

Title	バクリタキセルおよびイリノテカン活性体によるシスプラチン耐性克服に関する卵巢癌由来培養細胞株を用いた検討
Sub Title	
Author	小室, 優貴
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.1 (2003. 3) ,p.12-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030303-0012

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

パクリタキセルおよびイリノテカン活性体による シスプラチン耐性克服に関する卵巣癌由来培養細胞株を用いた検討

小室 優貴

内容の要旨

【背景および目的】卵巣癌は、女性癌死亡の重要な位置を占めているおり、進行癌が多いことから、化学療法が重要な役割を担っている。従来卵巣癌には、シスプラチン(DDP)をkey drugとして種々の多剤併用療法が行われてきたが、DDPに元来耐性である卵巣癌症例(自然耐性)や、化学療法施行後再発した卵巣癌症例(獲得耐性)の治療が重要な課題となっている。新規抗腫瘍剤paclitaxel, CPT-11は、そのような卵巣癌DDP耐性症例に対し臨床的に高い奏効率を示すことから、その有用性が期待されているものの、DDP耐性に関する両薬剤の基礎的解明はまだまだ十分になされていない。DDPの耐性機序については、1) DDP取り込みの減少もしくはDDP排出の亢進による細胞内のDDP量の減少、2) DDP解毒機構の亢進、3) DDPによって傷害を受けた後のDNA修復の亢進、修復の亢進によるDNA傷害の減少などが示唆されている。そのような耐性機序の中でも、ことに細胞内Pi量はDDP耐性の重要な要因であると考えられている。そこで、本研究では、卵巣癌由来DDP自然耐性株RTSG、獲得耐性株KFraおよびその親株KFを用いて、DDPとpaclitaxelあるいはDDPとSN-38(CPT-11の活性体)の相互作用を明らかにすることを目的とした。すなわち、各細胞における各組み合わせの併用抗腫瘍効果を検討し、併用により相乗効果が得られる機序として、細胞内DDP取り込み機構および排出機構として細胞膜に存在しDDPの排出ポンプと考えられるmultidrug resistance-associated protein(MRP)に着目し、DDP耐性におけるDDPとpaclitaxelあるいはSN-38の相互作用が、DDP取り込み機構およびMRP発現の変化に及ぼす影響を解明することとした。

【結果】耐性株RTSG、KFraおよびそのwild-type KFを用い、DDP耐性機序と薬剤併用(DDP+paclitaxelまたはDDP+SN-38)効果について検討し以下の結果を得た。

1. DDP+paclitaxelまたはDDP+SN-38の組み合わせによる併用抗腫瘍効果は、各細胞においてIsobologramにより相加的ないしは相乗的と評価された。したがって、DDP感受性細胞KFのみならず、DDP耐性細胞RTSG、KFraにおいても、上記薬剤による組み合わせは有効と考えられた。

2. paclitaxelまたはSN-38前接触により細胞内Pi蓄積量の増加が認められ、この増強はNa⁺/K⁺-ATPaseポンプ阻害剤であるouabainにより阻害された。このことは、paclitaxelまたはSN-38前接触は、Na⁺/K⁺-ATPaseを介することにより細胞内Pi蓄積量を増加させることを明らかにした。

3. DDP単剤投与で増強されたMRP mRNAは、DDPにpaclitaxelまたはSN-38を併用することにより減弱した。したがって、DDPにpaclitaxelまたはSN-38を併用投与することにより、MRP mRNAを抑制し、DDP耐性を克服し得ることが示唆された。

以上のことから、卵巣癌由来細胞株においてpaclitaxelまたはSN-38接触後のDDPによるPi蓄積量の増加とMRP発現の減弱がこれらの薬剤の併用効果に関与していることが示された。細胞内Pi蓄積量がouabainにより阻害されたこと、薬剤併用によりMRP mRNAの減弱が認められたことから、paclitaxelおよびSN-38による細胞内Pi蓄積量の増加がDDPとの併用効果に関与していることが明らかとなった。したがって、paclitaxelおよびSN-38はMRP mRNAを減弱させることにより卵巣癌細胞のDDP耐性を克服し得ることが示された。この成績は、臨床におけるDDP耐性卵巣癌患者の今後の治療戦略に光明をもたらすものと考えられる。

論文審査の要旨

卵巣癌化学療法において、臨床上大きな問題であるcisplatin(DDP)耐性症例に対し、DDPと新規抗腫瘍剤タキサン化合物あるいはDDPとトポイソメラーゼ阻害剤との併用療法は高い奏効率を示すものの、併用効果とDDP耐性との関係は未だ解明されていない。そこで本研究ではこれらの薬剤の併用が、細胞内Pi量や抗腫瘍剤排出ポンプといわれるmultidrug resistance-associated protein(MRP)、multidrug resistance protein(MDR-1)などの抗腫瘍剤感受性規定因子に及ぼす影響を及ぼすかについて検討した。材料としては卵巣癌由来獲得耐性株KFra、感受性株KFおよび当教室にて樹立した自然耐性株RTSGなどを用いて、DDP+paclitaxelおよびDDP+SN-38(トポイソメラーゼI阻害剤CPT-11の活性体)の*in vitro*における併用効果の検討を行った。まず、併用殺細胞効果については耐性株、感受性株ともにほぼ相乗的な殺細胞効果を示した。DDP耐性の要因とされる細胞内Pi濃度については、併用により細胞内Pi濃度の増加が認められ、その増加はDDP流入ポンプであるNa⁺/K⁺-ATPaseの阻害剤ouabainにより阻害された。このことにより併用による細胞内Pi量の増加はNa⁺/K⁺-ATPaseを介する可能性が示された。一方、元来正常の卵巣には発現が認められないとされるMRPは、DDP排出ポンプと推定されているものの十分な検討はなされていなかった。本研究では薬剤単独と併用によるMRP-1 mRNAの変化を系統的に検討し、DDP単独投与で増強されたMRP mRNAが併用により減弱もしくは抑制される傾向を各細胞で示した。このことによりDDP排出にはMRPが関与し、併用によりMRP mRNAを抑制し細胞内Pi濃度が高まる可能性が示唆された。一方、MDR-1についてはDDP耐性や併用の増強には関与していないことが明らかになった。

審査では併用効果判定に用いたIsobologram法について質問があり、同法が最も信頼性のある判定法として一般的に用いられていることやその描出法・解釈について説明がなされた。ouabainによる阻害実験については薬剤無処理群とも比較するべきであるという指摘がなされ、より流入機構を明確にするにはNa⁺/K⁺-ATPase mRNAやイソトープを用いた検討も用いるべきとの助言があった。DDPにより増強されたMRP mRNAが、併用により減弱もしくは抑制される現象は極めて興味深いと評価されたものの、①MRP発現が併用により抑制されるのは細胞が障害を受けたからではないかという可能性、②併用によりMRP mRNAの発現が現象減弱する理由、③定量的にPCRを用い、time courseをみればmRNAの変化が直接追えるのではないかの助言がなされた。①については、細胞の障害が非常に少ないよう薬剤の濃度や接触時間を設定しており、MTT法にて細胞への障害を検討していることが説明された。②については明らかな現象の解明が現段階では難しく、今後③の定量的PCRにより、現象を検討していきたいと抱負が述べられた。また、今後の課題として、各細胞株でp53の変異の有無やDDP抵抗性といわれる裸細胞腺癌などの細胞株でも試みるということが有意義ではないかとの指摘がなされた。

以上、本研究は個々の実験の結果からさらに踏み込んだ実験の展開と理論づけが望まれるものの、MRPとDDP耐性の関係やDDPとの併用効果について新しい知見を与え、今後大きく発展する可能性があるものと評価された。

論文審査担当者 主査 産婦人科学 野澤 志朗
病理学 坂元 亨宇 先端医科学 河上 裕
病理学 岡田 保典 産婦人科学 吉村 泰典
学力確認担当者:北島 政樹、坂元 亨宇
審査委員長:坂元 亨宇

試問日:平成14年11月19日