

中村洋一 論文内容の要旨

主論文

Gefitinib ('Iressa', ZD1839), an EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor, Reverses Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2)-mediated Drug Resistance.

{ ゲフィチニブ('Iressa', ZD1839)は、Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2)を介した腫瘍細胞の薬剤耐性を克服しうる }

Yoichi Nakamura, Mikio Oka, Hiroshi Soda, Ken Shiozawa, Megumi Yoshikawa, Akiko Itoh, Yoji Ikegami, Junji Tsurutani, Katsumi Nakatomi, Takeshi Kitazaki, Seiji Doi, Hisahiro Yoshida, and Shigeru Kohno

Cancer Research, 2005, 65, February 15.

長崎大学大学院医学研究科新興感染症病態制御学系専攻
指導教授：河野 茂教授

緒言

Gefitinib ('Iressa', ZD1839)は、Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitorとして臨床応用が始まった抗癌剤であり、肺癌を対象とした最初の分子標的薬でもある。このGefitinibは、既存の抗癌剤と併用した場合、動物実験レベルにおいて相乗効果を発揮することが知られているが、その効果はEGFRの発現に必ずしも関連しないことも知られており、その機序については未だに不明な点がある。一方で、腫瘍細胞上には、様々な薬剤排出ポンプが発現し、それらが腫瘍細胞の薬剤感受性に大きく関与することが知られている。そこで、今回我々は薬剤排出ポンプのひとつであるBreast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2)の機能に対しGefitinibの及ぼす影響を調べることで、既存の抗癌剤とGefitinibの併用下における相乗効果の出現するメカニズムを明らかにすることとした。

方法

使用した細胞は、ヒト肺小細胞癌由来のPC-6とそのSN-38耐性株でBCRP/ABCG2が強発現しているPC-6/SN2-5、ヒト乳癌細胞由来のMCF-7とそのmitoxantrone耐性株でBCRP/ABCG2が強発現しているMCF-7/MX、およびMCF-7にBCRP/ABCG2の遺伝子を導入してBCRP/ABCG2を発現させたMCF-7/clone8

を用い、それぞれの細胞の抗癌剤に対する感受性がGefitinib併用下でどのように変化するかを調べた。また、実際にそれぞれの細胞の薬剤排出能が阻害されているか否かを明らかにするため、各細胞のGefitinib併用下でのTopotecan排出能の変化をFluorescence Activated Cell Sorting (FACS) scanを用いて解析した。そして、この排出阻害のメカニズムを明らかにするため、PC-6/SN2-5細胞の反転細胞膜を用いて作成した小胞 (Vesicles) 内へのTopotecanの取り込み実験を行うこととした。

結果と考察

培養の結果、各耐性細胞において、BCRP/ABCG2の基質であるTopotecan、SN-38、Mitoxantrone、Doxorubicinの感受性はGefitinib併用下で親株レベルにまで改善したのに対して、Vincristine、EtoposideといったBCRP/ABCG2の基質でない薬剤に対する感受性はGefitinib併用の影響を受けなかった。また、FACS scanを用いたTopotecanの細胞外への排出解析実験において、各耐性細胞で濃度依存性にTopotecanの細胞外への排出が阻害されているのが確認された。これらより、GefitinibはBCRP/ABCG2の薬剤排出機能を阻害することが示唆された。また、Vesicles内へのTopotecanの取り込み実験を行って、GefitinibのBCRP/ABCG2に対する直接の影響を見ることとした。Vesicles内にTopotecanの取り込みがあるということはTopotecanのBCRP/ABCG2による能動輸送が行われたことを意味し、反対に取り込みがないときはその能動輸送が阻害されてしまったことを意味する。本実験において、Gefitinib存在下でTopotecanは濃度依存性に取り込みが阻害され、かつその輸送阻害パターンは拮抗阻害型であり、Gefitinibが直接BCRP/ABCG2の作用を阻害していることが示唆された。一方で、同VesiclesへのGefitinibの取り込みを測定したが、Gefitinibの取り込みはまったく確認されなかった。これはGefitinibがBCRP/ABCG2の基質ではないことを意味する。一方で、先に述べたようにGefitinibのBCRP/ABCG2阻害作用は拮抗阻害型であり、BCRP/ABCG2による能動輸送を直接阻害している。つまり、Gefitinibは、BCRP/ABCG2の機能を直接阻害するにもかかわらずBCRP/ABCG2の基質ではない、ということになる。

結語

Gefitinibは、BCRP/ABCG2の機能を直接阻害するにもかかわらずBCRP/ABCG2の基質ではない、ということが明らかになった。この実験で、なぜGefitinibがBCRP/ABCG2の機能を阻害できるのか、ということは明らかにできなかった。ここについては、将来的な課題であるが、いずれにせよ、Gefitinibは抗癌剤としてだけでなく、効果的なBCRP/ABCG2阻害剤としての臨床応用の可能性が示唆された。