

G-21 新規薬剤排出ポンプ BCRP による SN-38-グルクロン酸抱合体の膜輸送

長崎大学第二内科¹⁾，明治薬科大学薬物体内動態学教室²⁾
 ○中富克己¹⁾²⁾，吉川恵美²⁾，塩澤 健¹⁾，川畑 茂¹⁾，塚元和弘¹⁾，池上洋二²⁾，岡三喜男¹⁾，河野 茂¹⁾

SN-38 はトポイソメラーゼ I 阻害剤 CPT-11 の活性代謝物であり，広い抗腫瘍効果を有している。SN-38 は癌細胞内において UGT1A によりグルクロン酸抱合を受ける。BCRP は SN-38 耐性に関与している ABC transporter と言われている。BCRP mRNA が高発現した SN-38 耐性肺癌細胞において細胞内 SN-38, SN-38G 濃度が親株に比して低下していたため，BCRP が SN-38G を細胞外排出していると予想し，膜小胞を用いた膜輸送実験を行った。【材料と方法】PC-6 (親株)，SN-38 高度耐性株 PC-6/SN2-5H (34 倍耐性) を用いた。細胞破碎後，膜小胞を調製し，SN-38G の取込実験を行った。SN-38G は HPLC で測定した。また，部分精製した UGT1A 蛋白を用い SN-38G 産生能を比較した。【結果】膜小胞の SN-38G 取込みに ATP 依存性が認められた。親株と比較し BCRP mRNA 高発現耐性株において有意に SN-38G の取込量の増加が観察された。SN-38G 産生能は親株の方が高かった。【考察】この結果，SN-38G が BCRP の基質となり得ることが示唆された。

G-23 肺小細胞癌における SN-38 耐性への BCRP (Breast cancer resistance protein) の関与

長崎大学医学部第二内科¹⁾，長崎大学大学院薬学研究科薬物治療学²⁾
 ○岡三喜男¹⁾，塩澤 健¹⁾，中富克己¹⁾，塚元和弘²⁾，河野 茂¹⁾

【目的】SN-38 (CPT-11 の活性代謝物) 耐性肺小細胞癌細胞株の耐性機序について探究した。

【方法及び結果】細胞は親株 PC-6, SN-38 耐性株 PC-6/SN2-5 (18 倍耐性)，高度耐性株 PC-6/SN2-5H (34 倍耐性) を用いた。HPLC で SN-38 の細胞内濃度を測定したところ，濃度は耐性度に比例して低下していた。RT-PCR と Northern blotting を用いて，既知の ABC transporters を全てスクリーニングした結果，乳癌細胞株から単離された BCRP (Breast cancer resistance protein) のみが，耐性度に比例して発現量が増加していた。解毒機序である UGT1 は親株と耐性株に有意な差はなかった。更に SN-38 耐性への関与を直接証明するために，耐性株に BCRP antisense を投与した結果，BCRP の発現量の低下に伴って SN-38 への感受性が亢進した。

【結語】肺小細胞癌細胞株の SN-38 耐性の一つに BCRP が関与していた。

G-22 非小細胞肺癌細胞株における MRP1, MDR1, HER2/neu 遺伝子の発現と新規抗腫瘍剤感受性の検討

富山医科薬科大学第 1 内科¹⁾，Lowe Center for Thoracic Oncology, Dana-Farber Cancer Institute²⁾
 ○菓子井達彦¹⁾，藤下 隆²⁾，小田寛文¹⁾，三輪敏郎¹⁾，佐々和彦¹⁾，松井祥子¹⁾，山下直宏¹⁾，丸山宗治¹⁾，小林 正¹⁾

【背景】抗腫瘍剤に対する多剤耐性因子である MRP1, MDR1 および，細胞増殖因子である HER2/neu の発現と各種抗腫瘍剤の感受性については，種々の癌細胞において検討されているが，その解明はまだまだ十分とは言えない。また，近年新しい作用機序を持つ抗腫瘍剤が非小細胞肺癌に使用可能となってきたが，これら薬剤の感受性規定因子についても十分に解明されていない。【目的】今回我々は，非小細胞肺癌における薬剤感受性規定因子の発現と新規抗腫瘍剤感受性の関係を明らかにする目的で検討を行なった。【方法】非小細胞肺癌細胞株 8 株 (Ad. 5 株，Sq. 3 株) を用いて，MRP1, MDR1 および HER2/neu 遺伝子の発現と，paclitaxel, docetaxel, gemcitabine および vinorelbine に対する感受性を検討した。遺伝子発現は RT-PCR 法を用い，発現の強さを normal bronchial cell を ± として ±++ で表した。抗腫瘍剤感受性は各薬剤を 4 日間細胞と接触させ，MTT assay にて IC50 を求めた。【結果】MRP1 は 8 株中 2 株，MDR1 は 8 株中 3 株，HER2/neu は 8 株中 2 株で，++ 以上の発現を認めた。抗腫瘍剤感受性と遺伝子発現の間に明らかな相関は認められなかった。【考察】今回は遺伝子レベルのみでの検討であり，今後 immunohistochemistry などを用いた蛋白レベルでの検討も必要であると考えられる。

G-24 原発性非小細胞肺癌における TS/DPD の解析

大阪大学機能制御外科 (第一外科)，Thoracic Surgery Study Group of Osaka Univ^{*}

○新谷 康，三好新一郎，太田三徳，田中寿一^{*}，松村晃秀^{*}，井内敬二^{*}，森 隆^{*}，中川勝裕^{*}，安光 勉^{*}，澤端章好^{*}，前田 元^{*}，尹 亨彦^{*}，城戸哲夫^{*}，明石章則^{*}，松田暉

【背景】5-FU の作用機序に関連して DNA 合成に関わる thymidylate synthase (TS) や 5-FU の不活化因子である dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) が注目されている。

【目的】腫瘍組織の TS, DPD 活性を測定し，非小細胞肺癌の進行度，組織型別に TS, DPD 活性の分布特性が見られるかを検討した。【対象】非小細胞肺癌 pStage I, II (61 例)：男性；42 例，女性；19 例，平均年齢 65.2 歳，pStage I；52 例，II；9 例，腺癌；35 例，扁平上皮癌；21 例，大細胞癌；3 例，腺扁平上皮癌；2 例。

【方法】腫瘍組織の TS, DPD の mRNA 定量検査を行い pT, pN, 組織型別に mRNA 量を比較した。測定値は GAPDH で補正し，単位は copy/μgRNA とした。16 例で正常肺組織内 TS, DPD の mRNA 定量を行った。

【結果】TS mRNA 量：正常肺組織内 $(5.1 \pm 3.5) \times 10^6$ ，腫瘍組織内 $(1.2 \pm 1.0) \times 10^7$ pT, pN, 組織型とは相関を認めなかった。DPD mRNA 量：正常肺組織内 $(2.0 \pm 0.9) \times 10^7$ ，腫瘍組織内 $(6.3 \pm 7.1) \times 10^6$ であり有意に腫瘍内で低値であった。腫瘍組織内では pT2 に比して pT1 で高値を示し，扁平上皮癌で腺癌に比して有意に低値であった。pN との相関は認めなかった。【結語】TS の分布特性は明らかでなかったが，DPD 活性は腫瘍内で低く，さらに扁平上皮癌で低値であった。