The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヌードマウスに移植した06ー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、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

【30】

氏名・(本籍)	藤尾誓（ふじお ちかう）
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－AlG）は，O^6－AlG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。^{3}Ｈ－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N^7－メチルグアニン等を除いて，80％以上の^{3}Ｈ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^{3}Ｈ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40～200㎣の体積に達した時よりACNUの投与を開始した。なお40㎣以下，200㎣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ACNU0（生食水），12.5，25，50㎎／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1000㎣に至るまでは指数関数的に増殖した。12.5㎎／kg×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。25㎎／kg×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。50㎎／kg×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，O^6－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考える。