



Title	ヌードマウスに移植したO6-アルキルグアニン修復酵素欠損ヒト癌細胞株のACNUによる選択的増殖抑制
Author(s)	藤尾, 誓
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35991
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	ふじ 藤	お 尾	ちかう 誓
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	8107	号
学位授与の日付	昭和63年3月25日		
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	ヌードマウスに移植した O^6 -アルキルグアニン修復酵素欠損ヒト 癌細胞株のACNUによる選択的増殖抑制		
論文審査委員	(主査) 教授 北村 旦		
	(副査) 教授 坂本 幸哉 教授 野村 大成		

論文内容の要旨

〔目 的〕

1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride (ACNU) はアルキル化抗腫瘍剤の1つで日本では臨床的に用いられている。作用機序としては、DNAのグアニンと反応して O^6 -クロロエチルグアニンを形成し、中間環状体を経たのち、時間の経過とともにDNA鎖間に架橋を形成し癌細胞を死に致らしめると考えられている。アルキル化剤によって生じる主要なDNA損傷である O^6 -アルキルグアニン (O^6 -AIG) は、 O^6 -AIG修復酵素 (アルキル転移酵素, ATR) によって修復される。ATRは上記の O^6 -クロロエチルグアニンも修復するので、結果的にACNUによる架橋形成を防止する。一方、樹立されたヒト癌細胞株のうち約20%の株はATR活性を持たず、Mer⁻株とよばれている。In vitro培養細胞レベルでのMer⁻株のACNUに対する致死感受性は、ATR活性を保持するMer⁺株に比べて遙かに高い。本研究では移植ヒト腫瘍のレベルにおけるMer⁺腫瘍とMer⁻腫瘍に対するACNUの増殖抑制効果 (抗腫瘍作用) を調べ、ヒトに発生したMer⁻形質を持つ腫瘍に対するACNUを用いた選択的化学療法の可能性について検討した。

〔方法ならびに成績〕

癌細胞株のATR活性は以下の方法で調べた。³H-メチルニトロソウレアを仔牛胸腺DNAと反応させた後、加熱して主要反応生成物であるN⁷-メチルグアニン等を除いて、80%以上の³Hが O^6 -メチルグアニンに含まれる基質DNAを調整した。培養細胞の粗抽出液をこの基質DNAと反応させて、酸不溶性タン白分画に移行した³Hの量を測定し、ATR活性とした。ACNUに対する細胞のin vitroでの感受性は、ACNU処理後のコロニー形成能によって判定した。ヌードマウスへの移植には、移植

生着率の高かった3種類のヒト癌Mer⁺株, すなわちHeLa S3 (子宮癌), MKN-28 (胃癌), HGC-27 (胃癌), および3種類のヒト癌Mer⁻株, すなわちHeLa MR (子宮癌), A1336 (卵巣癌), TCO-1 (甲状腺癌)を用いた。3種類のMer⁺株のATR活性は株間に差を認めたものの高い値を示し, またACNUの致死作用に抵抗性を示した。これに対して3種類のMer⁻株はいずれもATR活性を欠いており, ACNUの*in vitro*での致死感受性が極めて高かった。

培養系で増殖状態にあるMer⁺およびMer⁻株を集め, 1×10^7 個ずつヌードマウス背部皮下の左右に別々に移植した。1~2週間後, 腫瘤として触知できる時よりノギスで週3回体積の計測を行った。腫瘍が40~200mm³の体積に達した時よりACNUの投与を開始した。なお40mm³以下, 200mm³以上になっていた腫瘍は評価より除外した。ヌードマウスを無作為に4つの群に分け, 蒸留水に溶解したACNU 0 (生食水), 12.5, 25, 50mg/kgを週1回3週にわたって投与した。

コントロール (ACNU無投与) 群のMer⁺とMer⁻腫瘍は株によって倍化時間の違いはあったが, いずれも体積が1000mm³に至るまでは指数関数的に増殖した。12.5mg/kg $\times$ 3回投与群のMer⁺とMer⁻腫瘍はいずれもコントロールと大差ない増殖を示した。25mg/kg $\times$ 3回投与群のMer⁺腫瘍には全く増殖抑制がみられなかったのに対して, Mer⁻腫瘍は3株ともかなり強く増殖が抑制された。なかでもHeLa MR腫瘍は2/14で腫瘍が消失し, 組織学的レベルにおいても再発はなかった。50mg/kg $\times$ 3回投与群のMer⁺腫瘍のうち, HeLa S3, HGC-27ではやや増殖が抑制されたものの, MKN-28では無効であった。これに対し, Mer⁻腫瘍ではすべて極めて強い抗腫瘍効果がみられた。とくにHeLa MR腫瘍は全例 (9/9) において腫瘍の消失を認めた。

〔総括〕

Mer⁻の形質を持つヒト癌細胞に対して, ACNUは*in vivo*の移植ヒト腫瘍のレベルにおいても強い増殖抑制効果, すなわち抗腫瘍作用を示した。正常ヒト組織は臓器によってATR活性の多少はあれMer⁺の形質を持つと考えられている。従って, 以上の結果は, ヒトに発生した癌のうちMer⁻の形質をもつものは, ACNUによって選択的に治療できるという可能性を示した。

論文の審査結果の要旨

アルキル化剤による主要なDNA損傷, O⁶-アルキルグアニンの修復酵素活性の有無によって, 培養ヒト癌細胞株は酵素活性を有するMer⁺株と酵素活性を欠損するMer⁻株とに大別することができる。本実験では, Mer⁺株とMer⁻株とをそれぞれヌードマウスに移植し, アルキル化抗腫瘍剤ACNUに対する感受性を調べた。Mer⁺株に比べ, Mer⁻株はいずれもACNUによって著明に腫瘍の増殖が抑制される, すなわち, 高感受性を示すことを明らかにした。以前より正常ヒト組織はMer⁺形質を示すことが知られているので, この知見は, ヒトに発生するMer⁻腫瘍に対するACNUによる選択的化学療法の可能性を示すもので, 抗腫瘍化学療法の研究に寄与するものと考えられる。よって本論文は博士論文として価値あるものとする。