

ヒト腎がん細胞に対する抗がん剤の併用効果 ～抗がん剤の相乗効果は癌抑制遺伝子VHLの状態に依存するか～

神戸高校総合理学科 2 年

背景

腎細胞癌は**薬剤耐性の高い**癌であるため、現在の主な治療は手術による摘出である。その中で我々は体内で分泌され細胞死を司る物質**15-deoxy $\Delta^{12,14}$ Prostaglandin J2 (15d-PGJ2)**に着目した。副作用を減らすため低濃度で、かつ効率的に癌細胞を死滅させるために、抗がん剤と15d-PGJ2との**併用効果**を確かめた過去の実験で15d-PGJ2がDNA複製阻害剤である**トポイソメラーゼ阻害剤の効果を相乗的に**することがわかった。

我々は15d-PGJ2とその他の抗がん剤との相乗効果を確かめ、さらにその効果が細胞株の**癌抑制遺伝子 *vh*の状態に依存するか**どうかを確かめる実験を行った。*vh*は、癌の増殖を促進する遺伝子の転写を促進する遺伝子を分解することによって癌を抑制している遺伝子である。

実験材料および方法

●実験材料

細胞：ヒト腎細胞がん細胞caki-2

培養：RPMI1640培地 + 10%FBS(ウシ胎児血清)

薬品：

15-deoxy $\Delta^{12,14}$ prostaglandin J2(Cayman Chemicals, Italy)

微小管阻害薬 (TXL:Paclitaxel和光純薬)

分子標的薬(bor:Bortezomib和光純薬)(erl:Erlotinib和光純薬)

白金製剤 (CDDP:Cisplatin和光純薬)

ゲニステイン (gen:Genistein和光純薬)

代謝拮抗薬 (6MP:6-Mercaptopurine東京化成)

抗腫瘍性抗生物質 (BLM:Bleomycin東京化成)

mTOR阻害剤 (rap:Rapamycinフナコシ)

アルキル化薬 (CPA:Cyclophosphamideナカライテスク)

解析：MTTアッセイ

●方法

- ①CO₂インキュベーター内で37℃、CO₂5%で24h培養したcaki-2を、薬を含む培地に入れ、24h薬にさらす。薬剤濃度は以下のとおりである。

μ M	15d-PGJ2非存在下				15d-PGJ2(20 μ M)存在下			
	1	2	3	4	5	6	7	8
濃度条件	0	0.1	1	10	0	0.1	1	10

表1 抗がん剤と15d-PGJ2の濃度設定

- ②細胞の写真を撮影した後、MTTアッセイを行い、生存細胞率を測定する。

今後の展望

今回の結果では、15d-PGJ2と各抗がん剤との間に相乗効果を発見することはできなかった。以降は、**今までの実験**に加え、

- ①低濃度で高い細胞毒性を示した**微小管阻害薬(TXL)**と各種抗がん剤との併用効果の確認
- ②すでに相乗効果が確認されている**トポイソメラーゼ II 阻害剤**と15d-PGJ2を用いて**相乗効果が癌抑制遺伝子 *vh*の状態に依存するか**どうかを調べる実験

結果

抗がん剤と15d-PGJ2を左列の表1の濃度でヒト腎がん細胞Caki-2に投与し、24h後にMTTアッセイを用いて細胞生存率を測定した。その結果を下図1～3に示す。MTTアッセイの結果、抗がん剤単独で効果が見られたのはCPA,CDDP,bor,TXL,6MPであり、確認できなかったのは,gen,erl,rap,BLMであった。また、15d-PGJ2との併用によって、**相乗効果を示したものはなかった**。しかし、画像解析の結果、微小管阻害薬TXLは、15d-PGJ2との併用によって顕著な細胞毒性を示した。

※J-:15d-PGJ2あり J+:15d-PGJ2なし

※controlの生存細胞数を100%とする。

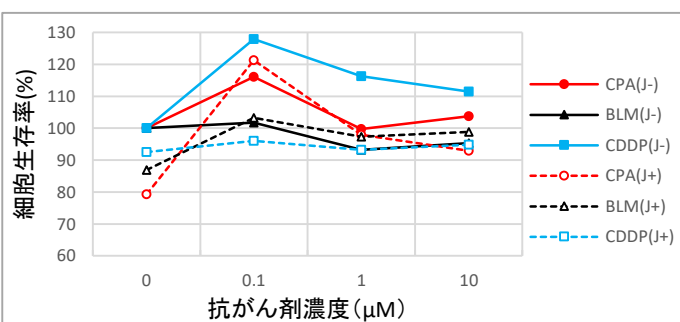


図1 細胞生存率 24 h 後 1

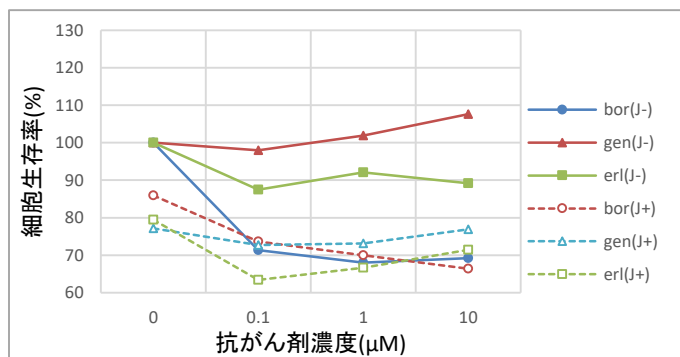


図2 細胞生存率 24 h 後 2

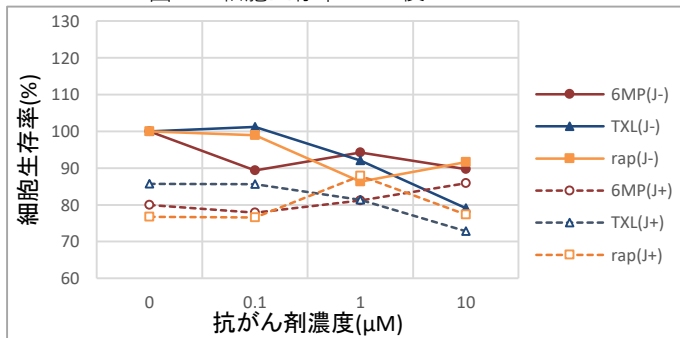


図3 細胞生存率 24 h 後 3

参考文献

- 1) Yamamoto et al., Synergistic effects of 15-deoxy $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J2 on the anti-tumor activity of doxorubicin in renal cell carcinoma, Biochemistry and Biophysics Reports 2405-5808
- 2) 腎がんのすべて (メジカルビュー社)
- 3) 今日の治療薬2010 解説と便覧 (南江堂)
- 4) 15デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジンJ2はトポイソメラーゼ II 阻害剤の抗癌作用を亢進する 神戸高校平成25年度課題研究