

氏 名	田 篤 政 郎 た し ま ま さ ろ う
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 博 第 570 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	制癌剤 1,3-bis (2-chloroethyl) —1-nitrosourea の抗腫瘍機 序の検討 —DNA合成に与える影響—

論文調査委員 (主査) 教授 沼 正 作 教授 吉 田 修 教授 内 野 治 人

### 論 文 内 容 の 要 旨

近年多数の抗腫瘍剤が開発され、化学療法は、癌治療において重要な位置を占めている。しかし大部分の抗腫瘍剤は、生物学的な方法によって発見されることが多く、多剤併用療法が主流の最近の癌化学療法の立場からは、個々の抗腫瘍剤の作用機序が併用剤を決定する上で重要なポイントのひとつとなっている。ニトロソウレア化合物は抗腫瘍剤として古くから用いられ重要な位置を占めているにもかかわらず、その抗腫瘍効果の本態は必ずしも明確ではない。本研究に於ては、抗腫瘍性ニトロソウレア化合物の代表である 1,3-bis (2-Chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU) の作用機序を組織培養 L-1210 細胞を用いて検討すると同時に、DNA repair 欠損大腸菌株を使用して BCNU の殺細胞効果の本態を明確にした。まず L-1210 細胞の核酸代謝に及ぶ BCNU の影響を  $^3\text{H}$ -thymidine 及び  $^3\text{H}$ -uridine の酸不溶性分画への取り込みを指標として検討したところ本薬剤は  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度までは選択的に DNA 合成のみを阻害することが明らかとなった。L-1210細胞の酸可溶性分画への  $^3\text{H}$ -thymidine の取り込み及びその deoxythymidine nucleotide への転換率の検討の結果 BCNU は細胞内への thymidine の取り込み及び dTTP への転換は阻害しないことが判明した。次に L-1210 細胞を  $^3\text{H}$ -thymidine 存在下に培養することにより DNA を標識し BCNU の DNA 鎖に及ぶ影響をアルカリ性蔗糖勾配遠心法を用いて検討したところ L-1210 細胞を BCNU  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度で60分処理しても DNA 鎖の沈降パターンに control との間に有意の差が認められずこの濃度の BCNU は L-1210 細胞の DNA 鎖を切断あるいは alkali-labile bond を生成しないと思われた。L-1210 細胞における新生 DNA 鎖伸長をアルカリ性蔗糖勾配遠心法により検討した。L-1210 細胞の新生 DNA は最初に約 5 S の short DNA が合成され順次 30 S, 70 S の size を経て、100 S 以上の大きさに伸長していくことがわかった。BCNU の新生 DNA 鎖伸長に与える影響をこの系を使って検索した。5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  15分の BCNU で処理した細胞では 5 S から 30 S の大きさの short DNA fragment の比率が control に比して増加し、それより大きい DNA の減少をみた。又 BCNU は、DNA が 70 S から 100 S 以上の大きさへ elongation する step には影響を与えなかった。従って本薬剤は DNA 鎖伸長

を初期の段階で阻害すると考えられる。BCNU 等のアルキル化剤が DNA 鎖の base を修飾し DNA のアルキル化を生ずるといふこれまでの多くの検索結果を考案すると、我々の結果は BCNU の殺細胞効果の重要部分が BCNU による base のアルキル化、新生 DNA 鎖伸長の阻害その結果としての DNA 合成の阻害により惹起されることを示唆していると思われる。

次に 2 種類の DNA repair 欠損大腸菌を使って BCNU が直接 DNA 鎖に作用するかどうかを検討した。BCNU に対し repair 欠損大腸菌は wildtype の大腸菌より有意に高い感受性を示した。この結果は BCNU が大腸菌 DNA に直接作用して DNA 損傷を与えることを示している。

上記の L-1210 細胞及び大腸菌を用いた検索結果から、BCNU は DNA 鎖に作用して DNA 損傷を引き起こし、その結果新生 DNA 鎖伸長が阻害されて、DNA 合成の低下をきたすと考えられ、これが、BCNU の抗腫瘍作用の重要な原因と思われる。

### 論文審査の結果の要旨

抗腫瘍性ニトロソウレア化合物の代表である 1,3-bis (2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU) の作用機序を明らかにするため、組織培養 L-1210 細胞及び DNA repair 欠損大腸菌株を使用して検討した。BCNU は 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度までは L-1210 細胞における DNA 合成を選択的に阻害するが、thymidine の細胞内への取り込みおよび、dTTP への転換は阻害しなかった。又アルカリ性蔗糖勾配遠心法により、BCNU の親 DNA 鎖に対する影響を検討したが、10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、60 分の処理では DNA 鎖の切断もしくは alkali-labile bond の生成は認められなかった。BCNU の新生 DNA 鎖伸長に対する影響を、アルカリ性蔗糖勾配遠心法を用いて検索した所 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  15 分の処理で 5 S から 30 S の大きさの short DNA の比率が増加していた。又 DNA repair 欠損大腸菌は wild type の菌より BCNU に感受性が高かった。以上より BCNU は DNA 鎖に作用して DNA 損傷を引き起こし、その結果新生 DNA 鎖伸長の阻害、DNA 合成の低下をきたし、抗腫瘍作用を示すものと推定した。

以上の研究は癌化学療法が多剤併用の開発に貢献し、癌治療に寄与するところが多い。

したがって本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。