



Title	ヒト口腔扁平上皮癌細胞のブレオマイシン（BLM）高感受性および低感受性株の分離と感受性に関する因子の解析
Author(s)	小倉，孝文
Citation	大阪大学，1991，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37244
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

【4】

氏名・（本籍）	お	ぐら	たか	ふみ
	小	倉	孝	文
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	9711		号
学位授与の日付	平成3年3月26日			
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	ヒト口腔扁平上皮癌細胞のブレオマイシン（BLM）高感受性および低感受性株の分離と感受性に関与する因子の解析			
論文審査委員	(主査) 教授 松矢 篤三 (副査) 教授 八木 俊雄 助教授 菅原 利夫 講師 杉本 朋貞			

論文内容の要旨

癌化学療法において、同一組織型の腫瘍であっても個々に抗癌剤感受性が異なったり、放射線や化学療法後に再発あるいは転移した腫瘍が、2次治療に対して極めて難治性であることがしばしば経験される。この現象は、一般的に腫瘍細胞集団の中に放射線や抗癌剤に耐性を示す細胞が存在あるいは出現するためと考えられている。当教室では以前より口腔扁平上皮癌とそれに選択的に著効を示す抗癌剤ブレオマイシン（BLM）を研究対象として、ヒト株化培養癌細胞に持続的にBLMを作用させることにより人為的にBLM耐性細胞を樹立し、その耐性機構を解析してきた。その結果、少なくともBLMの細胞膜透過性、BLM不活化酵素活性、細胞DNA修復能の3因子が多様に関与していることが明らかとなった。しかし、臨床で遭遇する口腔扁平上皮癌のBLM感受性にこれらの因子がどのように関与しているかは明らかでなく、またそれを解析するために必要な細胞もこれまで分離されていない。本研究では、口腔扁平上皮癌患者より得た臨床材料より、BLM高感受性および低感受性細胞株を分離し、そのBLM感受性に関与する因子の解析を行った。さらに低感受性株より分離した感受性および耐性クローンについても同様の解析を行い、BLM難治性腫瘍の出現機序について考察した。

実験には、口腔および上顎洞原発扁平上皮癌患者より得られた手術摘出または試験切除腫瘍組織片のうち、ヌードマウス移植により生着した8例を用いた。まず、ヌードマウスに形成された腫瘍のBLM感受性を調べると、それぞれ異なった感受性を示し、T/Cで18.8～111.9%に分布した。以上の腫瘍のうち、BLMに高感受性を示す腫瘍および低感受性を示す腫瘍より同様の増殖能を示す細胞株をそれぞれin vitroに分離し、SCCKNおよびSCCTFと名付けた。in vitroでのBLM感受性を調べると、SCCTFはSCCKNよりIC₅₀で7～10倍低感受性であり、この低感受性は70代継代培養後も安定

であった。さらに、SCCTFはSCCKNに比べ、BLM以外の抗癌剤であるペプロマイシン、マイトマイシンC、シスプラチン、ビンクリスチンに対しても2倍以上の低感受性を示した。そこで、SCCTFのBLM低感受性に関与する因子をSCCKNと比較することにより解析した。その結果、SCCKNに比べ、SCCTFでは ^3H -BLMの細胞内蓄積および停留率が20%低下していた。また、アルカリ溶出法で検討した細胞DNA修復能もSCCTFで有意に高く、DNA修復能に関与すると考えられているポリ(ADP-リボース)合成酵素活性は、BLM処理後、SCCTFでSCCKNの約2倍に上昇したが、高速液体クロマトグラフィーで測定したBLM不活化酵素活性にはほとんど差を認めなかった。

以上のことは、臨床材料より分離した腫瘍細胞株間のBLM感受性に関与する因子の解析を行ったものである。しかし一つの腫瘍塊を考えた場合、それを構成する細胞集団に細胞の不均一性が存在することがよく知られている。そこで両細胞株よりクローニングを行い、各細胞クローンにおけるBLM感受性を検討したところ、SCCKNに比べ、SCCTFのクローンにおいてBLM感受性に強い不均一性がみられた。同様の増殖能を示すBLM感受性クローンSCCTF-SとBLM耐性クローンSCCTF-Rを分離し比較すると、SCCTF-RはSCCTF-SよりBLMに9.5倍耐性で、ヌードマウス移植腫瘍も有意にBLM低感受性であった。また、SCCTF-Rの耐性機序は、 ^3H -BLMの細胞内蓄積および停留率の低下、DNA修復能およびポリ(ADP-リボース)合成酵素活性の上昇に加えて、BLM不活化酵素活性の上昇(約2倍)であることが明らかとなった。

SCCKNとSCCTFに対して、臨床での癌化学療法を想定した1つのin vitroモデルとして、0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のBLMで1週間ずつ非連続的に2回処理すると、SCCKNでは細胞が完全に死滅したが、SCCTFではBLM感受性が処理前より2.3倍低下し、BLM以外のペプロマイシンおよびシスプラチンに対しても約3倍感受性が低下していた。

本研究結果より、臨床材料から分離した扁平上皮癌細胞におけるBLM低感受性の主たる機序が、BLMの細胞内蓄積と停留率の低下、BLM不活化酵素活性の上昇、DNA修復能とそれに関与するポリ(ADP-リボース)合成酵素活性の上昇であることが結論された。また、細胞不均一性の強いBLM低感受性腫瘍にBLMを投与すると、耐性クローンの選択的増殖によって、BLMおよび他種抗癌剤に対して低感受性となる難治性腫瘍出現機序が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、臨床で遭遇する口腔扁平上皮癌のブレオマイシン(BLM)感受性に関与する機序を明らかにすることを目的として、臨床材料よりBLM高感受性および低感受性扁平上皮癌細胞株を分離し、諸因子について両者を比較しながら解析したものである。さらに低感受性株より分離した細胞クローンについても同様の解析を行ない、BLM難治性腫瘍の出現機序についても考察した。その結果、口腔扁平上皮癌細胞におけるBLM低感受性の主たる機序は、BLMの細胞内蓄積と停留率の低下、BLM不

活化酵素活性の上昇，DNA修復能とそれに関与するポリ（ADP－リボース）合成酵素活性の上昇であることが明らかとなった。また，細胞不均一性の強いBLM低感受性腫瘍にBLMを投与すると，耐性クローンの選択的増殖によって，BLMおよび他種抗癌剤に対して低感受性となる難治性腫瘍が出現する機序が示唆された。

本研究結果は，臨床で遭遇する口腔癌の治療に即座に適用しうるものではないが，口腔癌の抗癌剤感受性を考える上で，極めて興味あるものであり，今後の化学療法の改善や新たな抗癌剤の開発に重要な示唆を与えるものと言える。したがって，本研究者は歯学博士の学位を得る資格があるものと認める。