

G-5 肺腺癌における分化度ならびに遺伝子変異と肺内アスベスト沈着量との関連性

佐藤 之俊^{1,2}・石川 雄一¹・三好 立¹・奈良橋俊子¹・尾本健一郎²
 平野 純²・奥村 栄²・中川 健²・西尾 誠人³・唐渡 敦也³・宝来 威³
¹ 癌研究会 癌研究所 病理部；² 癌研究会附属病院 呼吸器外科；
³ 癌研究会附属病院 呼吸器内科

【目的】肺腺癌発生においてアスベストがどの程度関与しているかを、非喫煙者肺癌を対象に検討した。【方法】1990年代の肺癌切除例の中から非喫煙者48例を対象とし、サザン法による分化度別のLOH検索と、SSCP-PCR法と直接シーケンス法によるp53変異検索を行った。肺内アスベスト定量は、低温灰化後アスベスト小体(AB)を光顕下で計数した。【成績】肺内AB量により全体を3群(AB0(n=21), AB=0; AB軽, 0<AB<1000(n=14); AB高, ABが1000以上(n=11))に分けたところ、各群におけるLOH頻度は高分化/中分化/低分化=6/11/4, 6/8/0, 4/7/0であった。LOHをFAL値(LOHを示す部位の数/informativeな部位の数)で表すと、AB0/AB軽/AB高=0.17/0.07/0.13であった。p53変異は検索した44例中12例(27%)にみられ、その頻度はAB0/AB軽/AB高=16%/29%/45%とAB高群はAB0群より有意に高かった(p=0.006)。p53変異部位についてABの有無により全体を2群(アスベスト無, アスベスト有)に分けると、アスベスト無(n=22)では5例にp53変異がみられ、変異部位はcodon120, 176, 241, 248, 273であった。また、アスベスト有(n=28)では、p53変異は9例にみられ、変異部位はcodon138, 213, 237, 245, 273, 282, 335, 341であった。なお、喫煙に特徴的なG/T transversionの頻度は少なく、AB軽群の2例でのみ認められた。【結論】アスベスト曝露は肺腺癌においてその分化度を低下させることはなく、喫煙のようにゲノムに遺伝子欠失を蓄積する作用がないことと、それでもp53遺伝子変異は喫煙と異なるタイプのものが増加することが判明した。(産業医学総合研究所神山宣彦部長との共同研究)

G-7 リボザイムを用いたγ-Glutamylcysteine synthetaseの特異的制御による非小細胞肺癌株のCDDP感受性の変化

井上芳正¹・中村 雅登²・阿部 良行³・川村 雅文⁴・小林 紘一⁴
¹ 帝京大学板橋病院外科；
² 東海大学医学部総合診療学系病理診断学部門；
³ 国立療養所神奈川神奈川病院；
⁴ 慶應義塾大学医学部呼吸器外科

【目的】γ-glutamylcysteine synthetase (γ-GCS)は、グルタチオン合成の律速酵素で、CDDPをはじめとする抗癌剤耐性に重要な役割を持つとされている。γ-GCSはheavy subunit(GCS-H)とlight subunit(GCS-L)の2つのsubunitからなるが、抗癌剤耐性に対して、どちらがどのような影響を持つかについては不明である。この点を検討するため以下の実験を行った。【方法】GCS-HとGCS-Lに対する2つの別のハンマーヘッド型リボザイム(GCS-HRz, GCS-LRz)を設計し、各々をヒト非小細胞肺癌細胞株(A549)に導入した。その結果得られた変異株(A549/GCS-HRz及びA549/GCS-LRz)のγ-GCS遺伝子発現と、CDDP感受性を検討した。抗癌剤感受性の測定にはMTT assayを用いた。【結果】A549/GCS-HRzとA549/GCS-LRzはともにcontrolに比べ、γ-GCS遺伝子発現は低下しており、CDDPの感受性が有意に上昇していた。さらにA549/GCS-LRzは、A549/GCS-HRzと比較しても有意にCDDPの感受性が上昇していた。【結論】γ-GCS遺伝子を制御することにより肺癌細胞におけるCDDP耐性を克服できる可能性が示唆された。さらにheavy subunit, light subunitともに標的遺伝子として有望である可能性が示唆された。

G-6 薬剤排出ポンプBCRP/ABCG2を回避する新規CPT誘導体の開発

岡 三喜男¹・吉川 恵美²・早坂 進也³・池上 洋二²・吉田 久博²
 田辺 信三³・澤田 誠吾⁴・河野 茂¹
¹ 長崎大学 医学部 第二内科；² 明治薬科大学薬物体内動態学；
³ 明治薬科大学分析化学；⁴ ヤクルト本社中央研究所

【目的】DNAトポイソメラーゼI(トポI)阻害剤のCPT-11は、肺癌化学療法的主要薬剤である。BCRPはSN-38(CPT-11の活性体)の排出ポンプとして機能し、その薬剤耐性に寄与している。今回、BCRPを介した耐性を回避する抗癌剤の開発を目的として、新規CPT誘導体14種を合成しBCRP高発現細胞株に対する殺細胞効果とBCRPへの基質特異性を検討した。【方法】ヒト小細胞肺癌株PC-6(親株)とそのBCRP高発現SN-38耐性株PC-6/SN2-5H2(耐性度260倍)を用いた。薬剤感受性試験はMTT法で評価し、トポI阻害活性は両株より精製したトポIを用いた切断複合体形成能で測定した。細胞内薬剤濃度は細胞に誘導体を暴露後にHPLCで測定した。さらに、両株から調製した膜小胞を用いて膜輸送活性を測定した。【結果】(1)14種のCPT誘導体はSN-38と同程度の複合体形成能を示した。(2)相対耐性度[IC₅₀(耐性株)/IC₅₀(親株)]の高い誘導体ほど細胞内薬剤濃度比(耐性株/親株)は低値を示した。(3)高度耐性を示す誘導体の耐性株膜小胞への取り込みはATP依存性であった。一方、耐性を回避した誘導体では、その輸送活性はみられなかった。(4)耐性株膜小胞系実験の結果、BCRPの輸送活性と耐性を示す誘導体4種の相対耐性度にはよい相関がみられた。(5)極性の高い誘導体の相対耐性度は高値を示した。【結論】親水性が高いCPT誘導体ほどBCRPの基質となり易く、極性の低い誘導体はBCRPによる耐性を回避することが示唆された。本研究は、BCRP耐性回避を目的とした新規トポI阻害剤開発の第一歩と期待される。

G-8 進行非小細胞肺癌の集学的治療における組織培養法抗癌剤感受性試験の役割

吉増 達也¹・尾浦 正二¹・平井 一成¹・粉川庸三³・佐々木理恵¹
 本田賢太郎¹・谷野 裕一¹・櫻井 照久¹・岡村 吉隆¹・古川 智子²
¹ 和歌山県立医科大学 第一外科；² エスアールエル 医科学分析センター

【はじめに】当科では、進行非小細胞肺癌(NSCLC)に対し化学療法薬剤を使用する際に、可能であれば生検を行って組織培養法抗癌剤感受性試験(HDRA)を施行し、感受性陽性薬剤を用いた治療を行う方針としている。今回、これまでの治療成績から進行NSCLCの集学的治療におけるHDRAの役割について述べる。【背景】HDRAは1994年より研究段階として導入された。症例の蓄積に基づき薬剤接触濃度とcutoff抑制率の設定が行われた後、現在は保険適応外の臨床検査として施行している。NSCLCは多剤耐性が多いため検査可能薬剤数の多いことが望ましい。当初CDDP, FU, ADM, MMCの4剤より検査を開始し、現在は更にDOC, VP-16, PAC, GEM, CPT-11, CPAを加え計10剤が検査可能である。これまで当科では肺癌307例のHDRA結果を蓄積した。初期段階で陰性薬剤を用いて化学療法が施行されていた症例の奏効率は0%(真陰性率100%)であり、HDRAで無効薬剤を除外することにより結果的に化学療法奏効率を向上させ得ることが期待された。【対象及び結果】進行NSCLCに対しては、これまで27例で生検組織を用いてHDRAが施行された。生検方法は縦隔鏡15例、胸腔鏡3例、開胸生検4例、その他5例であった。うち5例は陽性薬剤がなく、2例はHDRA結果から提示された治療を拒否した。残り20例においてHDRAで感受性陽性と判定された抗癌剤を用いた治療が行われた。7例で化学療法が、13例で放射線同時併用化学療法が施行された。画像上臨床効果が評価可能であった18例の臨床効果はPR16例、NC2例、奏効率89%と良好であった。【結語】進行NSCLCの化学療法薬剤の選択に際し、HDRAは奏効率向上のための有用な手段と考えられる。