

# 19 子宮頸癌細胞に対する低用量5-FU投与によるapoptosisの誘導

大阪医大

植田政嗣, 熊谷広治, 植木 健, 寺井義人, 山下能毅, 岡村信介, 植木 実, 杉本 修

【目的】抗癌剤投与による癌細胞死の過程には, necrosis とともにapoptosis の存在が指摘されているが, 子宮頸癌(頸癌)での報告はみられない. そこで, 術後のoral adjuvant chemotherapy に頻用される低用量 5-FU の投与が, 頸癌細胞の増殖動態やapoptosis に与える影響を検索した.

【方法】①OMC-1(頸部扁平上皮癌株), OMC-4(同腺癌株)の増殖能に対する5-FUの効果を, 増殖曲線とde novo 経路の前駆体である<sup>3</sup>H-deoxyuridine (<sup>3</sup>H-dUrd) 取り込み率により評価した. ② 5-FU (0.1~1.0  $\mu$ g/ml) 24~96時間投与後の OMC-1, 4 および500 mg/m<sup>2</sup> 8 日間経静脈投与後の摘出頸部扁平上皮癌組織4 例と対照の非投与6 例 (Ib期以上) におけるapoptosis 細胞核を, DNA nick end labeling (Apop Tag<sup>TM</sup>, ONCOR) で検出した. 検体をproteinase Kにて前処理後, terminal deoxynucleotidyl transferase でDNA 断片 3'-末端に digoxigenin-dUTP を付加し, 酵素抗体法にて発色後検鏡した. ③上記培養および臨床投与検体の詳細な形態学的観察を行った. 【成績】① 0.1  $\mu$ g/ml の 5-FU によりOMC-1, 4 の倍加時間は各々 1.6, 1.2 倍に遅延し, 96時間付加後の <sup>3</sup>H-dUrd取り込み率は, control に対し, 0.1  $\mu$ g/mlでは各々 53, 79%, 0.5  $\mu$ g/mlでは 23, 61% に抑制された. ② 5-FU 投与によりOMC-1, 4 の細胞1000個あたりの陽性核比率は, 濃度・時間依存性に増加した. また, 摘出頸癌組織での陽性核比率は, 5-FU投与群 9.3 $\pm$ 2.7%, 非投与群 3.4 $\pm$ 1.3%であった. ③apoptosis 細胞は, 核濃縮, 凝集クロマチンの核縁付着などの特徴像を示した. 【結論】低用量の 5-FUは頸癌細胞に対してcytostaticに作用するとともに, apoptosisを誘導することが示された.

# 20 シスプラチン耐性子宮頸癌細胞のトポイソメラーゼ阻害剤に対する感受性とトポイソメラーゼ活性

鳥取大

皆川幸久, 岡田 誠, 程 修司, 板持広明, 石原 浩, 紀川純三, 寺川直樹

【目的】シスプラチン(CDDP)耐性細胞の DNAトポイソメラーゼ(Topo)阻害剤に対する感受性とTopo活性を明らかにすることを本研究の目的とした.

【方法】頸部腺癌由来HeLa細胞とCDDPの持続接触により誘導したCDDP耐性HeLa細胞を対象とした. 本耐性株はCDDPに対して親株の約 8倍の耐性を示し, 細胞内プラチナ(Pt)蓄積量は親株の約 1/2であり, 総グルタチオン量には差を認めない.

Topo I 阻害剤としてCPT-11の活性本体である SN-38を, Topo II 阻害剤として VP-16を用い, MTT assayにより感受性試験を行い, 各々のIC<sub>50</sub>値を求めた. CDDPとTopo阻害剤との併用効果については Isobologram法により検討した. 各々の細胞から核蛋白を抽出し, supercoiled DNAの relaxation assayによりTopo I 活性を, kinetoplast DNA のdecatenation assayにてTopo II 活性を測定した. 【成績】耐性株と親株との間で VP-16に対する感受性に差はなかったが(2.0 vs. 1.9  $\mu$ M), SN-38に対して耐性株は親株の 4.5倍(38.0 vs. 8.0 nM)の感受性を示した. CDDPと VP-16の併用は両細胞株において相加効果を示した. 一方, CDDPとSN-38の併用は親株では相加効果を示したのに対し, 耐性株には相乗効果をもたらした. 両細胞株のTopo II 活性に差はなかったが, 耐性株のTopo I 活性は親株のそれに比して約 4倍に増強していた. 【結論】CDDP耐性HeLa細胞ではTopo I 阻害剤に対する随伴感受性がみられ, CDDPとの併用で相乗効果が得られること, この随伴感受性には耐性株におけるTopo I 活性の増強が強く関与することを明らかにした. 細胞内Pt蓄積量のみでは耐性度の説明は困難なことから, 本耐性株のCDDP耐性機構におけるTopo I 関与の可能性が示唆された.