

## 79 卵巣明細胞腺癌に対する HER2/neu のヒト型モノクローナル抗体 (Herceptin™) を用いた新たな治療戦略の開発

富山医薬大

家城匡博, 藤村正樹, 片岡 健, 日高隆雄, 山川義寛, 斎藤 滋

【目的】HER2/neu の高発現卵巣漿液性腺癌では、抗癌化学療法に耐性であることが知られている。卵巣明細胞腺癌(CCA)は抗癌化学療法に自然耐性を有する。そこで、CCAにおけるHER2/neuの発現を検討し、ヒト型抗HER2/neuモノクローナル抗体(Herceptin™)による治療の可能性につき検討した。【方法】CCA細胞株(KK, RMG-1, HAC-II)におけるHER2/neu発現を蛋白レベル(免疫組織化学)、mRNAレベルにて検討、蛋白レベルでの発現強度をflow cytometerにて検討した。臨床検体におけるHER2/neu発現は免疫組織学的に検討した。さらにHerceptin™のCCA細胞株の増殖に及ぼす影響をin vitro, in vivoにて検討した。【成績】CCA細胞株3株においてHER2/neuの発現が蛋白、mRNAレベルにて認められ、蛋白レベルでの発現強度は、正常乳腺細胞の約6~10倍であった。臨床検体においても12/28例(42.8%)の症例にHER2/neuの強発現が認められた。Herceptin™の添加により、CCA細胞株の増殖は濃度依存性に阻止され、この増殖抑制効果は、Apoptosis誘導によって惹起されたことが判明した。SCIDマウスに移植したRMG-1株にHerceptin™(0.1, 1.0, 10μg/kg)を2回/週、4週間腹腔内投与したところ、腫瘍の増殖は有意に(P<0.05)抑制され、マウスの生存率も有意に(P<0.05)延長した。【結論】Herceptin™は、卵巣明細胞腺癌の治療において極めて有用な薬剤であることが示唆された。

14日  
口演  
(月)

## 80 GnRH antagonist によるヒト上皮性卵巣癌細胞株における G1期停止および p44/42 MAP キナーゼシグナル伝達抑制に関する検討

東京大<sup>1</sup>, 同分院<sup>2</sup>湯 暁暉<sup>1</sup>, 矢野 哲<sup>1</sup>, 松見泰宇<sup>1</sup>, 矢野直美<sup>1</sup>, 大須賀穰<sup>1</sup>, 久具宏司<sup>1</sup>, 吉川裕之<sup>1</sup>, 堤 治<sup>2</sup>, 武谷雄二<sup>1</sup>

【目的】gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist の卵巣癌細胞に対する増殖抑制効果を確認し、そのメカニズムについて細胞周期および増殖シグナルの観点より検討した。【方法】ヒト上皮性卵巣癌細胞株HTOAにおけるGnRH受容体mRNAの発現は、RT-PCR法で検出した。HTOA培養細胞にGnRH antagonistとしてCetrorelix 10μMを添加し、BrdU取り込み法によりDNA合成能を測定した。また、Flow cytometryで添加後0, 8, 16, 24時間の細胞周期分布を解析した。添加24時間後の癌抑制蛋白p53, 細胞周期制御因子p21, p27, CyclinD1, CyclinE, CyclinA, Cdk2(Cyclin-dependent kinase 2), Cdk4またはリン酸化p44/42 MAPキナーゼの蛋白発現量の変動をWestern blotting法により検討した。【成績】(1)HTOA細胞には、GnRH受容体mRNAの発現が認められた。(2)Cetrorelixは、添加24, 48, 72, 96時間後のBrdU取り込み量を各々対照の57%, 45%, 49%, 56%に抑制した。(3)24時間後に、G1期は5.3%増加し、S期は6.6%減少した。(4)24時間後に、p53, p21の蛋白発現量は各々50%, 60%増加し、CyclinA, Cdk2は各々75%, 22%減少したが、p27, CyclinD1, CyclinE, Cdk4の蛋白発現レベルに変化はなかった。(5)24時間後に、リン酸化p44/42 MAPキナーゼの蛋白発現量は25%抑制された。【結論】GnRH antagonistによる上皮性卵巣癌細胞に対する直接的増殖抑制効果が認められた。このメカニズムの一つとして、p44/42MAPキナーゼシグナル伝達を抑制し、さらにp53, p21の発現を増強し、Cdk2特にCyclinA/Cdk2複合体の活性を阻害することにより細胞周期のG1期停止をもたらすことが示唆された。

## 81 卵巣癌における染色体不安定性と薬剤効果モニタリング法の開発

東京医大

中村 浩, 小杉好紀, 田中都生, 井坂恵一, 高山雅臣

【目的】我々が卵巣癌細胞株を用いて行った分子細胞遺伝学的解析の結果、卵巣癌の一部に細胞周期チェックポイント遺伝子の異常による染色体不安定性CIN(Chromosomal instability)が関与することが明らかになった。そこでCINの有無と化学療法の効果との関係を検討した。【方法】学内倫理委員会の承認に基づき、患者への十分な説明と同意を得て、卵巣癌手術症例11例の病変部細胞と腹水を採取して初代培養を行う一方、DNAを抽出してCGH(Comparative Genomic Hybridization)法によりGenome Imbalanceを検出した。FISH(Fluorescence in situ hybridization)法を用いて染色体異数性の有無と、Genome Imbalance領域中に含まれる遺伝子の増幅/欠失の有無を確認した。さらにSecond look operationもしくは、手術時に留置した腹腔ポートから術後化学療法(TXL, iv + CBDCA, ip)施行後に洗浄細胞を採取し、LSC(Laser scanning cytometer)を用いて細胞周期を解析した。【成績】染色体異数性を示さない5症例では、一回の化学療法により平均82%の細胞がG1期像を呈するのに対して、異数性を認めた6症例では平均53%で、両群間に有意差を認めた。【結論】染色体異数性を示す症例では抗癌剤による細胞周期停止機構が障害されているものと考えられ、化学療法の効果判定モニタリングシステムとしての可能性が示唆された。