

## 22-32 P-糖タンパク質発現癌細胞におけるタキソールプロドラッグの透過性および取込みとその細胞内活性化についての基礎的検討—新規 prodrug virotherapy の開発をめざして—

愛知県がんセンター<sup>1</sup>, 近畿大薬学部<sup>2</sup>

那波明宏<sup>1</sup>, 谷野公俊<sup>2</sup>, 生駒容子<sup>1</sup>, 中西 透<sup>1</sup>, 葛谷和夫<sup>1</sup>, 岩城正宏<sup>2</sup>

【目的】 Paclitaxel (TAX) の新たな virus directed enzyme prodrug therapy を開発するために、P-糖タンパク質 (P-gp) を発現するヒト大腸癌細胞 (Caco-2) を用いて、タキソールプロドラッグである2'-エチルカーボネート体 (TAX-2'-Et) の透過性と細胞内取込みを検討した。また、ウサギ肝カルボキシエステラーゼ遺伝子 (RaCES) を導入したヒト卵巣癌細胞 (SKOV3-RaCES) での TAX-2'-Et の細胞毒性および RaCES 発現 HSV アンプリコン感染細胞内で変換される TAX 量を評価した。【方法】 Caco-2細胞は常法に従い、多孔性フィルター上に培養した。粘膜側または漿膜側に3.5 $\mu$ M TAX および TAX-2'-Et 溶液を添加し、透過量を HPLC にて測定した。Tet-off システムで作製した SKOV3-RaCES における両薬剤の細胞毒性を MTT 法により評価した。COS7細胞に HSV アンプリコンを MOI=3 で感染させ、さらに TAX-2'-Et に暴露した後に細胞内 TAX 量を測定した。【成績】 TAX と異なり、TAX-2'-Et では方向選択的な輸送および P-gp 阻害剤の影響は認められなかった。薬物添加2h 後の細胞内取込みは TAX の2.5倍となり、プロドラッグ化により有意に増加した ( $p < 0.01$ ; unpaired Student's t-test)。細胞毒性実験では TAX-2'-Et の IC<sub>50</sub> 値 (2.5 nM) は TAX のそれ (10.6 nM) に比べ、1/4であった。アンプリコン感染 COS7 細胞内で変換された TAX 量は、TAX-2'-Et 添加5分後から control (helper virus 単独感染群) と比べ8倍高かった。【結論】 TAX-2'-Et は P-gp の標的とならず高い細胞内濃度を維持し得た。この結果は、癌細胞の TAX 耐性克服に有用であり、さらに RaCES 発現 HSV アンプリコンで TAX に変換できたことから、prodrug virotherapy に利用にできる可能性が示唆された。

## 22-33 卵巣癌腹膜播種モデルマウスを用いたアレンドロネートの抗腫瘍効果の検討

大阪大<sup>1</sup>, 市立豊中病院<sup>2</sup>

橋本香映<sup>1</sup>, 澤田健二郎<sup>2</sup>, 森重健一郎<sup>1</sup>, 田原正浩<sup>1</sup>, 川岸里香子<sup>1</sup>, 清水彰子<sup>1</sup>, 坂田正博<sup>1</sup>, 田坂慶一<sup>1</sup>, 村田雄二<sup>1</sup>

【目的】 既に我々は in vitro において卵巣癌細胞株を用いてビスホスホネート製剤 (アレンドロネート) が癌細胞の接着、浸潤能を抑制することを示した。今回、in vivo におけるアレンドロネートの抗腫瘍効果について卵巣癌腹膜播種モデルマウスを作成し検討した。【方法】 Balb-c nu/nu マウスに卵巣癌細胞株 Caov3 を腹腔内注射し、翌日よりアレンドロネート (0.1, 0.5, 1 mg/kg/day) を腹腔内投与した。投与開始後5週目および7週目に解剖し、体重、腫瘍重量、腹水量を測定。また腫瘍組織像を観察した。【成績】 投与開始5週目におけるコントロール群およびアレンドロネート 1mg/kg/day 投与群の体重は各々 25.1 $\pm$ 1.6g, 24.0 $\pm$ 1.3g ( $p = 0.3$ )、腫瘍重量は 2.6 $\pm$ 0.4g, 0.6 $\pm$ 0.2g ( $p < 0.0005$ )、腹水量は 2.9 $\pm$ 0.9g, 1.7 $\pm$ 0.8g ( $p = 0.1$ ) であった。7週目における体重は 27.8 $\pm$ 1.0g, 22.7 $\pm$ 0.8g ( $p < 0.05$ )、腫瘍重量は 2.7 $\pm$ 0.1g, 0.4 $\pm$ 0.1g ( $p < 0.0005$ )、腹水量は 7.6 $\pm$ 2.4g, 1.1 $\pm$ 0.1g ( $p < 0.05$ ) であり、アレンドロネート投与により腹水量、腫瘍重量は各時期において有意に減少した。さらに組織像においてコントロール群に比べてアレンドロネート群では腫瘍の間質組織浸潤像が著明に抑制されていた。【結論】 卵巣癌腹膜播種モデルにおいてアレンドロネート投与により抗腫瘍効果が認められた。また、この抗腫瘍効果はアレンドロネートの投与量に依存のであった。

## 22-34 卵巣癌担癌マウスモデルにおける486/STOP Truncated IGF-I レセプターの抗腫瘍作用機序の解析

岡山大

本郷淳司, 中村洋二郎, 倉本博行, 中村圭一郎, 吉野内光夫, 児玉順一, 平松祐司

【目的】 我々は卵巣癌腹膜播種制御を目指し、truncated IGF-I レセプター (IGF-IR) である486/STOP を作成してヒト卵巣癌由来 CaOV-3細胞への抗腫瘍活性を示した。今回この作用機序を検討し、本法に期待されるバイスタンダー効果を得るための至適投与方法を in vivo で解析した。【方法】 486/STOP 過剰発現 CaOV-3クローンを樹立し、IGF-IR 下流の情報伝達変化を検討した。またバイスタンダー効果検討のため、486/STOP クローンと親細胞を各々の時間共培養し in vivo にて検討した。また486/STOP 組み換え蛋白を精製し、ヌードマウス皮下 CaOV-3腫瘍に対する抗腫瘍効果を検討した。【成績】 486/STOP 過剰発現にも関わらず IGF-IR 自己リン酸化や、下流の Erk, Akt 等のリン酸化に変化はなかった。486/STOP は内因性 IGF-IR と heterodimer を形成し、本来の情報伝達系とは独立してアポトーシスを惹起することが示唆された。486/STOP 発現細胞は in vivo では24時間以内にアポトーシスに陥ったが、共培養実験で有効なバイスタンダー効果を得るためには48時間以上を要した。一方486/STOP 組み換え蛋白接種によりヌードマウス皮下 CaOV-3腫瘍の増殖を抑制した。【結論】 486/STOP は内因性 IGF-IR と heterodimer を形成後、コンフォメーション変化により本来 IGF-IR C 末端が有するアポトーシスシグナルを惹起すると考えられた。また in vivo で有効なバイスタンダー効果を得るためには遺伝子導入法より組み換え蛋白投与がより有効であると考えられた。