

## B-49 シスプラチン耐性肺癌細胞特異的にみられる核蛋白質の性状

国立がんセンター研究所 薬効試験部

○竹田雄一郎、西尾和人、杉本芳一、大森亨、森蔭俊彦、藤原康弘、西條長宏

我々は昨年シスプラチン耐性ヒト肺癌細胞 PC-9/CDDP に特異的にみられる核リン酸化蛋白質を報告した。その蛋白質にの性状機能について検討を加えた。

PC-9/CDDP 細胞でみられ、その親株(PC-9)で認められない核リン酸化蛋白質は32kD及び20kDの分子量をもち、両蛋白質はCoomassie及び銀染色法では同定できない minor protein と考えられた。2次元電気泳動において32kDの蛋白質のpIは約4.5であった。これら2つの核蛋白質のリン酸化レベルは12hのシスプラチンとの接触により濃度依存性に増加した。しかしシスプラチン自体にキナーゼ活性は認められず、その蛋白質の増加は蛋白質量の増加によるものと考えられた。またプロテインホスファターゼ阻害剤の投与により20kDの蛋白質のリン酸化は時間依存性に増強され、この蛋白質はホスファターゼの基質であると考えられた。これらの結果よりこれらの核リン酸化蛋白質はシスプラチンの細胞毒性及び耐性機構に関わる可能性があると考えられた。

## B-51 RT-PCR法による肺癌のMDR1遺伝子 mRNA発現の検討

岡山大学第1外科

○中島 明、岡林孝弘、川真田 修、井上文之、上川康明、平川恵一、福本和生、大山正史、中谷 紳、折田薫三

肺癌症例を対象に、抗癌剤に対する耐性に関与している多剤耐性遺伝子MDR1mRNAの発現をRT-PCR法を用いて検索した。

対象と方法：対象は、非小細胞肺癌切除例19例（腺癌12例、扁平上皮癌4例、大細胞癌3例）で、副腎を陽性コントロールとした。方法は、新鮮組織よりGTC-CsCl1法にて全RNAを抽出し、逆転写酵素を用いてcDNAとし、PCR法によりMDR1の21エクソンと22エクソンにまたがる領域157bpの増幅を行った。電気泳動後エチジウムブロマイド(EtBr)染色にて増幅の有無を判定し、ドットプロットにて産物量を定量した。

結果：副腎では、EtBr染色にて157bpのバンドが認められ、ドットプロットでも強陽性を示した。肺癌症例では、EtBr染色にて約40%の症例に淡くバンドが認められた。一方、ドットプロットではEtBr染色でバンドが認められなかった症例においても、ほぼ全例に弱いながら増幅産物が検出された。MDR1の発現が強いといわれる大腸癌症例では、RT-PCR法により全例、肺癌症例よりも明らかに強い発現を認めた。また、組織型、臨床病期とPCR産物量との関係は認められなかった。

## B-50 ヒト肺癌における多剤耐性遺伝子MDR1の発現

長崎大学第二内科<sup>1</sup>、長崎市立市民病院内科<sup>2</sup>、佐世保市立総合病院内科<sup>3</sup>

○広瀬清人<sup>1</sup>、岡 三喜男<sup>1</sup>、坂本 晃<sup>1</sup>、原 耕平<sup>1</sup>、福田正明<sup>2</sup>、中野正心<sup>2</sup>、荒木 潤<sup>3</sup>、浅井貞宏<sup>3</sup>

【目的】MDR1は抗癌剤多剤耐性形質を担う遺伝子であり、エネルギー依存性薬剤排出ポンプとして働くP糖蛋白質をコードしている。今回、ヒト肺癌の薬剤耐性におけるMDR1遺伝子の意義を検討する。

【対象と方法】当院または関連施設にて、外科的に切除された原発性肺癌55例（腺癌31例、扁平上皮癌20例、大細胞癌2例、小細胞癌2例）を用い、ヒト肺癌のMDR1 mRNAの発現を解析した。方法は、新鮮手術標本から Guanidine thiocyanate/CsCl法により全RNAを抽出し、MDR1 cDNAの下流域2.2kbをプローブとして、ドットプロット法で解析した。陽性コントロールとして多剤耐性細胞株KB 8-5、陰性コントロールとして薬剤感受性細胞株KB 3-1を用いた。

【結果】現在までの検討では、程度の差はみられるものの、55例中14例（腺癌8例、扁平上皮癌3例、大細胞癌2例、小細胞癌1例）でMDR1 mRNAの発現が陽性であった。その内2例（腺癌1例、扁平上皮癌1例）では、KB 8-5と同等あるいはそれ以上のレベルの発現がみられた。今後、さらに症例を増すと同時に、臨床データとの解析を加え報告する。

## B-52 原発性肺癌化学療法施行例における多剤耐性遺伝子産物(P-glycoprotein)の発現

日本医科大学呼吸器科

○久勝章司、弦間昭彦、谷口泰之、仁井谷久暢

【目的】近年多剤耐性遺伝子が発見され、その遺伝子産物P-glycoprotein(P-gp)は、抗癌剤を細胞外へくみ出すポンプ機能を有し、耐性のメカニズムの一つとして注目されている。また臨床的にも、白血病、乳癌、肉腫の化学療法耐性例にその発現が報告されている。今回我々は、前回に引き続き、原発性肺癌、特に化学療法施行例におけるP-gpの発現と臨床データを検討した。

【対象と方法】当院呼吸器科で1988年から1991年までに入院加療され、病理解剖をうけた46例を対象とした。組織型の内訳は小細胞癌7例、扁平上皮癌9例、腺癌25例、大細胞癌5例であった。対象症例の凍結標本をP-gpの抗体mdr(Ab-1)及びMRK-16を用いてABC法で免疫染色し、その染色性により陰性、疑陽性、陽性と3段階に評価した。【結果】mdr(Ab-1)とMRK-16の両抗体の染色性に相関を認めた。最終化学療法の効果とこれらの抗体の染色性の関係を検討すると、最終治療のnon-responderはresponderに比し、有意に陽性率が高かった。原発巣と転移巣の染色性を検討すると、ほぼ同じ染色性を示した。小細胞癌の一例は原発巣陽性、肝転移巣陰性で、明かに異なる染色性であった。臨床データとともに報告する。【結論】P-gpは原発性肺癌における抗癌剤耐性に関与し、これらの抗体を使用した免疫組織化学が肺癌の化学療法に応用される可能性がある。