

P-163 *In vivo*樹立スフィンチン耐性ヒト卵巣癌株に認められた細胞生物学的悪性度の亢進に関する検討

九州大

光本正宗, 小林裕明, 嘉村敏治, 斎藤俊章, 加来恒寿, 中野仁雄

[目的] *In vitro*樹立薬剤耐性株は親株に比し浸潤能, 転移能などの悪性形質が低下することが多く, 臨床での化学療法後の獲得性薬剤耐性腫瘍に見られる亢進した悪性度を反映していない印象がある。そこで本研究では化学療法を主治療とする卵巣癌において, *In vivo*で薬剤耐性株を樹立し, その生物学的悪性度を*In vitro*樹立耐性株と比較検討し耐性モデルとしての妥当性を検討することを目的とした。[方法]ヒト卵巣癌細胞株(HRA, KF)を担癌したヌードマウスにスフィンチンを反復投与して作成した *In vivo*耐性株, 継代のみを行った対照株, および培養上清中にスフィンチンを添加して樹立した *In vitro*耐性株を使用した。これらの株をヌードマウスに移植し自然肺転移能の比較を行った。浸潤に関わる因子である接着能, 蛋白融解酵素産生能, 細胞運動能については, それぞれ細胞外基質をコートしたプレートへの細胞接着アッセイ法, ゼラチンを基質としたザイゲラム法および金コロイド法を用いて評価した。[成績]自然肺転移能, 蛋白融解酵素産生能および細胞運動能はHRA, KFともに *In vivo*耐性株が親株のみならず対照株と比較しても有意に亢進していたが, *In vitro*耐性株はむしろ低下していた。各種細胞外基質に対する接着能は, HRAの*In vivo*耐性株では亢進し, *In vitro*耐性株では不変ないしは低下していた。KFでは一定の傾向を認めなかった。[結論]卵巣癌細胞株の浸潤能, 転移能等の悪性度は宿主内でのスフィンチン暴露により亢進したのに対し, 培養プレート内での暴露後はむしろ低下していた。このことより, *In vivo*樹立薬剤耐性株は従来の*In vitro*樹立耐性株よりも, 臨床の場で遭遇する化学療法後再発耐性腫瘍の亢進した悪性度をより忠実に反映したモデルになると考えられた。

P-164 ヒト卵巣癌細胞の増殖動態におよぼす etoposide および ET-18-OCH₃ の影響について

川崎医大

小池浩文, 藤原恵一, 大石雄二, 河野一郎

(目的) DNAをターゲットにした抗癌剤etoposideと細胞膜に作用する新しい抗癌剤ether lipidのアナログであるET-18-OCH₃のヒト卵巣癌細胞(BG-1細胞)の細胞増殖動態におよぼす影響をBrdUで標識して動的に解析した。

(方法) BG-1細胞を培養3日目に BrdU(60 μg/ml)で30分間 labelingした後、etoposide (10 μg/ml × 4 hr)、ET-18-OCH₃ (8 μMol 持続接触)で処理した。その後、無処理群およびetoposide処理群、ET-18-OCH₃ 処理群の細胞を培養4日目・5日目・6日目・7日目に経時的に回収し、裸核化させた上でDNA変性処理後、propidium iodide (PI)で DNAを、抗BrdU・FITCでBrdUを標識しFlow Cytometerを用いて解析した。得られた2D Dot-plot(DNA-BrdU)を、G₁/G₀、S、G₂/Mに相当する3つのfractionに分け、BrdUの標識最大値と1/2までの間および1/2と非標識のレベルまでの間の2個のfractionに分け、合計6個のfractionについてそれぞれに含まれる核数の割合を求めることにより細胞動態を解析した。

(成績) etoposide処理群では、薬剤接触後早期よりG₂/Mへの集積が認められ、その後も他のfractionへの移行はほとんど認められなかった。一方、ET-18-OCH₃でもG₂/M blockは認められたがその程度はetoposideよりも小さく、細胞周期に非特異的な細胞障害が認められ、cell killとcytostasisの両者が存在することが示された。

(結論) etoposide と ET-18-OCH₃ は、明らかに異なった作用機序で卵巣癌細胞の増殖を抑制することが示された。