

副作用低減の必要性

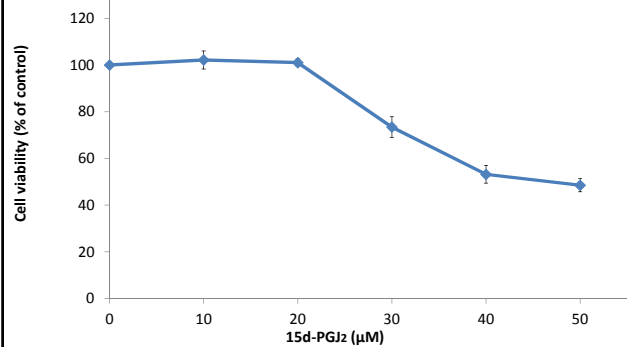
他の薬物と併用することで抗癌作用亢進

15デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J_2

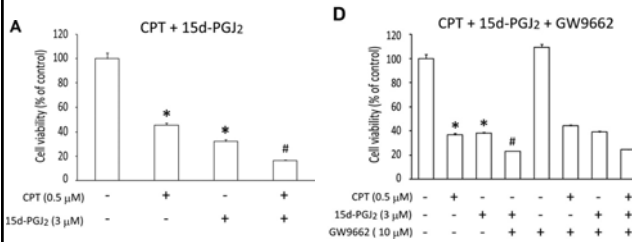
- 1) 内在性抗癌物質
- 2) 脂質代謝物で尿中に存在
- 3) 腎癌細胞に対する抗癌作用
- 4) トポイソメラーゼII阻害剤(カンプトテシン)の抗癌作用亢進

トポイソメラーゼII阻害剤の抗癌作用亢進?

15d-PG J_2 単独で効果あり(20 μ M以降)

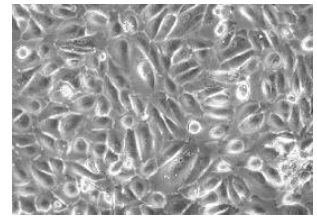


15d-PG J_2 はCPTの抗癌活性を亢進



実験概要① 用いた腎癌細胞

英名・Caki-2



1日目
抗癌剤適用

2日目
3日目
抗癌活性を評価

由来・ヒト腎癌
由来種・ヒト
由来組織・腎臓
組織・淡明細胞型

参考文献・J.Nat.CancerInst.49:5(1977)

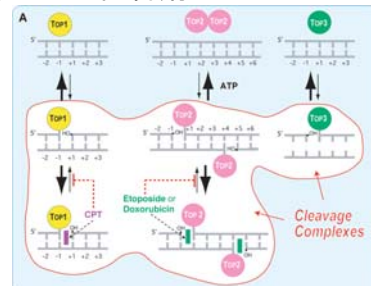
実験概要② 適用した抗癌剤とそのターゲット

- ・VP-16(エトポシド)
→トポイソメラーゼII
- ・DOX(ドキシソルビシン)
→トポイソメラーゼII
- ・15d-PG J_2
→PPAR γ ,トポイソメラーゼII



実験概要② 適用した抗癌剤

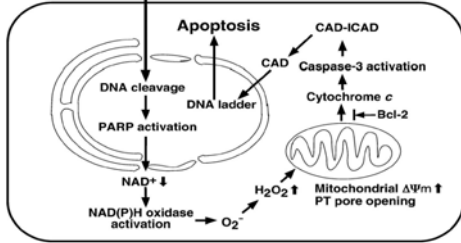
- ・VP-16(エトポシド)
トポイソメラーゼII阻害剤



実験概要② 適用した抗癌剤

・DOX(ドキソルビシン)

→トポイソメラーゼ II
TAS-103

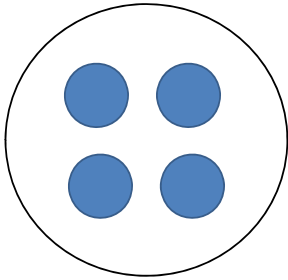


実験概要③ 抗癌活性指標

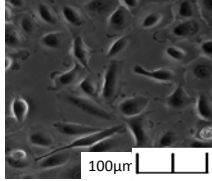
指標	変性を示す部位
MTT	ミトコンドリア
クロマチン凝集	クロマチン
PI染色	細胞膜
カスパーゼ活性	酵素

実験概要③ 抗癌活性指標

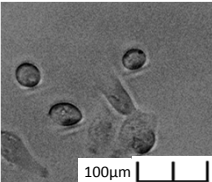
1. 顕微鏡観察



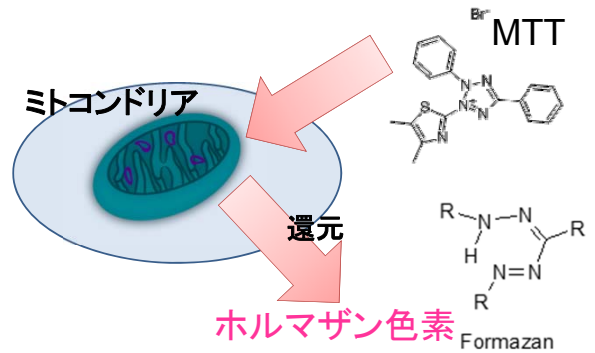
生細胞



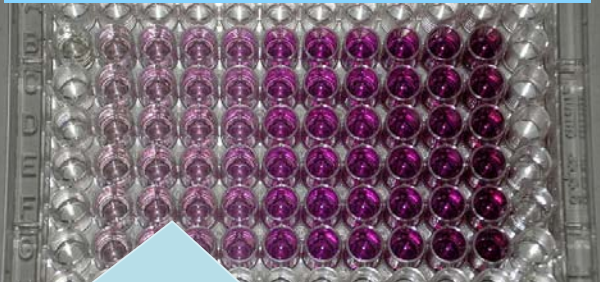
変性細胞



実験概要③ 抗癌活性指標

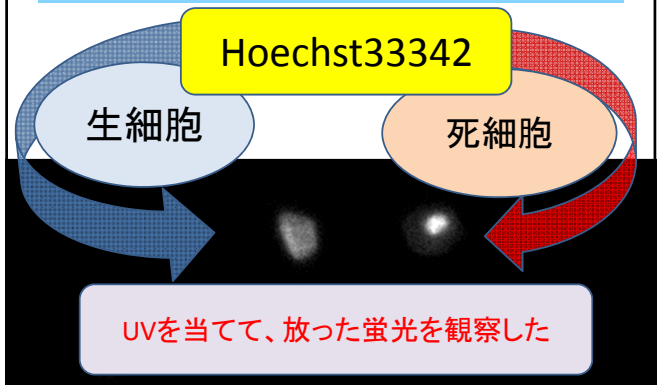


実験概要③ 抗癌活性指標



少ない ← 生細胞数 → 多い

実験概要③ 抗癌活性指標



クロマチン凝集

•細胞をHoechst33342 (生細胞内に取り込まれ、UVで蛍光を発する物質)で染色してから、UV照射下で蛍光顕微鏡で観察し、写真を撮って核が蛍光を放っている細胞の割合を出す

実験概要③ 抗癌活性指標

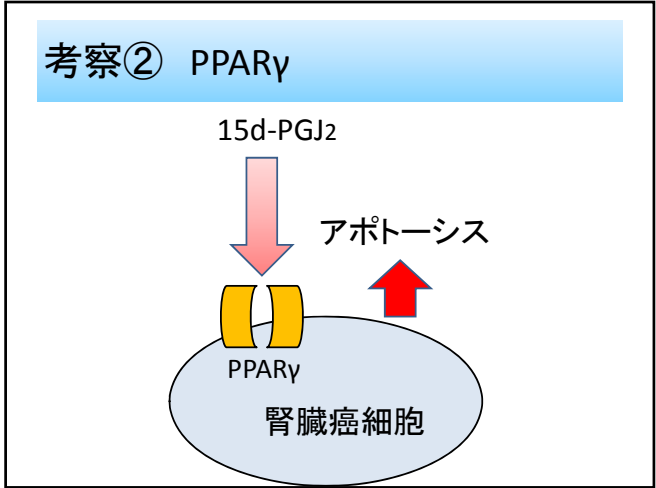
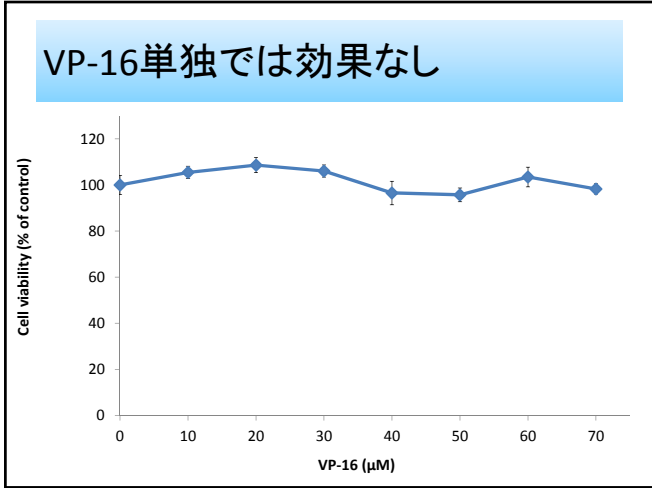
死細胞、生細胞の数を数え
死細胞の割合を算出

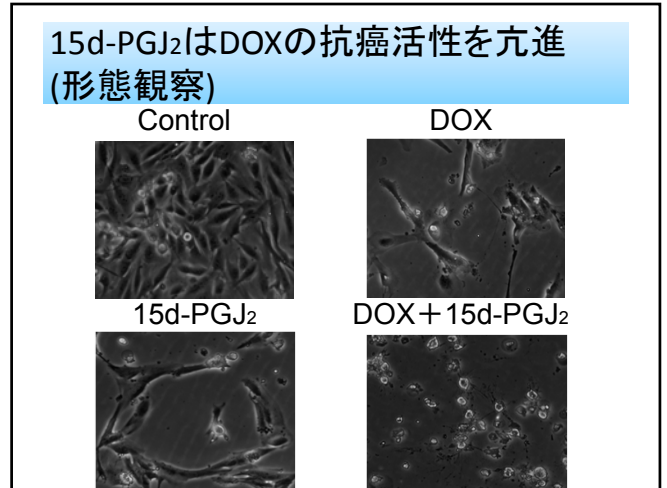
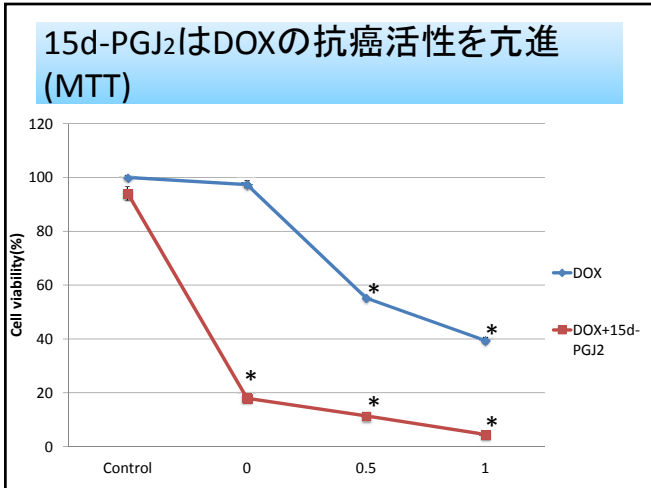
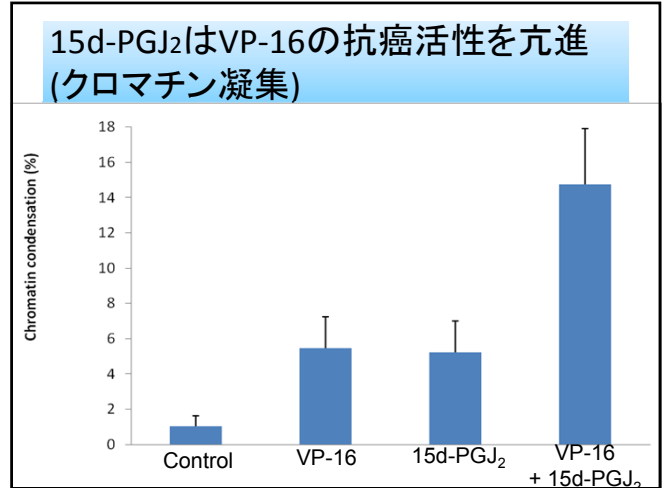
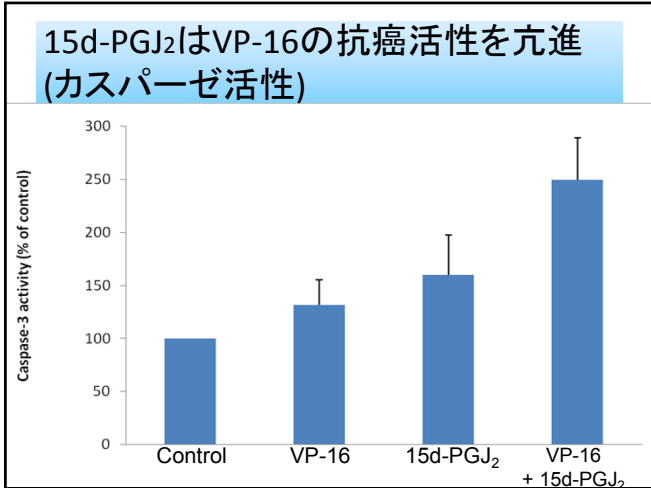
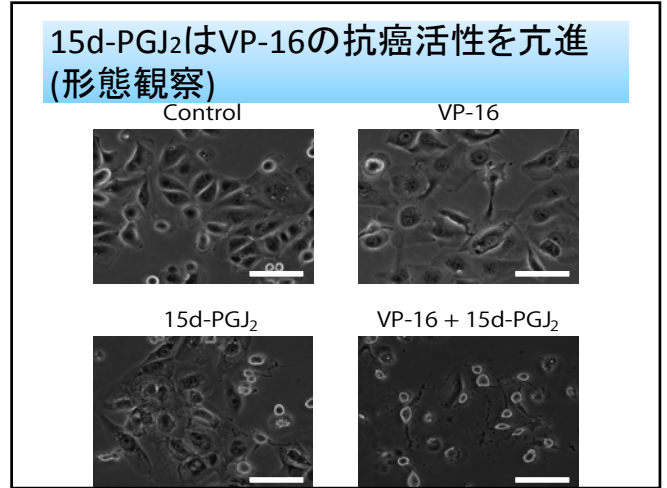
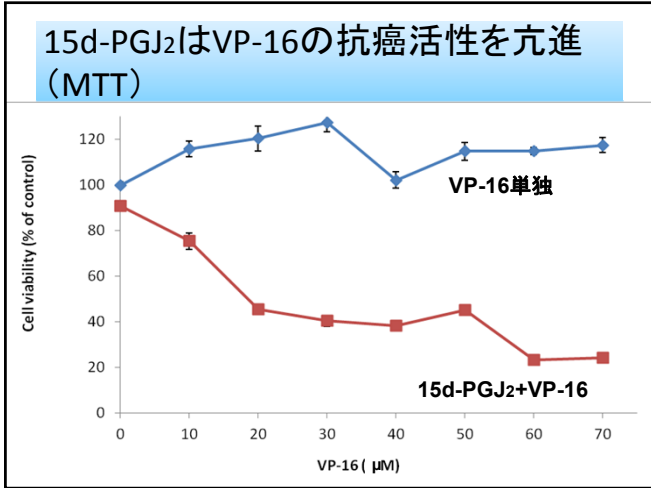
実験概要③ 抗癌活性指標

蛍光核酸染色色素

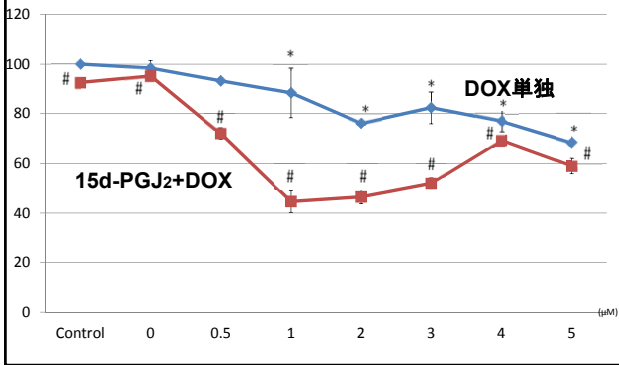
死細胞のみ赤色蛍光

実験概要③ PI染色の原理

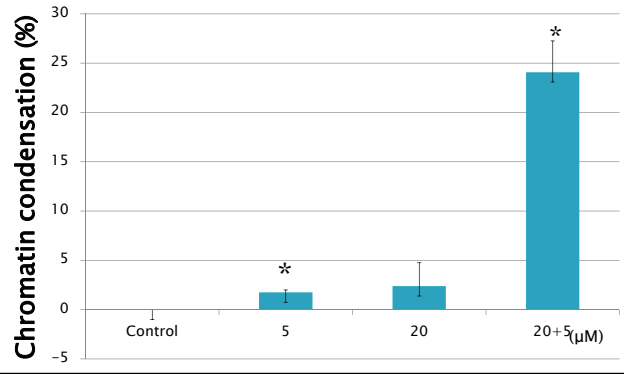




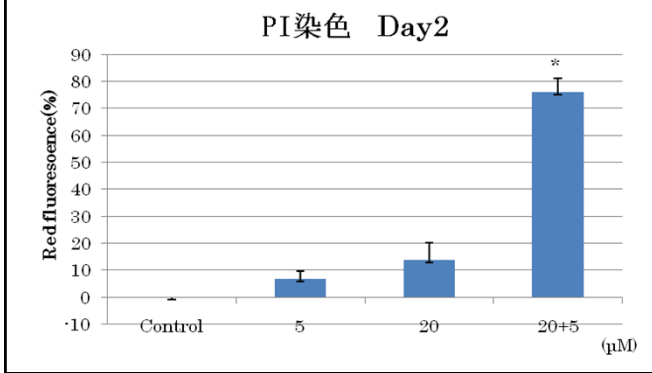
15d-PGJ₂はDOXの抗癌活性を亢進
(形態観察)



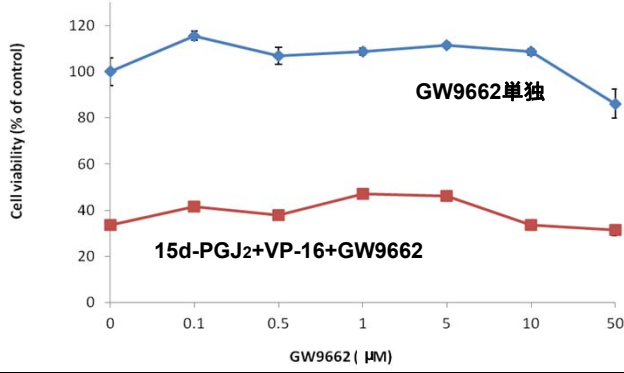
15d-PGJ₂はDOXの抗癌活性を亢進
(クロマチン凝集)



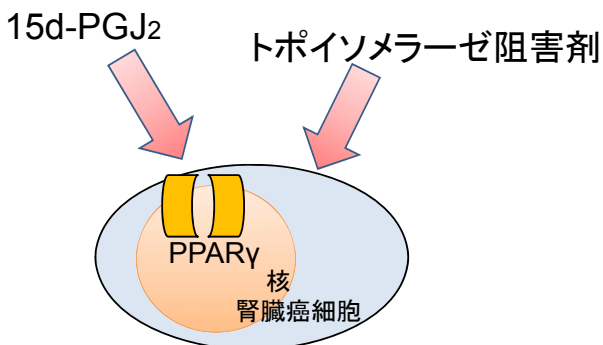
15d-PGJ₂はDOXの抗癌活性を亢進
(PI染色)



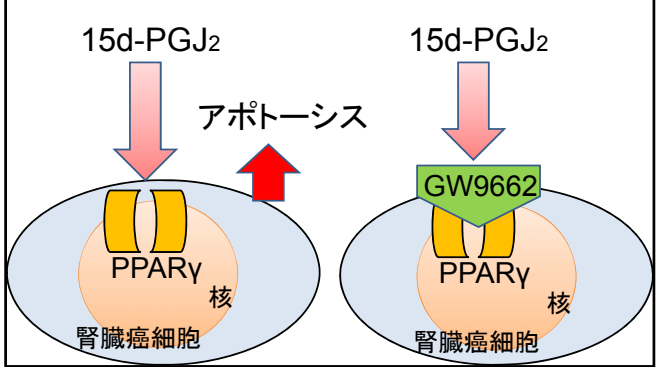
GW9662の保護効果はみられなかった
(MTT)



考察① 併用効果の仕組み



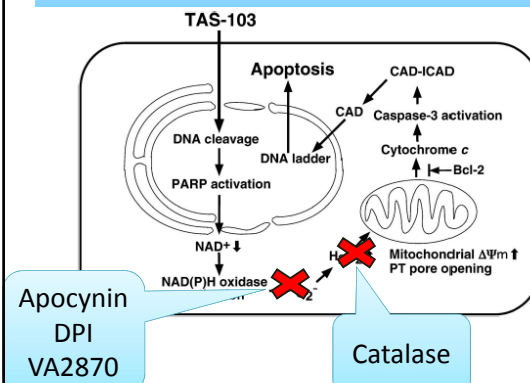
考察② PPARγのはたらき



今後の実験方針

- 1) DOXのカスパーゼ活性・GW9662との併用
- 2) Catalase, VAS2870, DPI, Apocynin(抗酸化剤)の使用
- 3) 15d-PGJ₂のターゲットの特定

今後の実験方針



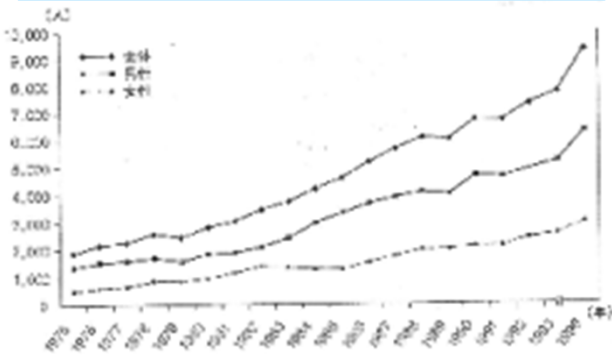
15d-PGJ₂のターゲット

謝辞

今回の研究を進めるにあたり、私達の実験に協力して頂いた姫路獨協大学薬学部矢上教授と、矢上研究室の方々に心より感謝申し上げます。

ご清聴ありがとうございました

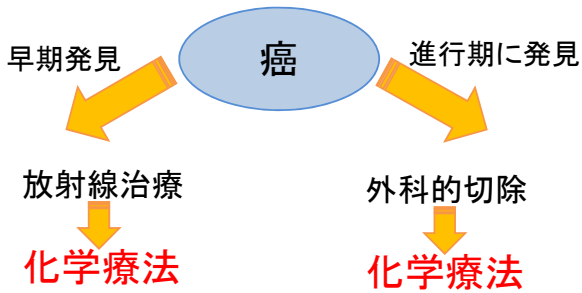
背景① 腎癌増加傾向



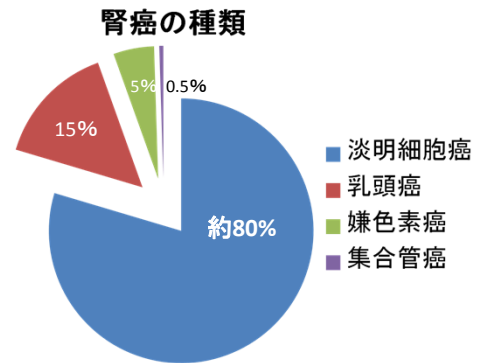
このようなプレートのそれぞれの穴に腎癌細胞を一定の細胞数になるよう入れ、様々な濃度の抗癌剤を適用する



背景① 化学療法の位置付け



背景② 腎癌概要抵抗性症状等



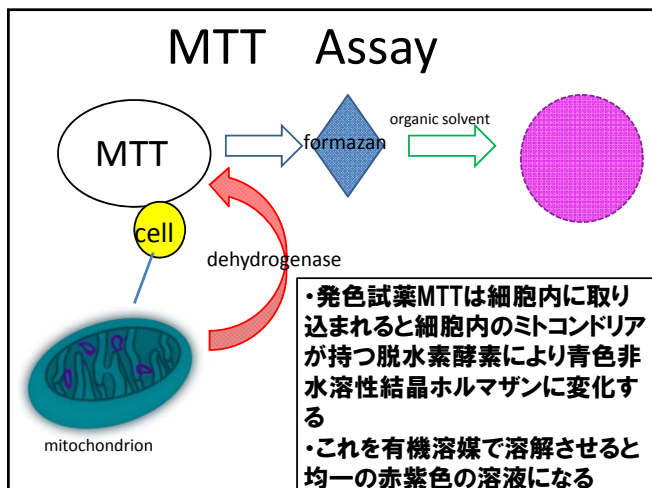
背景② 腎癌の病理所見

腎癌細胞	発生由来	病理所見
淡明細胞癌	近位尿細管	黄色・偽皮膜・出血壊死
嫌色素細胞癌	遠位尿細管	淡褐色
乳頭状腎細胞癌	近位尿細管	淡～茶褐色
集合管癌	集合管癌	灰白色・髄質近傍
オンコサイトーマ	遠位尿細管	茶褐色・中心部癥痕

Caki-2 補足

淡明細胞癌

光顕的に細胞質が明るい腫瘍細胞として見える。



各種抗癌剤の適用癌

5FU	CPT	VP16
胃癌	胃卵巣癌	
肝臓癌		
結腸癌	結腸卵巣癌	
直腸癌	直腸卵巣癌	
乳癌	乳卵巣癌	
膵臓癌		
子宮頸癌	子宮頸癌	子宮頸癌
子宮体癌		
卵巣癌	卵巣癌	
	小細胞肺癌	小細胞肺癌
	非小細胞肺癌	

抗がん剤の作用機序

- **VP-16 (エトポシド)**
トポイソメラーゼ II 阻害剤
- **CPT (カンプトテシン)**
トポイソメラーゼ I 阻害剤
- **5-FU (5-フルオロウラシル)**
代謝拮抗剤

アポトーシス・ネクローシス

個体をより良い状態に保つために積極的に引き起こされる、管理・調節された細胞の自殺プログラムされた細胞死→アポトーシス

血行不良、外傷などによる細胞内外の環境の悪化によって起こる細胞死→ネクローシス

参考論文

15-Deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 enhanced the anti-tumor activity of camptothecin against renal cell carcinoma independently of topoisomerase-II and PPAR γ pathways.

[Yamamoto Y](#), [Fujita M](#), [Koma H](#), [Yamamori M](#), [Nakamura T](#), [Okamura N](#), [Yagami T](#).

Source

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Himeji Dokkyo University, 2-1, Kami-ohno 7-Chome, Himeji, Hyogo 670-8524, Japan.

Abstract

Renal cell carcinoma (RCC) is chemoresistant cancer. Although several clinical trials were conducted to explore effective medications, the chemoresistance of RCC has not yet been conquered. An endogenous ligand for peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ), 15-deoxy- Δ (12,14)-prostaglandin J(2) (15d-PGJ(2)), induces apoptosis in RCC. Here, we examined synergistic effects of several carcinostatics on the anti-tumor activity of 15d-PGJ(2) in **Caki-2 cell** line by MTT assay. A topoisomerase-I inhibitor, camptothecin (**CPT**), exhibited synergistically toxicity with 15d-PGJ(2), but neither **5-fluorouracil** nor cisplatin did. The combination of 15d-PGJ(2) and a **topoisomerase-II inhibitor**, doxorubicin, did not cause synergistic cell growth inhibition. The synergistic effect of topoisomerase-I and II inhibitors was not also detected. A PPAR γ antagonist, GW9662, did not prevent Caki-2 from undergoing 15d-PGJ(2)-induced cytotoxicity. The treatment of CPT combined with 15d-PGJ(2) activated caspase-3 more than the separate treatment. These results suggest that 15d-PGJ(2) exhibited the anti-tumor activity synergistically with CPT independent of topoisomerase-II and PPAR γ .

Copyright © 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.

副作用の検証実験

副作用の検証はインビトロとインビボで行えます。

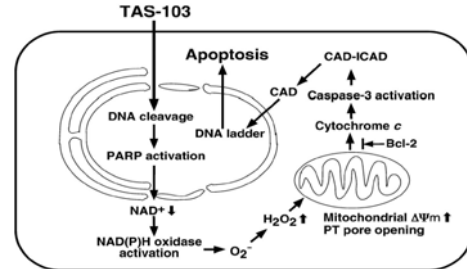
インビトロなら、IC50値が正常細胞よりも癌細胞で高濃度なら副作用が起きる可能性が高まります。

インビボなら、実際にモデル動物に投与し、種々のパラメーターで確認することになります。

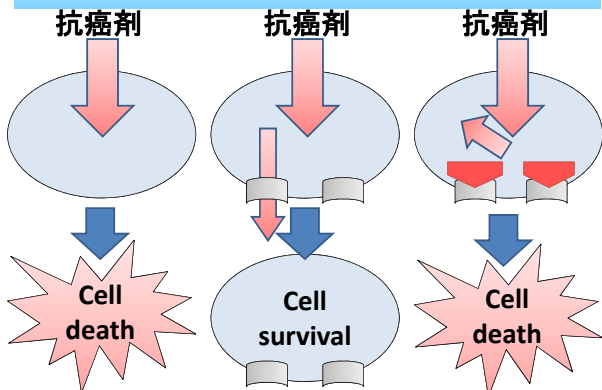
実験概要② 適用した抗癌剤

・DOX(ドキシソルビシン)

→トポイソメラーゼ II



MDRの仕組み



血管新生とは・・・

癌細胞は1mm以上の大きさになると栄養を得るため、あるいは老廃物を排泄するために血管を必要とする



血管新生因子を産出し、自ら血管を誘導する

日本薬理学雑誌2013.vol141 No1 日本薬理学会

まとめ

血管新生阻害薬は直接的に癌細胞に作用するのではなく、微小環境に影響を与えて間接的に抗腫瘍効果を発揮する



インビトロ(生体外)では不適である

日本薬理学雑誌2013.vol141 No1 日本薬理学会

背景④腎臓癌について 問題となっていること

インビボ(生体内)、臨床において
化学療法が有効でないこと

背景①「癌細胞」と「癌」

「癌細胞」

→遺伝子変異により自律的な制御が利かなくなった細胞

「癌」という疾患

- 浸潤、転移を起こす悪性腫瘍
- 無治療のままなら死に至る
- 日本では毎年30万人を超える方々が癌で亡くなっており死因の第1位

抗癌剤にはいくつも種類があるの？

抗癌剤

…分裂速度が速い細胞に対し

様々な働きをして細胞の分裂を阻害し細胞が自死してゆくのを待つ



結果的に対象とされた細胞が減る