

83 PaclitaxelとCDDP併用療法の作用機序の検討—Apoptosisの関与について

岩手医大

本田達也、吉崎 陽、高村郁世、西谷 巖

[目的] paclitaxel (Taxol, 以下T) は、化学療法後の再発卵巣癌に対して有効性が認められているが、さらにCDDP (以下P) との併用による効果も検討が始められている。われわれは、前回、Tの先行投与に続いてPを投与するのが最も殺細胞効果が高いことを増殖動態と細胞周期の解析から明らかにした。そこでこの機序にapoptosisが関与しているか否かを検討した。[方法] P耐性ヒト卵巣癌培養細胞株 (KFr13、菊池ほか) は、10%牛新生仔血清加RPMI1640培地を用い5%CO₂下で培養した。培養第3日目に、A群では T 10⁻⁷Mと P 1 μg/mlを同時添加後24時間で培地交換し、B群ではP 1 μg/ml 24時間添加後T 10⁻⁷M添加培地に交換し24時間培養した。C群ではT 10⁻⁷M 24時間添加後P 1 μg/ml添加培地に交換し24時間培養した。細胞数を算定し、dye exclusion法によって生細胞も算定した。培養液中に浮遊した細胞と2×10⁶個の付着している細胞を用いてgel electrophoresisをおこないDNA ladderの検出を、またHoechst33342による蛍光染色とnick and labelling法によってapoptosisを起こした細胞を形態学的に検討した。[成績] 細胞増殖は、薬剤添加後48時間でA群27.8%、B群33.4%、C群32.0%、72時間でA群10.0%、B群15.0%、C群5.8%に抑制された。付着している細胞では24—48時間後にT単独投与群とB群にapoptosis、C群にapoptosisとnecrosisが認められたが、A群では変化が軽微であった。すべての群で浮遊している細胞には顕著なapoptosisを認めた。[結論] T添加後P投与 (C群) が最も有効である機序として、Tによるapoptosisの誘導に加えたPによるnecrosisの誘導が共存することを示した。

84 CDDP耐性細胞に対するトポイソメラーゼ阻害剤の効果

鳥取大

程 修司、岡田 誠、板持広明、皆川幸久、紀川純三、寺川直樹

[目的]CDDP耐性細胞のトポイソメラーゼ活性とトポイソメラーゼ阻害剤に対する感受性を明らかにすることを本研究の目的とした。

[方法]HeLa, KF, TYKおよびそれらのCDDP耐性獲得株であるHeLaR, KFR, TYKRの各細胞株を研究対象とした。トポイソメラーゼI阻害剤としてCPT-11の活性本体であるSN-38を、トポイソメラーゼII阻害剤としてVP-16を選択し、MTT assayによる感受性試験を行うとともに、CDDPとの併用効果をIsobologramにより解析した。次に、核蛋白の抽出後、トポイソメラーゼIではsupercoiled DNAと培養し、supercoiled DNAのrelaxation assayを行った。トポイソメラーゼIIでは、ATP存在下にkinetoplast DNAと培養し、kinetoplast DNAのdecatenation assayを用いてトポイソメラーゼ活性を測定し、耐性細胞とその親細胞で比較検討した。

[成績]耐性株に対してSN-38とVP-16は交叉耐性を示さず、SN-38ではcollateral sensitivityを認めた。親細胞ではCDDPとトポイソメラーゼ阻害剤との相乗効果はみられなかったが、耐性細胞においてはSN-38はCDDPとの相乗効果を示した。耐性細胞のトポイソメラーゼI活性は親細胞の4倍程度に上昇したが、トポイソメラーゼII活性は同程度であった。

[結論]三種のCDDP耐性細胞を用いた成績より、CDDP耐性細胞におけるトポイソメラーゼI活性の上昇ならびにSN-38とCDDPとの相乗効果が明らかとなり、CDDP耐性細胞に対するトポイソメラーゼI阻害剤の有効性が示唆された。