

ヒト膵癌の抗 ras 癌遺伝子療法の実験的研究

(04807048)

平成6年度科学研究費補助金（一般研究（C）萌芽的研究）
研究成果報告書

平成6年2月

研究代表者 小原 剛
(旭川医科大学医学部助手)

ヒト膵癌の抗 ras 癌遺伝子療法の実験的研究

(04807048)

平成6年度科学研究費補助金（一般研究（C）萌芽的研究）
研究成果報告書

平成6年2月

研究代表者 小原 剛
(旭川医科大学医学部助手)

はしがき

切除不能な進行癌が多い膵癌は、最も予後不良な癌の一つである。膵癌に対して有効な抗癌治療のない現況を打破する目的で、ヒト膵癌のほぼ全例に r a s 癌遺伝子に点突然変異が存在し、r a s 癌遺伝子産物である p 2 1 が活性化している点に注目し、抗 r a s 癌遺伝子療法の基礎的、実験的研究を行った。

研究組織

研究代表者：小原 剛（旭川医科大学医学部助手）

研究経費

平成4年度	1,200千円
平成5年度	400千円
平成6年度	400千円
計	2,000千円

研究発表

(1) 学会誌

1 Ura H, Tanno S, Obara T, et al. Induction of apoptosis in ras transformed fibroblast by inhibitor of ras farnesylation.

(発表予定)

2. Ura H, Obara T, Nishino N, et al. Cytotoxicity of simvastatin to pancreatic adenocarcinoma cells containing mutant ras gene.

Jpn J Cancer Res 85, 633-638, June 1994

3. 浦 等, 小原 剛, 西野徳之, 他. ヒト膵癌細胞に対するHMG-CoA還元酵素阻害剤の増殖抑制効果. 癌と化学療法 20:2247-2249, 1993年11月

(2) 口頭発表

1. 浦 等, 小原 剛, 丹野誠志, 他. Farnesyl transferase阻害剤によるras遺伝子導入細胞のアポトーシス誘導.

第53回日本癌学会, 1994年10月9日

2. 浦 等, 小原 剛, 西野徳之, 他. 膵癌に対するHMG-CoA還元酵素阻害剤の増殖抑制効果. 第52回日本癌学会, 1993年10月6日

研究成果

1) ヒト膵癌細胞株におけるk-ras癌遺伝子の点突然変異の検討

ヒト膵癌細胞株：MIA PaCa-2, HPC-1, 3, 4, Panc-1, HaPT1の6種を用い, Haliassosらの方法に準じたPCR変法にてK-rasのcodon12の点突然変異を検討し, 6種の細胞株全てにK-ras, codon12の点突然変異を認めた。

2) HMG-CoA還元酵素阻害剤によるin vitro増殖抑制実験

HMG-CoA還元酵素阻害剤の一つであるsimvastatinを用いて, 4種のヒト膵癌細胞株：MIA PaCa-2, HPC-1, Panc-1, HaPT1についてMTT assayはMosmannらの方法に準じた。24時間基本培地で培養後, 各濃度(0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 50, 100 μ g/ml)のsimvastatinに72時間接触させ, 3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) 50 μ g/10 μ l/wellを全wellに添加し, 570nmの吸光度よりsurviving rateを測定した。simvastatin濃度0.1~100 μ g/mlで濃度依存性の増殖抑制効果を認めた。Controlの50%に増殖が抑制されるsimvastatinの濃度は(IC50)はMIA Pa-Ca2では2.6 μ g/ml, Panc-1では5.1 μ g/ml, HPC-1では1.2 μ g/mlであった。 [3 H] thymidine uptakeによるDNA合成, western blottingによるp21-rasのisoprenylationは10 μ g/ml濃度のsimvastatinにより抑制された。また, flow cytometryによる検討ではsimvastatin 10 μ g/ml濃度でG1→S期移行が抑制されることが確認された。

以上よりp21-ras活性化機構を抑制するHMG-CoA還元酵素阻害剤の一つであるsimvastatinはp21-ras活性化ヒト膵癌細胞の増殖を抑制し, 抗腫瘍剤としての有効性が認められた。