性状と免疫抑制活性. *医学の歩み* 105: 154-157.
- 10) Nimberg, R.B., Glasgrow, A.h., Menzoian, J.O., Constantin, M.B., Cooperband, S.R., Mannick, J.A. and Schmid, K. (1975): Isolation an immunosuppressive peptide fraction from the serum of cancer patients. *Cancer Res.* 35: 1489-492.
- 11) Ono, y., Kamo, I. and Ishida, N. (1974): Mechanims for immunosuppression in tumor-bearing host. *Gann Monograh on Cancer Res.* 16: 37-44.
- 12) Rudman, D., Chawla, R.K., Del Rio, A.W., Hollins, B.M., Hall, E.C. and Conn, J.M. (1974): Orosomucoid content of pleural and peritoneal effusions. *J. Clin. Invest.* 54: 145-155.
- 13) Schmid, K. (1964): Sialic acid-deficint $\alpha 1$ -acid glycoprotein produced in certain pathological states. *Nature* 204: 75-76.
- 14) 信田卓男 (1992): 小動物・腫瘍治療シリーズ 2. 犬の乳腺腫瘍. *獣医畜産新報* 45(6):

420-423.

- 15) 添崎一郎, 石谷邦彦 (1980): 腫瘍免疫と抑制因子. 癌と化学療法 7:1096-1104.
- 16) 高瀬勝悟, 角田知子, 日笠喜朗 (1990): 犬の各種疾患における血清 α 1 - acid glycoprotein の動態. 第 109 回日本獣医学

会:252.

- 17) 田村啓二, 佐藤豊二 (1989): IAP 臨床検査 33:1342-1345.
- 18) 田村啓二, 柴田芳実, 石田名香雄 (1981): 免疫抑制酸性蛋白. 第 5 回阿蘇シンポジウム:57-71.