


2002年度日中医学協会共同研究等助成事業報告書

—在留中国人研究者研究助成—

2003年3月8日

財団法人 日中医学協会
理事長 殿

研究者氏名 王 宏 生 
所属機関名 大阪大学大学院小児発達医学
指導責任者氏名 和佐勝史
職 名 助教授
所 在 地 大阪府吹田市山田丘2-2
電話 (06) 68793753 内線 _____

1. 研究テーマ ヒト神経芽細胞腫 cell line において、抗癌剤 および IGF-IR 抗体 (αIR3) の併用により apoptosis が促進される

2. 本年度の研究業績

(1) 学会・研究会等における発表 有 ・ 無 (学会名・演題)

第39回外科代謝栄養学会

ヒト神経芽細胞腫 cell line において、抗癌剤 および IGF-IR 抗体 (αIR3) の併用により apoptosis が促進される

(2) 学会誌等に発表した論文 有 ・ 無 (雑誌名・論文名)

ヒト神経芽細胞腫 cell line において、抗癌剤および IGF-I receptor 抗体 (α IR3) の併用により apoptosis が促進される

研究者氏名	王 宏生
中国所属機関	中国北京医院普通外科
日本研究機関	大阪大学大学院医学系研究科小児発達医学
指導責任者	助教授 和佐勝史
共同研究者	清水義之

要 旨

Insulin-like growth factor I (IGF-I) および IGF-II は IGF-I レセプター (IGF-IR) を介して癌細胞の増殖を促進し、抗癌剤により誘導される癌細胞の apoptosis を抑制する。実験的に担癌動物に IGF-IR 抗体を投与した場合、癌の増殖が抑制されることより、IGF-I, IGF-II/IGF-IR system の癌治療への応用が注目されている。しかし、IGF-IR と抗癌剤との併用による癌細胞増殖抑制効果に関してはいまだ明らかではない。われわれは抗癌剤に IGF-IR 抗体を併用すると抗癌剤単独投与に比し、より強い抗腫瘍効果を発揮すると仮定し、小児の代表的な固形腫瘍である神経芽細胞腫の cell line を用いて、IGF-IR 抗体と抗癌剤との併用効果を細胞増殖の面より検討した。同時に、その作用機序を apoptosis の面より検討した。抗癌剤を IGF-IR 抗体と併用した場合、それぞれの単独投与に比し、細胞増殖が有意に抑制され、apoptosis の発見は著明に増加した。抗癌剤投与にて細胞膜の IGF-IR 量は非投与群に比し増加した。抗癌剤と IGF-IR 抗体と併用により見られた腫瘍増殖抑制効果は、apoptosis 促進作用を介して発揮されると考えられ、本治療法の臨床応用の可能性が示された。

Key Words 抗癌剤、IGF-IR 抗体、apoptosis

緒 言

神経芽細胞腫は小児固形腫瘍のなかで最も頻度の高い悪性腫瘍である。治療は外科的治療、化学療法、放射線療法によるが、進行例では治癒率は 30%前後と不良である。IGF-I および IGF-II は IGF-IR を介して癌細胞の増殖を促進する¹。実験的に IGF-IR 抗体の投与により癌細胞の増殖が抑制されることより²、本剤の癌治療への応用が注目されている。しかし、IGF-IR と抗癌剤との併用による癌細胞の増殖抑制効果に関してはいまだ明らかではない。本研究の目的は、抗癌剤と IGF-IR 抗体を併用することで、それぞれの単独投与に比較して、癌細胞増殖抑制効果を有するかどうか、またそのメカニズムを検討することである。

対象と方法

ヒト神経芽細胞の cell line として SK-N-SH を用いた。培養液は 10% FBS、2 mM グルタミンを含んだ DMEM を用い、5% CO₂、95% Air、37°C の条件下で培養した。抗癌剤として cisplatin (Cis) と doxorubicin (Dox)、IGF-IR 抗体として α IR3 を用いた。抗癌剤投与量の決定には、細胞を 1×10^5 cells/ml (100 μ l/well) の密度で 96-well tissue-culture plate に植え、24 時間後に Cis (0.2, 1, 5, 25 μ g/ml) または Dox (0.01, 0.05, 0.1, 0.25 μ g/ml) を投与し、72 時間後に MTT 法で細胞数を測定した。同じ方法で、正常の細胞増殖の約 50% を抑制した Cis (1 μ g/ml)、または Dox (0.01 μ g/ml) に α IR3 (0.5 μ g/ml) を投与し、1, 2, 3 日後に細胞数を測定した。抗癌剤投与 48 時間後の apoptosis、細胞膜の IGF-IR 量の変化は flowcytometry を用いて測定した。

結果

図1は抗癌剤の濃度が細胞増殖に及ぼす影響である。1 $\mu\text{g/ml}$ の Cis、または 0.01 $\mu\text{g/ml}$ の Dox は正常の細胞の増殖の約 50%を抑制した。

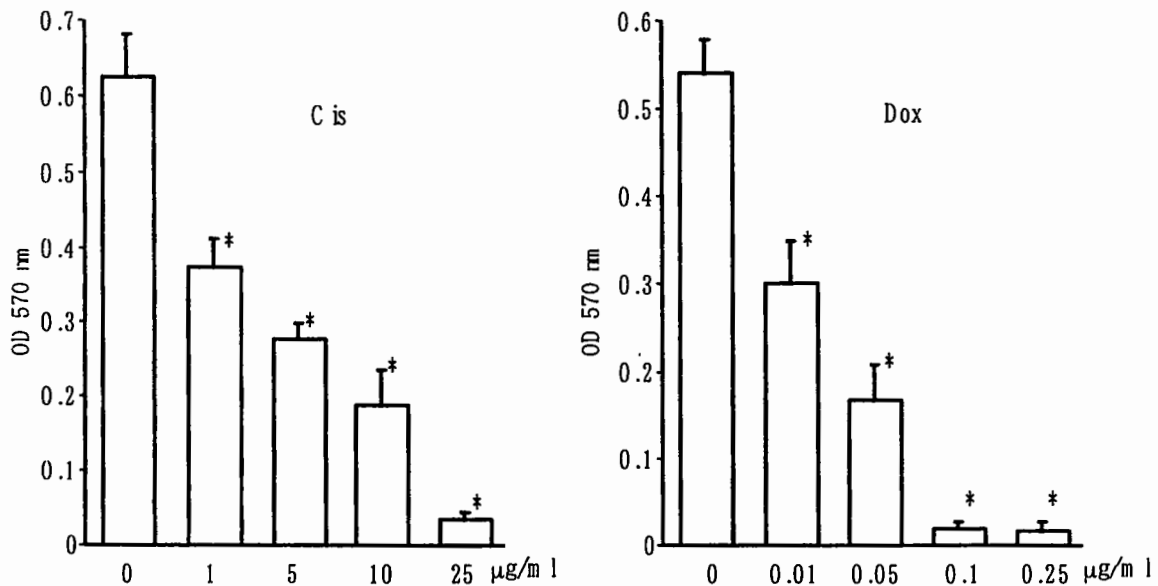


図1.抗癌剤のdose-dependency。* $P < 0.001$ vs control。

図2は細胞増殖の time course である。抗癌剤または αIR3 単独投与群では、投与2、3日目で control に比し有意に低下した。抗癌剤と αIR3 併用群では、投与3日目において、それぞれの単独投与群に比し、細胞増殖が有意に抑制された。

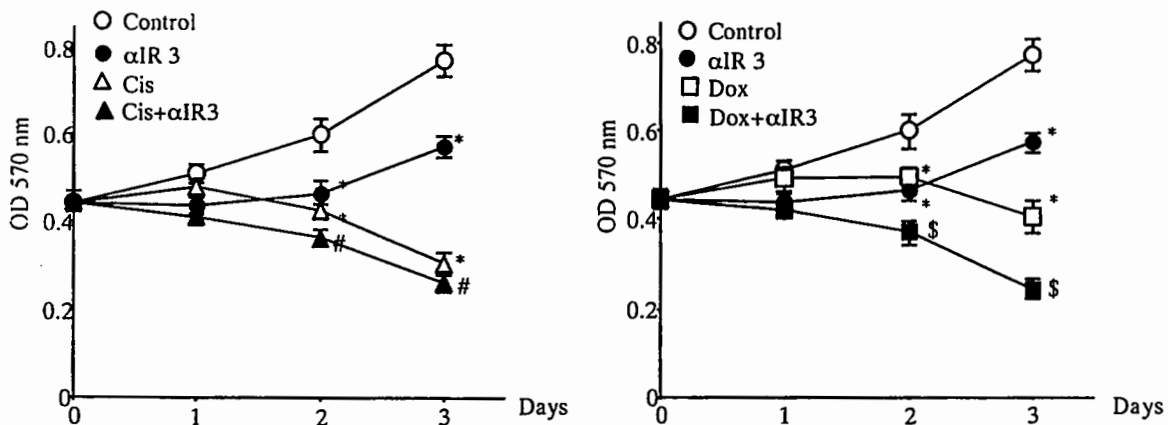


図2.細胞増殖の time course。* $P < 0.001$ vs.control、# $P < 0.05$ vs.Cis、\$ $P < 0.001$ vs.Dox。

図3は抗癌剤および αIR3 投与48時間後の apoptosis の発現である。 αIR3 単独投与群の apoptosis 増加は認めなかった。抗癌剤と αIR3 併用群の apoptosis は Cis が 13%から 34%、Dox が 17%から 39%と抗癌剤の単独投与群に比し著明に増加した。

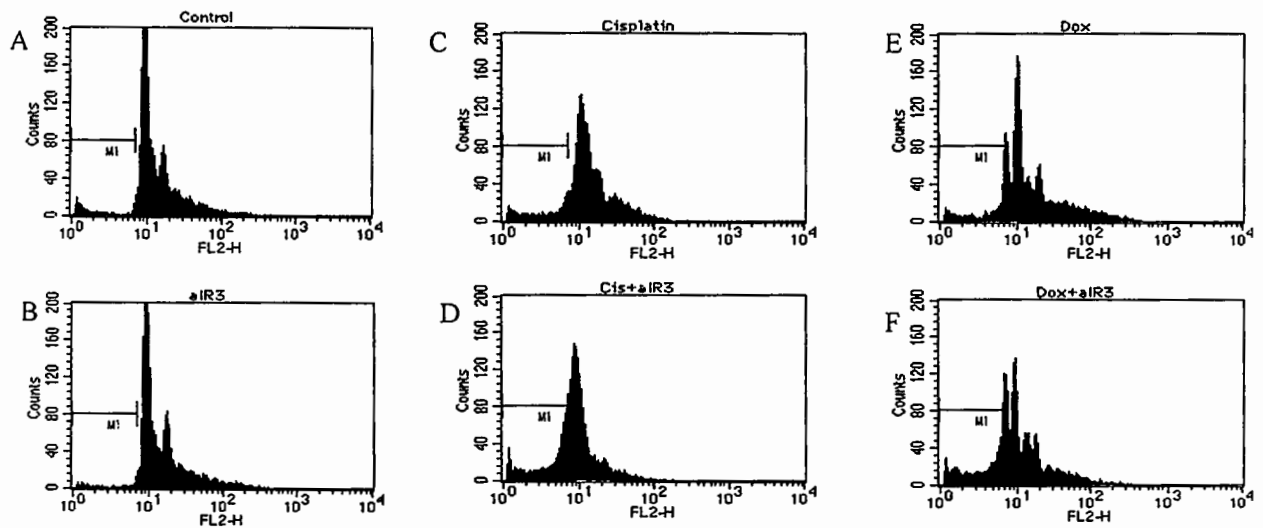


図3.抗癌剤および α IR3がapoptosisに及ぼす影響。

図4は抗癌剤が細胞膜のIGF-IRに及ぼす影響を示す。抗癌剤投与によりIGF-IR量は非投与群に比し増加した。

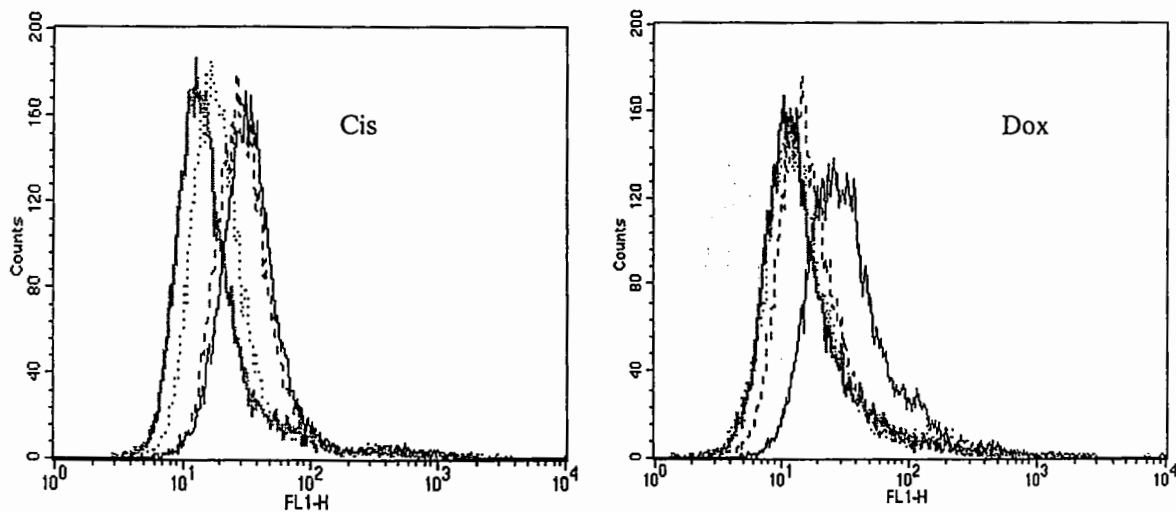


図4.抗癌剤の細胞膜IGF-IRに及ぼす影響。

表1.抗癌剤の細胞膜IGF-IRに及ぼす影響(蛍光の強さmean)

Cis	iso-control	control	0.2 μ g/ml	1 μ g/ml	5 μ g/ml
mean	7.1	22.42	31.09	42.59	45.46
Dox	iso-control	control	0.002 μ g/ml	0.01 μ g/ml	0.05 μ g/ml
mean	7.1	22.42	23.43	30.96	47.74

考察

抗癌剤と α IR3を併用した場合、それぞれ単独投与に比較し、より強い腫瘍増殖抑制作用を持つことが明らかとなり、この機序の一つとしてapoptosis促進作用が考えられた。

参考文献

1. Martin DM, Singleton JR, Meghani MA, et al. IGF receptor function and regulation in autocrine human neuroblastoma cell growth. Regul Peptides 1993; 48:225-32.
2. Liu X, Turbyville T, Fritz A, et al. Inhibition of insulin-like growth factor I receptor expression in neuroblastoma cells induces the regression of established tumor in mice. Cancer Res 1998;58:5432-8.

注：本研究は 2002 年 7 月 5 日「第 39 回日本外科代謝栄養学会」にて口演発表。

作成日： 2003 年 3 月 1 日