

学位授与番号	医博乙第1206号
学位授与年月日	平成4年11月4日
氏名	安竹秀俊
学位論文題目	ヒト骨肉腫培養細胞におけるシスプラチン投与後のDNA損傷からの回復現象とカフェインによる抑制
論文審査委員	主査 教授 富田勝郎 副査 教授 佐々木 琢磨 教授 正印 達

内容の要旨および審査の結果の要旨

ヒト骨肉腫培養細胞におけるシスプラチン投与後のDNA損傷からの回復現象の発現と、これに対するカフェインの阻害作用、およびその作用機序について検討した。骨肉腫細胞を定常状態にまで培養してからシスプラチンを投与し、その後低栄養状態の培養液で培養しておく、シスプラチン投与後すぐにコロニーを形成させたものと比較して、時間の経過とともにコロニー形成率の上昇が見られた。またこのとき細胞毒性のない濃度である1mMのカフェインを低栄養状態の培養液に加えて培養すると、時間依存性にコロニー形成率の著明な減少が見られた。細胞周期の変動を調べると、シスプラチン投与後は24時間後まで徐々にS期の蓄積が見られ、その後G₂/M期の蓄積に変わり、さらに72時間まで低栄養状態で培養すると、しだいにこの蓄積は解除され回復現象を示す結果が得られた。しかしカフェインを投与しておくことと始めのS期の蓄積は見られずG₂/M期の蓄積が見られ、時間が経過するとこの蓄積は増加し回復現象は認められなかった。一方シスプラチン投与後のDNA合成について調べると、チミジンの取り込みはシスプラチン投与後24時間まではコントロールの約25%に抑制されるが、カフェインの投与下では抑制は有意に減少した。オートラジオグラフィで細胞当たりのDNA合成を比較しても、シスプラチン投与後カフェインを加えておくこととグレイ数はシスプラチン単独と比べて有意に増加していた。シスプラチン投与後のDNA結合プラチナ量を調べると、投与後12時間までにプラチナ量は急激に減少しその後徐々に減少していくが、カフェインの投与下でも同様にプラチナ量は減少した。したがってカフェインは骨肉腫細胞のDNA除去修復には直接影響しないと考えられた。

以上から骨肉腫培養細胞をシスプラチン投与後、低栄養状態に保つことにより生存率の回復現象が見られたが、カフェインの投与によってその回復現象が見られないだけでなく、シスプラチンによる殺細胞効果が相乗的に増強されることが示された。作用機序としては、シスプラチンによって障害を受けた細胞はS期においてDNAの合成遅延をきたすが、カフェインを投与することによりDNAの合成遅延は起こらず、障害をもつ鋳型のうえで相対的にDNA合成が促進され、その結果、細胞障害が致死的になる、と考えられた。

以上、本研究は骨肉腫の化学療法における新しい耐性克服の手段として、シスプラチンとカフェインの併用投与が有効であることを示した価値ある労作と考えられた。