

B-17 低酸素状態における肺癌細胞株の抗癌薬感受性の検討

石川県立中央病院呼吸器内科¹、金沢大学第三内科²
 ○岩佐桂一¹、笠原寿郎²、明さおり¹、良元章浩²、
 上田暁子²、白崎浩樹²、日置詩子²、坂東琢磨²、
 柴田和彦²、西 耕一¹、藤村政樹²、松田 保²

【目的】シスプラチンは肺癌に有効な抗癌薬であるが、酸素状態の違いによる感受性の知見は乏しい。低酸素状態におけるシスプラチンの感受性について検討した。

【方法】肺癌培養細胞株PC-9、RERF-LC-MS、EBC-1を用い、抗癌薬感受性試験はMTT法にて行った。グローブボックス内に95%N₂、5%CO₂の混合ガスを灌流し低酸素状態とし、4時間の培養後、薬剤を2時間曝露した。シスプラチンの細胞内蓄積量は原子吸光法で検討した。また⁸⁶RbClを用いてNa⁺、K⁺-ATPaseの活性を検討した。

【結果】シスプラチン感受性は低酸素状態において有意に低下した（低酸素状態のIC₅₀/正常酸素状態のIC₅₀: PC-9 3.3、RERF-LC-MS 2.2、EBC-1 2.2）。細胞内プラチナ蓄積量は低酸素状態において有意に低下した。Na⁺、K⁺-ATPaseの活性も低酸素状態において有意に低下した。

【結論】低酸素状態ではNa⁺、K⁺-ATPaseの活性が低下し、細胞内プラチナ蓄積量が減少する。これが抗癌薬感受性の低下に関与していると考えられた。

B-19 SN-38耐性肺癌細胞の薬剤耐性機構とその克服

長崎大学第二内科

○寺師健二、中野令伊司、塚元和弘、早田 宏、
 岡 三喜男、河野 茂

【目的】DNAトポイソメラーゼII阻害薬であるCPT-11は広い抗腫瘍効果を有する抗癌剤である。その耐性機構にはこれまでいくつかの機序が報告されている。我々はCPT-11の活性体であるSN-38で選択されたSN-38耐性肺小細胞癌細胞PC-6/SN2-5を用いて、その耐性機構を解析した。【材料と方法】MTT assayにてSN-38および各種抗癌剤での感受性を比較検討、既知の薬剤耐性関連遺伝子の発現をRT-PCR法によって評価した。DNAトポイソメラーゼIについては質的、量的、機能的変化を、SN-38の細胞内グルクロン酸抱合活性についてはUGT酵素とSN-38Gを測定した。【結果】SN-38耐性株PC-6/SN2-5は親株に比べSN-38に約10倍、CDDP、Topotecan、VP-16、MMCにも交叉耐性を、更にSN-38Gに約10倍の耐性を示した。一方、PC-6/SN2-5細胞の細胞内SN-38濃度は親株に比べ有意に低下していた。多剤耐性遺伝子であるMDR1、MRP1、MRP2/cMOATの発現に差は見られなかった。DNAトポイソメラーゼIとUGTについては親株、耐性株共にその量または機能の変化は見られなかった。また、新規quinoline誘導体によってその耐性が克服された。

【結論】SN-38耐性PC-6/SN2-5肺癌細胞においてMDR1、MRP1、MRP2/cMOAT以外のSN-38 or SN-38Gを排出する新規の薬剤排出ポンプの存在が示唆された。

B-18 Thromboxane A2(TXA2) blockade による薬剤耐性克服の基礎的検討

金沢大学第3内科 ○笠原寿郎 坂東琢磨 明さおり 岩佐桂一 上田暁子 白崎浩樹 日置詩子 柴田和彦 藤村政樹 松田保

【目的】肺癌化学療法における最大の問題点である薬剤耐性の克服を目的に TXA2 合成酵素阻害薬、TXA2拮抗薬が、抗癌薬感受性に与える効果を検討した。【対象と方法】ヒト非小細胞肺癌株 PC-9 と PC-9/CDDP を用いた。TXA2 拮抗薬、合成酵素阻害薬の CDDP 感受性に与える影響を MTT 法で、併用効果を Isobologram にて検討した。CDDP の細胞内蓄積量は原子吸光法で検討した。アポトシスの定量は ELISA にて行った。Caspase 蛋白の半定量は Western 法で行った。【結果】いずれの細胞株においても TXA2 拮抗薬は CDDP 感受性を増強し、併用効果は相加または相乗効果を示した。一部の薬剤では CDDP 細胞内蓄積量が亢進したが、他の拮抗薬では変化なかった。CDDP によるアポトシスは有意に増加し、caspase-2 蛋白量は TXA2 拮抗薬にて増加した。

【考察】TXA2 blockade により caspase-2 蛋白が誘導され、これに death signal としての CDDP が加わる事により薬剤にて誘導されるアポトシスが有意に亢進したことが示された。

B-20 Mitomycin C とその誘導體 (KW-2149) における癌化学療法

福岡大学・第二外科¹、国立療養所南福岡病院・外科²
 ○三上公治¹²、川原克信¹、本廣昭²、白日高歩¹

mitomycin C(MMC)の活性化には、いくつかの細胞内の酵素が関与することが知られているが、分子レベルの解析は十分進んでいない。われわれは、ヒト癌細胞株において酵素活性と感受性の関係を調べた。MMCに耐性を示す細胞は、活性化酵素の一つであるDT-diaphorase(DTD)が低活性であった。そこでDTD活性が存在しない細胞へDTDをコードするNQO1 geneを導入したところ、約5-10倍感受性を示した。以上より、DTDが細胞内でのMMC活性化を担う重要な酵素であることが明らかになった。肺癌切除標本におけるこの酵素活性を検討した。肺癌組織における活性は様々な値を示した。DTD酵素活性が低い症例は、stage分類が低い傾向にあった。

一方、KW-2149はMMCの誘導體の一つであり、MMC耐性細胞に感受性を示す抗癌剤である。KW-2149に対する感受性はMMC活性化酵素に関係しなかったが、GSHが高い細胞が感受性になることがわかった。培地中にGSHを加えたところ、KW-2149感受性は増した。これらの結果から、KW-2149の作用機構にはGSHが重要な意味を持ち、MMC活性化に重要である細胞内酵素に影響されない経路で活性化されることが示唆された。