

C-61 他臓器癌と比較した肺癌のMRP

長崎大学第二内科¹、国療長崎病院内科²

○岡 三喜男¹、榑崎史彦¹、中野 令伊司¹、
福田 実¹、早田 宏^{1,2}、原 耕平¹

【目的】Multidrug Resistance-associated Protein (MRP) は、ATPエネルギー依存性の薬剤排出ポンプである。多剤耐性を示す一部の薬剤選択癌細胞や自然耐性株に高発現し、肺では気管支上皮に多く発現している。今回、培養肺癌細胞株と臨床検体でのMRPの発現を他臓器癌と比較して、その発現の意義を検討する。

【方法】RT-PCR法で細胞株と臨床検体のMRP mRNAを検出し、我々が樹立したMRP高発現多剤耐性株HL60Rを対照(100)として、その発現レベルをG3PDHで補正し定量した。発現レベルは低発現 ≤ 30 、 $30 <$ 中等度 < 70 、 $70 \leq$ 高発現と定義した。また、胃・大腸癌と比較した。

【結果】全ての小細胞肺癌株はMRP低発現、非小細胞肺癌株では低～高発現を示した。また、mdr1は全株低発現であった。胃癌株は非小細胞肺癌株と同じ発現形式を示し、大腸癌株はMRPとmdr1の共発現であった。非小細胞肺癌を含めた未治療の臨床検体は、各々の培養株のMRPとmdr1の発現様式を反映していた。一方、既治療小細胞癌のMRPは全て中～高発現であり、一部にmdr1の高い共発現を認めた。

【結論】MRPの発現様式はmdr1と同様に組織特異性を示し、一部の未治療非小細胞肺癌の自然耐性に関与していると考えられる。しかし、小細胞肺癌の獲得耐性には、MRPとmdr1の両者の関与が示唆される。

C-63 薬剤耐性肺癌細胞の膜抗原ICAM-1・LFA-3の発現と活性化リンパ球感受性の増強

徳島大学第2外科

○高橋敬治、松森保道、環 正文、三好孝典、近藤和也、宇山 正、門田康正

【目的】我々は薬剤耐性肺癌細胞は薬剤感受性肺癌細胞よりも高率にICAM-1・LFA-3を発現しており、活性化リンパ球に対する感受性がこれに伴い増強することを報告した。今回、抗ICAM-1抗体・抗LFA-3抗体を用いたinhibition testにて感受性の変化を測定したので報告する。【材料と方法】リンパ球に対する感受性は4時間⁵¹Crリリースアッセイにて測定した。肺小細胞癌細胞株N417(wild type)・N417のCCDP耐性細胞株(CD-5)・VP-16耐性細胞株(VP-4)・LAK細胞の指標であるDaudi細胞を標的細胞とした。活性化リンパ球は健常人末梢血から作成した。inhibition testは抗ICAM-1抗体であるIOL54と抗LFA-3抗体であるIOL58を用いて行った。

【結果】1. wild typeはICAM-1・LFA-3をほとんど発現しておらず、リンパ球に対して感受性を示さなかった。2. CD-5の活性化リンパ球に対する感受性は抗ICAM-1抗体・抗LFA-3抗体にてそれぞれ48%・95%低下した。3. VP-4はそれぞれ16%・31%低下した。4. 抗ICAM-1抗体・抗LFA-3抗体に相加、相乗効果は認められなかった。5. Daudi細胞の感受性は抗ICAM-1抗体・抗LFA-3抗体にて低下しなかった。【考察】薬剤耐性細胞株はLAK細胞感受性とは異なるICAM-1・LFA-3を介した活性化リンパ球感受性を発現した。以上より、薬剤耐性となった肺癌患者における免疫療法の可能性が示唆された。

C-62 シスプラチン耐性肺癌細胞におけるGS-Xポンプ

国立がんセンター研・薬効試験¹、秋田大・二内²

○黒川博一^{1,2}、西尾和人¹、石田智之¹、有岡 仁¹、福本久郎¹、野本泰介¹、福岡和也¹、三浦 博²、西條長宏¹

【目的】ATP依存性のglutathione S-conjugate drug export pump (GS-X pump, T. Ishikawa J. Biol. Chem. 268, 20116, 1993)の過剰発現によるシスプラチンの細胞内蓄積量低下が、シスプラチン耐性の一因であることが示唆されている。我々はシスプラチン耐性細胞の細胞膜におけるGS-Xポンプの発現と機能を検討した。

【方法】ヒト非小細胞肺癌細胞株PC-14と同株より樹立したシスプラチン耐性株PC-14/CDDPを用いIshikawaらの方法に準じてmembrane vesicleを分離、GS-Xポンプの基質の一つであるleukotriene C₄ (LTC₄)の取り込みを比較した。【結果】PC-14/CDDP由来のmembrane vesicleによるLTC₄の取り込みはATP存在下で親株PC-14の約5倍に亢進しており、GS-CDDP(100 μ M)やleukotriene受容体拮抗薬ONO-1078(10 μ M)で著明に抑制された。PC-14とPC-14/CDDPにおけるMRPのm-RNA発現には有意の差を認めなかった(RT-PCR法)。我々はglutathione生成の律速酵素である γ -glutamylcysteine synthetaseの遺伝子導入細胞を作製し、シスプラチン感受性やGS-Xポンプに対する影響につき検討中である。

C-64 Paclitaxelの微小管関連蛋白質およびMitogen activated protein kinaseに対する作用の検討

国立がんセンター研究所薬効試験部

○福岡和也、西尾和人、有岡 仁、石田智之、黒川博一、福本久郎、野本泰介、西條長宏

肺癌化学療法でその効果が期待されているPaclitaxelの抗腫瘍作用は細胞分裂中期における微小管構築に関わるチュープリンの重合の促進および脱重合阻害によると考えられている。一方、微小管関連蛋白質はチュープリンの重合を促進し、微小管構築に重要な役割を果たしている。Paclitaxelの抗腫瘍作用の増強および他の抗癌剤との併用を模索する為に、微小管構築に関わる因子に対するPaclitaxelの効果を検討した。同調したヒト肺腺癌細胞株PC-14およびPC-9のチュープリンと微小管関連蛋白質の親和性を免疫沈降法により検討した。微小管関連蛋白質の主要な構成蛋白質であるMAP2(microtubulus associated protein)は α -および β -チュープリンとの免疫沈降により共沈され、Paclitaxelを短時間接触した細胞で濃度依存的に増強された。MAP2とチュープリンとの親和性はPaclitaxelとの接触で増強され、これはG2からM期にかけての細胞で著明であった。MAP2はMAPキナーゼ(Mitogen activated protein kinase, MAP2キナーゼ)によりリン酸化され、その機能が調節されている。Paclitaxelを接触した同調肺癌細胞のMAPキナーゼ活性をmyelin basic proteinを基質としたゲル内リン酸化法で測定した結果、分子量約42-44 kDのMAPキナーゼ活性が抑制されていた。微小管関連蛋白質を含むチュープリン分画を用いた検討からはPaclitaxelのMAPキナーゼに対する直接作用は否定的であった。MAP2をリン酸化すると推察されるcdc2キナーゼ活性もPaclitaxelによって抑制された。以上より、PaclitaxelはMAPキナーゼもしくはcdc2キナーゼ活性を間接的に抑制することによりMAP2のリン酸化を抑制し、チュープリンからの遊離を抑制すると推察される。Paclitaxelの作用増強、他薬剤との併用とこの作用との関わりについて考察したい。