

氏 名	笹 田 昌 孝 ささ た まさ たか
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 499 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 3 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	Studies on Mechanism of Action of Neocarzinostatin in Leukemic Leukocytes (白血病細胞におけるネオカルチノスタチンの作用機序に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教 授 市 川 康 夫 教 授 沼 正 作 教 授 内 野 治 人

論 文 内 容 の 要 旨

放線菌の一種 *Streptomyces carzinostaticus* F41 の産生する抗生物質、ネオカルチノスタチン (NCS) はマウス腹水型腫瘍細胞に対し秀れた抗腫瘍性を発揮し、人の急性白血病に対してもしばしば秀れた効果の認められることが報告されている。同薬剤の作用機序としてNCSはHeLa細胞やマウスL1210細胞のDNA合成を抑制し、又DNAの低分子化を起こすことが報告されているが作用機序の詳細、とくに合理的な白血病化学療法を行うために役立つような薬剤の特徴を明らかにした報告は未だない。ところで抗腫瘍剤が腫瘍細胞の致死を目的とする限り、DNA損傷に対する修復の存在は腫瘍細胞の生死を左右する重要な因子と成り得ると考えられ、合理的な化学療法確立の上に重要な課題と考えた。そこでNCSがDNA損傷を来すことに注目し、NCSによるDNA損傷に対するDNA修復について、人白血病細胞を用いて検討した。

白血病患者末梢血より得た白血病芽球がほぼ100%を占める白血球浮遊液で種々の濃度のNCSと37°Cで60分間培養し、薬剤洗滌後、³H-thymidine 存在下に再び37°Cで5時間培養した。型通りのオートラジオグラムの処理を行い、顕微鏡下に核上 grain 数を算定した。NCS 1μg/ml 以上の濃度群に於いてコントロールに比し有意に高い grain 数を得、5μg/mlで最高値を示した。即ちNCSによって人白血病細胞にDNA修復現象としての不定期DNA合成の惹起されることが確認された。次にNCS処理後、定期DNA合成を十分に抑制する hydroxyurea 存在下に³H-thymidineを加えて37°Cで3時間培養し、その冷酸不溶性分画の放射活性を測定し、上記条件下に於けるNCS処理により増加する放射活性は概ね不定期DNA合成と同義と考え修復合成とした。白血病患者末梢血より得た白血球 3×10⁷ 細胞あたりのNCS 5μg/ml 処理による増加値を急性白血病7例、慢性骨髄性白血病7例について測定したところ、慢性骨髄性白血病例の平均値は2649cpm/3×10⁷ 細胞であり、急性白血病例の平均値937cpm/3×10⁷ 細胞より高値を示し、慢性骨髄性白血病の白血病細胞の方が急性白血病のそれよりNCSによって高い修復合成が惹起されることを示した。慢性骨髄性白血病例について、未熟細胞の含有率と修復合成の大き

さは正の相関を示し、未熟細胞に修復合成が高いことを示したが、一方急性白血病例についてはこのような相関は認められず、同じ白血病芽球でも細胞間に DNA 修復の大きさに差異のあることから質的差異の存在が示唆された。

NCS が人白血病細胞に修復合成を惹起することを示したが、この修復合成が果して細胞の生死決定に重要な意義を有するか否か検討する為、マウス L1210 細胞を用いて修復阻害剤の 1 つ *caffeine* により、NCS の殺細胞効果に及ぼす影響を検討したところ、細胞の生死に影響を与えない濃度の *caffeine* により NCS の殺細胞効果は増強された。即ち、NCS により惹起される修復過程は細胞の生死決定に重要な意義をもつと考えられた。

抗腫瘍剤が腫瘍細胞の致死を目的とするならば、NCS の抗腫瘍効果増強を計る上で、NCS により惹起される DNA 修復過程を抑制することがその一法と考えられる。人白血病細胞に NCS を作用させた後、*hydroxyurea* 存在下に抗腫瘍剤の 1 つ *cytosine arabinoside* を作用させたところ、DNA 修復合成が抑制され、このことは NCS と *cytosine arabinoside* の併用が、殺細胞効果を増強する可能性を示すと考えられた。

以上の成績から NCS により人白血病細胞に生じた損傷に対して DNA 修復合成の惹起されること、この修復合成は白血病型並びに症例間等、宿主側要因により差を示すこと、さらに、NCS により惹起される修復機転は細胞の生死に重大な要因であることを示した。

薬剤の効果を考える上に抑制効果のみならず、修復機構をも考慮に入れることが、化学療法における薬剤の使用に際して必要であると考ええる。

論文審査の結果の要旨

Neocarzinostatin (NCS) は、選択的に DNA 合成を抑制し、DNA 鎖に損傷を来たすことが知られている。そこで著者は NCS による DNA 損傷に対する修復機転の存在について人白血病細胞で検討し、NCS $1\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で、修復機転の存在を示す所の不定期 (unscheduled) DNA 合成が惹起されることを確認した。ついで、修復 DNA 合成の大きさを白血病症例について測定し、白血病型並びに症例間や宿主側要因により差のあること、L1210 細胞において、修復阻害剤の 1 つである *Caffeine* は NCS の殺細胞効果を増強したことから、NCS により惹起される修復機転は、細胞の生死決定に重大な要因であることを明らかにした。NCS により人白血病細胞に惹起される修復合成は、抗腫瘍剤の 1 つである *Cytosine arabinoside* により抑制されるが、これは NCS と *Cytosine arabinoside* の併用が、殺細胞効果を増強する可能性を示唆したものである。以上の結果より、NCS の殺細胞効果の機序から、合理的な化学療法を施行する上に、薬剤による損傷のみならず、修復機構も考慮に入れなければならないことを明らかにした。以上の研究は抗白血病剤作用機序を解明し、白血病化学療法に寄与する所が多い。

よって、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。