

氏名(本籍)	にし で けん	西出健(茨城県)
学位の種類	博	士(医学)
学位記番号	博乙第	997号
学位授与年月日	平成6年4月30日	
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当	
審査研究科	医学	研究科
学位論文題目	MTT Assay による子宮体癌の有効薬剤選択に関する研究	
主査	筑波大学教授	医学博士 大川 治 夫
副査	筑波大学教授	医学博士 阿 部 帥
副査	筑波大学教授	医学博士 小 磯 謙 吉
副査	筑波大学教授	薬学博士 後 藤 勝 年
副査	筑波大学教授	医学博士 小 山 哲 夫

## 論 文 の 要 旨

### 〈研究の目的〉

従来子宮体癌は子宮癌全体の5%を占めるに過ぎなかったが、近年増加の一途をたどり15~20%を占める現状になっている。これに伴い術後化学療法あるいは手術不能癌に対して標準的に行われて来たCAP療法(Cyclophosphamide, Adriamycin, Cisplatinによる)が満足すべき効果を持たないことが問題とされるようになった。子宮体癌には放射線療法は有効でなく、また従来の化学療法の効果も期待出来ないとすれば新しい治療法が必要となる。

このような現状を打破するべく、本研究では子宮体癌に対するより有効な化学療法のレジメンを開発することを最終目標とし、その第1段階としてin vitroでの子宮体癌細胞のMTT Assayによる抗癌剤感受性検査を行い、有効薬剤の選択のための検討を行った。

### 〈材料と方法〉

使用した細胞株はヒト子宮体癌から樹立されたHEC-1, HEC-50B, HEC-59, HEC-88, Ishikawaの5株である。

対象とした抗癌剤は以下のごとき24種類である。

ACR, ADM, THP-ADM, DM, EPI, Act-D, BLM, PEP, MMC, NCS, CPM, DTIC, MCNU, MTX, 5-FU, Ara-C, VCR, VLB, VDS, ETP, CDDP, CBDCA, 254-S, L-ASP

single cell suspensionとして癌細胞を96穴マイクロプレートに分注し(1,000cells/well), 3日間培養して細胞を定着させた後、各種濃度に調整した抗癌剤を含む培地に交換して薬剤接触を開始した。薬剤濃度は原則として0.01~10 $\mu$ g/mlの9濃度、接触時間は、1, 3, 6, 12, 24, 48, 72時間の7

作用時間として所定の接触が終了した well は洗浄の後、再び薬剤を含まない培地と交換して培養を継続し、細胞播種後 7 日目に残存生細胞酵素活性を指標とする NTT 法で測定した。薬剤の有効性はヒトの最大投与量投与時の血中濃度-時間曲線下面積 (area under the curve, AUC) を指標とした。即ち今回の検討では、ある薬剤の効果は時間と濃度の積に比例するという前提から AUC と IC<sub>50</sub> 値 (50% 阻止濃度) を比較した。ある細胞株において、ある接触時間 T<sub>i</sub> (hr) で IC<sub>50</sub> 値 [μg/ml] が得られ、IC<sub>50</sub>(t<sub>i</sub>) · t<sub>i</sub> ≤ AUC(t=0→∞) [μg · hr/ml] (i = 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72) が少なくとも 1 つの作用時間 (t<sub>i</sub>) において成立する時、その薬剤はその細胞株に対して有効であると判定した。

#### 〈結果と考察〉

子宮体癌細胞株 5 株に対し、少なくとも 1 株以上で判定基準を満たし、有効と見做された薬剤は、ACR, ADM, THP-ADM, Act-D, NCS, ETP, CDDP, 254-S の 9 剤であった。このうち 3 株以上に有効で、子宮体癌に対し広い有効性が認められたのは、ACR, THP-ADM, Act-D, ETP, CDDP の 5 剤であった。特に ACR と CDDP は 5 株すべてに有効で、子宮体癌に普遍的に有効な薬剤である可能性が示された。

細胞から見た薬剤感受性は細胞の組織分化度により差が見られ、従来予後不良とされてきた低分化型腺癌の方が薬剤感受性は良好であった。

前述のごとく、薬剤の有効性はヒト最大耐用量 (MTD) 投与時の AUC と in vitro での IC<sub>50</sub> 値と接触時間の積を比較して判定したが、この基準は細胞周期に非特異的に作用する薬剤の判定には有用であった。

また VLB の薬剤感受性検査を MTT Assay で行う際、VLB が細胞の succinic dehydrogenase 活性を上昇させてしまう作用があるため、正確な生細胞数を反映しない結果が出現することがこの研究で明らかになった。

以上より子宮体癌に対する化学療法は CAP 療法にかわり組織分化度も考慮した新しいレジメンが出来るものと期待される。

## 審 査 の 要 旨

従来子宮体癌に対しては有効化学療法剤の選択に関する本格的な研究が行われていなかったが、西出氏はヒト子宮体癌から樹立された 5 細胞株を用いて in vitro での膨大な抗癌剤感受性検査としての MTT Assay を行い、その結果を論文としてまとめた。ここで 9 剤の子宮体癌に対する有効薬剤が確認されたが、癌の組織分化度との関係も明らかにしたので、近い将来高分化型と低分化型をわけた上で CAP 療法に代わる新しいレジメンが確立し応用されるものと期待出来る。もちろん次のステップとしての in vivo での有効性確認試験がこれから必要となる。

十分な予備実験のもとに実験条件が設定されており、有効な検査が行われていることが確認出来た。今回得られた研究成果は薬剤感受性検査の研究として大きく貢献することが期待される。

以上より本論文は博士 (医学) 論文として十分なものと判定する。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。