

ヒト腎がん細胞に対する抗がん剤の併用効果

兵庫県立神戸高校 総合理学科 2 年

I. 背景

腎臓がんは強い薬剤耐性を持つことが知られている。薬を高濃度・多量投与すればこれを克服できるが、人体への影響が無視できなくなる。そこで、我々は**低濃度・少量の抗がん剤で十分な効果を出す**ために、薬剤同士の併用による相乗効果に着目した。

平成 25 年度の課題研究で、内在性抗がん剤 **15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J₂**と、ある抗がん剤において相乗効果が確認された。私たちは、その研究での条件以外で、相乗効果を持つ抗がん剤の組み合わせを探す実験を行った。

II. 方法

研究方法

- ① ヒト腎細胞がん細胞 caki-2 を血清入り培地に移して 24h 培養した後、プレートに播種し、さらに 24h 培養する。
- ② 抗がん剤を培養した細胞に適用し、24h 後に抗がん活性を評価する(MTT アッセイ、画像解析)。

使用した薬剤

- **パクリタキセル (PTX)**・・・微小管を標的とする抗がん剤。
- **ボルテゾミブ**・・・分子標的薬 (プロテアソーム)
- **ブレオマイシン**・・・抗腫瘍性抗生物質
- **エルロチニブ、ゲニステイン、シスプラチン、メルカプトプリン、ラパマイシン、シクロホスファミド**
- **15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J₂ (15d-PGJ₂)**
・・・体内に存在する抗がん作用のある脂質で、アクチンを標的の一つとする。

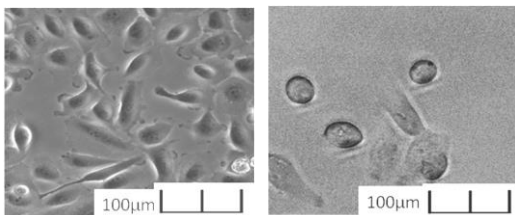
測定方法

● MTT アッセイ

試液のミトコンドリアにおける酸化還元反応による色の変化を利用し、吸光度計を用いて細胞のミトコンドリアの変質を測定する。

● 画像解析

抗がん剤の効果による細胞の変形に着目し、肉眼で変形した細胞数をカウントして細胞生存率を算出する。



左: 正常な caki-2
右: 変形した caki-2

図1 caki-2

IV. 考察と今後の実験方針

今回の実験では、15d-PGJ₂ やパクリタキセルと**相乗効果を持つ抗がん剤は確認できなかった**が、caki-2 において分子標的薬**ボルテゾミブ**が効果を示す最初の証拠を提供した。今後は、過去の課題研究で発見された **15d-PGJ₂** とトポイソメラーゼ阻害剤**ドキソルビシン**の相乗効果が、*vhl* 遺伝子の変異の有無に依存するかどうかを調べる実験を予定している。

V. 謝辞

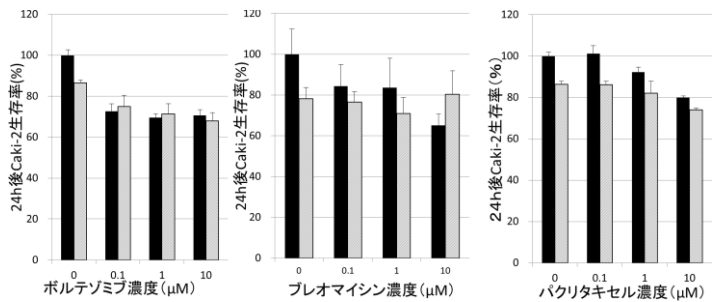
本研究を進めるにあたり、姫路獨協大学薬学部医療薬学科 生理学研究室の矢上達郎教授をはじめ、研究室の皆様にご協力を賜りました。心より御礼申し上げます。

また、兵庫県立神戸高校 野々村由教諭には一年を通して熱心にご指導頂きました。本当にありがとうございました。

III. 結果

15d-PGJ₂ と各種抗がん剤との併用

● MTTアッセイ



縦軸: 細胞生存率 横軸: 薬剤濃度(0,0.1,1,10µM) 黒系列: 15d-PGJ₂- 灰系列: 15d-PGJ₂+

図2 15d-PGJ₂ と各種抗がん剤の併用時における caki-2 生存率

● 画像解析

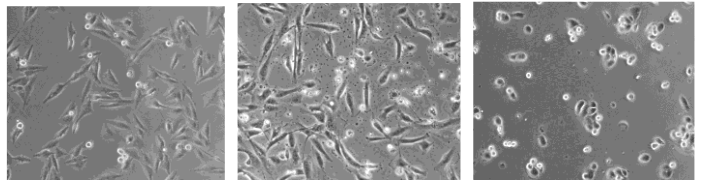
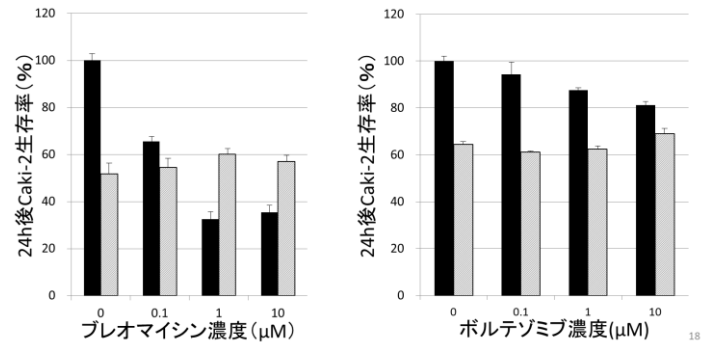


図3 各種抗がん剤単独適用時の caki-2 の形態変化

MTT アッセイにおいて、caki-2 で有意に抗がん活性を示した薬剤は**ボルテゾミブ・ブレオマイシン・パクリタキセル**の 3 種類であり、15d-PGJ₂ と相乗効果を示したものはなかった。

パクリタキセルと各種抗がん剤との併用

● MTTアッセイ



縦軸: 細胞生存率 横軸: 薬剤濃度(0,0.1,1,10µM) 黒系列: PTX- 灰系列: PTX+

図4 パクリタキセルと各種抗がん剤の併用時における caki-2 生存率

● 画像解析

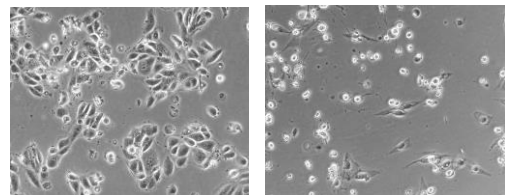


図5 パクリタキセルと各種抗がん剤の併用時における caki-2 の形態変化

上記の実験で、低濃度で安定した細胞毒性を示したパクリタキセルに着目し、ボルテゾミブ、ブレオマイシンと併用して抗がん活性を評価した結果、これらの組み合わせにおいて、相乗効果は確認されなかった。