

## P-137 GS-Xポンプを介するシスプラチン耐性と細胞内グルタチオンの関連

国立がんセンター研究所薬効試験部

○黒川博一、西尾和人、石田智之、有岡 仁、福本久郎、福岡和也、野本泰介、友成 章、横手秀行、岩本康男、鈴木俊宏、平家勇司、西條長宏

【目的と方法】 ATP依存性グルタチオン(GSH)結合体排出ポンプ(GS-Xポンプ)による GS-プラチナ結合体の排出亢進が、シスプラチン耐性の一因であると考えられている。我々はシスプラチン耐性とGS-Xポンプおよび細胞内GSHの関連を明らかにするため、ヒト小細胞肺癌細胞株SBC-3にGSH合成律速酵素、 $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase( $\gamma$ -GCS)の遺伝子を導入し(SBC-3/GCS)、GS-Xポンプの活性とシスプラチンに対する感受性の変化を検討した。

【結果と考察】 SBC-3/GCSは親株に比較してMTT法にて約7倍のシスプラチン耐性を示し、細胞内GSH含有量が約2倍、細胞膜ベジクルのleukotriene C<sub>4</sub>(LTC<sub>4</sub>)取り込みで評価したGS-Xポンプ活性が約1.5倍に上昇、シスプラチン接触後の細胞内プラチナ蓄積量が有意に低下していた。 $\gamma$ -GCSの阻害剤であるbuthionine sulfoximine(BSO)存在下では、SBC-3/GCSの細胞内GSHが親株以下に低下するもののシスプラチンに対する耐性は残存し、BSO非存在時と同様にGS-Xポンプ活性上昇と細胞内プラチナ蓄積量低下を認めた。以上から、SBC-3/GCSのシスプラチン耐性機序ではGSH上昇のみならず、GS-Xポンプによる排出亢進を介する細胞内蓄積量の低下が重要と考えられる。

## P-139 肺癌細胞株に対する健常人末梢血単核球からの特異的細胞障害性Tリンパ球の誘導

産業医科大学・第2外科

○藤江宏、吉野一郎、竹之山光広、今林悟、栄福亮三、吉松隆、花桐武志、安元公正

【目的】 特異的養免疫療法を念頭におき、健常人末梢血から肺腺癌細胞株PC9に対する特異的細胞障害性Tリンパ球(CTL)の誘導を試みた。

【方法及び結果】 PC9とHLA A-Locus (A2/A24) が一致した健常人末梢血リンパ球を、固相化抗CD3抗体で48時間刺激後、IL-2 50U/ml存在下にて2週間培養を行なうことで、リンパ球を25~100倍に増殖した。さらにこのリンパ球をPC9で2回(1回/週)刺激することにより、PC9に対する特異的な傷害活性が誘導され、この活性は、腫瘍刺激時のIL-12添加により増強された。また、この細胞障害活性は抗HLA class I 抗体により部分的に抑制されたが、抗HLA class II 抗体では抑制されなかった。抗HLA class I 抗体で抑制されない活性については現在解析中である。

【結論】 固相化抗CD3抗体とIL-2を用いること大量培養したリンパ球をPC9で刺激することで、HLA class I 拘束性の特異的CTLが誘導された。

## P-138 肺癌細胞株におけるLung Resistance-related Protein (LRP) の発現

長崎大学第二内科<sup>1</sup>、長崎市立市民病院<sup>2</sup>

○植崎史彦<sup>1</sup>、中野令伊司<sup>1</sup>、高谷 洋<sup>2</sup>、寺師健二<sup>1</sup>、福田 実<sup>1</sup>、岡 三喜男<sup>1</sup>、河野 茂<sup>1</sup>

【目的】 LRPは抗癌剤耐性に関与するといわれる110kDaの蛋白で、その発現は子宮癌やAMLにおいて予後因子となることが報告されている。一方、最近になって核一細胞質間の輸送に関連しているとされるmajor vault protein とこのLRPが同一であることが判明している。今回我々は、肺癌細胞株におけるLRPの発現と薬剤耐性との関連を検討し報告する。

【方法】 12種のヒト由来の肺癌細胞株よりtotal RNAを抽出し、LRP mRNAの発現を、陽性コントロールのヒトfibrosarcoma 細胞株HT1080との比較によって半定量した。また、各細胞株の抗癌剤感受性をMTT assay にて検討した。

【結果】 RT-PCRの結果、肺癌細胞株ではほとんどの細胞でLRPの発現が見られた。このことから、肺癌の薬剤耐性にLRPの関与が考えられた。抗癌剤耐性とLRPとの関係については現在検討中である。

## P-140 原発性肺癌におけるストレス蛋白の発現 HSP40とHSP70の比較

長崎市立成人病センター<sup>1</sup>、長崎大学第2内科<sup>2</sup>

○坂本 晃<sup>1</sup>、藤野 了<sup>1</sup>、高谷 洋<sup>2</sup>、福田 実<sup>2</sup>、寺師健二<sup>2</sup>、岡三喜男<sup>2</sup>、河野 茂<sup>2</sup>

【目的】 Heat shock protein(HSP40およびHSP70)は分子量約40, 70kDのストレス蛋白で、蛋白修復に働くと考えられている。一方、一部の抗癌剤耐性細胞株で、その親株に比べHSP40ならびにHSP70が高発現しており、直接的あるいは間接的に耐性との関連が考えられる。今回、原発性肺癌手術症例におけるHSP40ならびにHSP70の発現を、免疫組織学的に検討したので報告する。

【対象、方法】 非小細胞肺癌67例、(術前化学療法有14例、化学療法無53例)、小細胞肺癌24例(術前化学療法有16例、化学療法無8例)に対して、抗HSP40抗体、抗HSP70抗体を用いて、免疫染色を施行した。

【結果】 HSp40は、非小細胞癌67例中、41例(61.2%)に、小細胞癌24例中、4例(16%)に陽性であった。術前化学療法有群では非小細胞癌は57.1%に、小細胞癌は18.8%に陽性であった。HSP70は、非小細胞癌67例中、56例(83.6%)、小細胞癌24例中、10例(41.7%)に陽性であり、術前化学療法有群では非小細胞癌は71.4%に、小細胞癌は37.5%に陽性であった。また、HSp40とHSP70の染色態度は、特に扁平上皮癌において関連が認められた。

【考察】 HSP40ならびにHSP70の発現は非小細胞肺癌が高く、その発現には組織特異性が考えられたが、化学療法による発現誘導は認められなかった。HSP40ならびにHSP70は肺癌細胞における共発現の可能性が示唆された。