B-49 シスプラチン耐性肺癌細胞特異的
にみられる核蛋白質の性状

国立がんセンター研究所 薬効試験部
○竹田雄一郎、西尾和人、杉本芳一、大森亨、森岡俊彦、藤原康弘、西條隆宏

我々は昨年にシスプラチン耐性ヒト肺癌細胞 PC-9/CDDP
に特異的にみられる核リン酸化蛋白質を報告した。その
蛋白質の性質に関する研究をここに述べる。

PC-9/CDDP 細胞でみられ、その親株 (PC-9) で認められ
ない核リン酸化蛋白質は 32 kD 及び 20 kD の分子量をも
ち、両蛋白質は Comassie 及び銀染色法では同定できない
minor protein と考えられた。2次元電気泳動において 32 k
D の蛋白質の pI は約 4.5 であった。これらの 2 級の核蛋白
質のリン酸化レベルは 12h のシスプラチンとの接触に
より濃度依存性に増加した。しかしシスプラチン自体
にキナーゼ活性は認められず、その蛋白質の増加は蛋
白質の増加によるものと考えられた。またプロトロン
ホスファターゼ 抑制剤の投与により 20 kD の蛋白質の
リン酸化は時間依存性に増強され、この蛋白質はホス
ファターゼの基質であると考えられた。これらの結果
よりこれらの核リン酸化蛋白質はシスプラチンの細胞
毒性及び耐性機構に関わる可能性があると推定した。

B-50 ヒト肺腺における多剤耐性遺伝子MDR1の発現
長崎大学第内科1、長崎市立市民病院内科2、
佐世保市立総合病院内科3
○広瀬清人1、岡 三喜男1、坂本 晃1、原 耕平1
福田正明2、中野正心3、荒木 潤3、浅井貴宏3

【目的】MDR1は抗癌剤多剤耐性形質を担う遺伝子であ
り、エネルギー依存性薬物輸送ポンプとして働く P 蛋
白をコードしている。今回、ヒト肺腺の薬剤耐性に
おけるMDR1遺伝子の意義を検討する。

【対象と方法】当院または関連施設にて、外科的に切
除された原発性肺腺 55例（腺癌 31例、扁平上皮癌 20例、
大細胞癌 2例、小細胞癌 2例）を用い、ヒト肺腺のMDR1
mRNAの発現を解析した。方法は、新鮮細胞標本を
Guainidine thiocyanate/CsCl法により全RNAを抽出し、
MDR1 cDNAの下流域 2 2 kb をブロープとして、ドット
プロット法で解析した。陽性コントロールとして多剤
耐性細胞株 KB 8 5、陰性コントロールとして薬剤感受
性細胞株 KB 3 1 を用いた。

【結果】現在までの検討では、程度の差はみられるも
ので、55例中 14例（腺癌 8例、扁平上皮癌 3例、大細胞癌
2例、小細胞癌 1例）のMDR1 mRNAの発現が陽性であった。
その内 2例（腺癌 1例、扁平上皮癌 1例）では、KB 8 5と
同等あるいはそれ以上のレベルの発現がみられた。今
後、さらに症例を増やすと共に、臨床データとの解析
を加え報告する。

B-51 RT-PCR法による肺腺のMDR1遺伝子
mRNA発現の検討
岡山大学第1外科
○中島 明1、岡山浩弘1、川真田 修1、井上文之1、
上川康明2、平川憲一2、福本和生2、大山正史2、
中谷 祥2、折田薫2

肺癌症例を対象に、抗癌剤に対する耐性に関与してい
る多剤耐性遺伝子MDR1 mRNAの発現をRT-PCR法を用いて
検査した。

【対象と方法】対象は、非小細胞肺癌切除例19例（腺癌
12例、扁平上皮癌 4例、大細胞癌 3例）で、副腫を陽性
コントロールとした。方法は、新鮮細胞のlobeを用い
GTC-CsoCl法にてRNAを抽出し、逆転写酵素を用いてcDNAとして、
PCR 法によりMDR1の21エクソンと22エクソンにまたが
る領域 15bpの幅を経た了。電気泳動後エチジウム
プロマイド（EtBr）染色にて幅を有無を判定し、ド
ットプロットにて蛋白質を定量した。

【結果】副腫、etBr染色にて 15bpの幅が認め
られ、ドットプロットで強陽性を示した。肺癌症例
では、etBr染色にて約40％の症例に淡いバンドが認め
られた。一方、dot blot法ではetBr染色で蛋白
質が認められなかった症例において、ほぼ全例に弱い
ながら増幅産物が検出された。MDR1の発現が強いとい
われる大腸癌症例から、RT-PCR法により全例、肺癌症
例よりも明らかに強い発現を認めた。また、組織型
臨床病期とPCR産物量との関係は認められなかった。

B-52 原発性肺癌化学療法施行例における多剤耐性遺伝子
子産物（P-glycoprotein）の発現
日本医科大学呼吸器科
○久保田章司1、星川明彦1、谷口泰之1、仁井谷久豊

【目的】近年多剤耐性遺伝子の発現が報告された、その遺伝子産
物P-glycoprotein（P-gp）は、抗癌剤を細胞外へ排出
する輸送機能を有し、耐性のメカニズムの一つとして
注目されている。また臨床的にも、白血病、乳癌、内腫
の化学療法耐性例での発現が報告されている。今回我
々は、前回に続き、原発性肺癌、特に化学療法施行
例におけるP-gpの発現と臨床データを検討した。

【対象と方法】当院呼吸器科で1988年から 1991年まで
に入院加療され、病理組織切片を用いた46例を対象とした。
組織型の内訳は小細胞癌7例、扁平上皮癌9例、腺癌25
例、大細胞癌5例であった。対象症例の検査標本をP-gp
の抗体 mdr (Ab-1) 及び MRK-16を用いてABC法
で免疫染色し、その染色性により陽性、陰性、陽性と
3段階に評価した。【結果】mdr (Ab-1) 及び MRK-16
の両染体の染色性に相関を認めた。最終化学療法の効果
とこれらの抗体の染色性の関係を検討すると、最終化学療
法の non-responder は responder に比べ、有意に陽性率が
高かった。原発巣と転移巣の染色性を検討すると、ほぼ
同じ染色性を示した。小細胞癌の1例は原発巣陽性、
転移巣陰性で、明らかに異なる染色性であった。臨床データ
とともに報告する。【結論】P-gpは原発性肺癌にか
ける抗癌剤耐性に関与し、これらの抗体を使用した免疫
組織化学が肺癌の化学療法に応用される可能性がある。