腎癌における制癌剤効果増強について

岐阜大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 河田幸道教授)

岡野 学 川本 正吾 根笹 信一 玉木 正義
江原 英俊 山田伸一郎 出口 隆 河田 幸道

ENHANCEMENT OF CYTOTOXIC EFFECT OF ANTICANCER AGENTS ON RENAL CELL CARCINOMA

Manabu Okano, Syogo Kawamoto, Shinichi Nezasa, Masayoshi Tamaki,
Hidetoshi Ehara, Shinichirou Yamada, Takashi Deguchi
and Yukimichi Kawada
Department of Urology, Gifu University School of Medicine
(Director: Prof. Y. Kawada)

(Background) Human renal adenocarcinomas do not adequately respond to cancer chemotherapy. Their multidrug resistance is mainly conferred by the P-glycoprotein (P-gp). In this study, we analyzed effects of P-gp modulators on enhancement of anticancer activities against human renal cell carcinomas.

(Methods) ACHN/ADM human renal adenocarcinoma cells with a high level expression of P-gp and 28 surgical specimens of renal cell adenocarcinomas were recruited. Adriamycin (ADM) and vinblastin (VLB) were used as anticancer drugs, and verapamil (Ver) and cyclosporin A (CsA) were as P-gp modulators. The chemosensitivity was determined by the ATP-assay.

(Results) Ver and CsA exhibited 1.5-fold and 6-fold increase, respectively, in the anticancer activities of ADM against ACHN/ADM cells. The anticancer activities of VLB were also enhanced by the modulators; 7-fold for Ver and 11-fold for CsA. In the chemosensitivity test of clinical specimens, the cancer for which the viability of the cells assessed by the ATP-assay was 50% or less than 50% after exposure to the anticancer drug with or without a P-gp modulator was defined as sensitive to the drug. Of the 14 clinical specimens exposed to anticancer drugs without Ver, only 3 tumors and 1 tumor were sensitive to ADM and VLB, respectively, whereas with Ver, 6 tumors and 4 tumors were sensitive to ADM and VLB, respectively. Of the other 14 clinical specimens exposed to anticancer drugs without CsA, only 3 tumors and no tumor were sensitive to ADM and VLB, respectively, whereas, with CsA, 9 tumors and 6 tumors were sensitive to ADM and VLB, respectively.

(Conclusion) This study indicates that Ver and CsA have effects on enhancement of the anticancer activities of ADM and VLB against human renal adenocarcinomas. The addition of Ver or CsA to chemotherapy will be a potential circumvention of P-gp-mediated multidrug resistance of renal cell adenocarcinomas.

Key words: renal cell carcinoma, verapamil, cyclosporin A

要旨: (背景と目的) 腎細胞癌は一般に化学療法に十分な反応がみられないが, その原因として P-glycoprotein (P-gp) の発現による多剤耐性が注目されている。本検討で, われわれは P-gp 耐性克服薬剤によるヒト腎細胞癌に対する制癌剤効果の増強を *in vitro* で検討した。

(方法) P-gp 高度発現ヒト腎細胞癌由来培養株 ACHN/ADM および28例の腎細胞癌患者から手術的に摘出した臨床検体を対象として検討した。制癌剤としては adriamycin (ADM) と vinblastin (VLB)

を使用した。P-gp 耐性克服薬剤としては verapamil (Ver) および cyclosporin A (CsA) を用いたが、それぞれの濃度は ACHN/ADM の発育に影響を与えない Ver 2.5 μ g/ml, CsA 0.5 μ g/ml とした。また、制癌剤感受性試験は ATP 法にて行った。

(結果) ACHN/ADM 株に対して ADM では Ver および CsA によりそれぞれ1.5倍、6 倍の制癌効果増強を認めた。また、VLB においてもそれぞれ7 倍、11倍と制癌効果の増強が同様にみられた。臨床検体に対する制癌剤感受性試験では P-gp 耐性克服剤の併用の有無に関わらず制癌剤に接触後 ATP 法で50%以下の細胞活性を示した場合、その薬剤に対して感受性有りと判定した。Ver 併用を検討した臨床検体14例に対して制癌剤は単独ではそれぞれ ADM で3 例、VLB で1 例の感受性しか示さなかったものの、Ver を併用したところ ADM で6 例、VLB で4 例が感受性を示した。CsA 併用を検討した他の臨床検体14例では制癌剤単独では ADM で3 例感受性を示し、VLB では感受性無しであったが、CsA 併用でそれぞれ9 例、6 例の感受性を示した。

(結論) この検討により、腎細胞癌においては Ver または CsA を併用することにより ADM や VLB の制癌効果が増強すると考えられ、P-gp による多剤耐性の腎細胞癌に対するこれらの臨床応用に期待が持たれた。

キーワード：腎細胞癌，ベラパミル，シクロスポリン A

緒 言

腎細胞癌は既存の制癌剤に対して低感受性であるが、その原因のひとつとして腎細胞癌では P-glycoprotein (P-gp) が高率に発現している点あげられる¹⁾²⁾。このため制癌剤の効果を増強する目的として、P-gp による細胞内からの制癌剤排出作用を阻害し、制癌剤濃度を高める作用を有する薬剤の併用が考えられ、一部臨床にも応用されている^{3)~6)}。今回我々は、腎細胞癌の効果的化学療法を開発を目的として P-gp 高度発現ヒト腎細胞癌由来培養株および臨床検体を用い、adriamycin (ADM) および vinblastine (VLB) に対する P-gp 耐性克服薬剤の殺細胞効果増強について検討した。

対象および方法

ヒト腎癌細胞由来培養株として当教室で継代中の ACHN 細胞と、ACHN 細胞を ADM 加培養液にて継代し得られた ADM 耐性株 ACHN/ADM を用いた。ACHN/ADM の P-gp 産生能については C219抗体を用いた Western blotting 法にて検討した⁷⁾。10⁷個の細胞を1%NP-40を含む50mM トリス塩酸緩衝液 pH 8.0中で溶解し、1,500g 5分間遠心後に得られた上清を外膜蛋白抽出分画として用いた。Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide ゲルにて電気泳動しニトロセルロース膜に転写し C219抗体と反応させた。シグナルの検出には化学反応を利用する ECL キット (Amersham)を用いた。また、臨床材料は28例の腎細胞癌患者より手術時に採取した28腎腫瘍組織を使用した。培養株および臨床材料に対する制癌剤および P-gp 耐性

克服薬剤の殺細胞効果の測定は細胞数と細胞内 ATP 量の直線関係を利用した山田ら⁸⁾の方法に従って ATP 法にて行った。摘出腫瘍組織は細切し、Hanks 液に浮遊し、Dispase (protease) 含有 DM-160培地中で 37°C120分 incubate した。これをナイロンメッシュにて濾過し、1,200rpm, 10分間遠心し上清を除去し、15% FCS 加 DM-160に浮遊混和した。この細胞浸遊液を24 well plate に分注後薬剤を添加した。制癌剤として VLB および ADM を、P-gp 耐性克服薬剤として前期14例には verapamil (Ver) を後期14例には cyclosporin A (CsA) を使用し、薬剤添加後 5%CO₂, 37°Cにて 3日間培養後 ATP 量を bioluminescence 法にて測定した⁸⁾。Survival rate は薬剤添加細胞の ATP 量を control である薬剤非添加細胞の ATP 量で除した百分率で表し、臨床材料においては50%以下を感受性有りとした⁸⁾。

結 果

1. ACHN/ADM に対する制癌剤感受性および P-gp 発現レベルの検討

ADM と VLB の ACHN および ACHN/ADM に対する殺細胞曲線を Fig. 1 に示した。IC₅₀では ACHN/ADM は ACHN に比べ ADM に対して13倍、VLB に対して89倍の耐性がみられた。Western blotting 法による検討では P-gp である170kD の蛋白の描出が ACHN ではみられぬものの ACHN/ADM では16倍希釈 (100 $\times$ 1/16 μ g) まで観察され、P-gp は ACHN/ADM で高く発現した (Fig. 2)。

2. P-gp 耐性克服薬剤の殺細胞効果の検討

Fig. 1 Survival curves of ACHN and ACHN/ADM cells treated with ADM or VLB

Fig. 2 Western blot hybridization analysis of ACHN and ACHN/ADM cells.

The extracted protein was loaded on lanes, as follows; lane 1, control (bovine adrenal gland); lane 2, ACHN 100 μg ; lane 3, ACHN/ADM 100 μg ; lane 4, 100 $\times$ 1/2 μg ; lane 5, 100 $\times$ 1/4 μg ; lane 6, 100 $\times$ 1/8 μg ; lane 7, 100 $\times$ 1/16 μg ; lane 8, 100 $\times$ 1/32 μg .

ACHN/ADM に対する Ver および CsA の殺細胞効果を検討したところ、Ver は5 $\mu\text{g/ml}$ 以下、CsA は1 $\mu\text{g/ml}$ 以下では両株に影響をあたえず、今後の制癌剤との併用の検討に際してはそれぞれの濃度を2.5 $\mu\text{g/ml}$ および0.5 $\mu\text{g/ml}$ として行うこととした。

3. Ver および CsA 併用による制癌剤の殺細胞効果の検討

ACHN/ADM に対する ADM と VLB の Ver および CsA 併用時の殺細胞効果を Table 1 に示した。ADM は Ver を併用した場合 IC_{50} は3.3 $\mu\text{g/ml}$ であり単独に比べ約2/3に低下していた。また、通常使用量時の血中ピーク値である1peak plasma concentration (ppc) に相当する0.4 $\mu\text{g/ml}$ における survival rate は単独では100%であるものの併用時では84%と低下していた。同様に、VLB においても併用時の IC_{50} は0.16 $\mu\text{g/ml}$ であり単独に比べ約1/7に低下しており、1ppc に相当する0.1 $\mu\text{g/ml}$ における survival rate は単独で84%であるものの併用時では68%であった。また、

Table 1 Effect of verapamil and cyclosporin A on the anticancer drug activity against the ACHN/ADM cells

	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)		Survival rate(%)	
	ADM	VLB	ADM (0.4 $\mu\text{g/ml}$) *	VLB (0.1 $\mu\text{g/ml}$) *
Anticancer drug alone	4.5	1.2	100	84
Anticancer drug with:				
Verapamil	3.3	0.16	84	68
Cyclosporin A	0.75	0.11	62	52

*corresponded to peak plasma concentration

Table 2 Grade and stage of clinical specimens

	Group 1 (Verapamil)	Group 2 (Cyclosporin A)
Grade 1	8	1
Grade 2	5	12
Unknown	1	1
Stage pT2	12	10
pT3	2	4

CsA 併用時においても IC₅₀は ADM で約1/6, VLB で約1/11に低下した。ADM 0.4μg/ml, VLB 0.1μg/ml の濃度における survival rate は ADM で単独の100% から併用時62%へ, VLB で84%から52%へと低下した。臨床検体における併用効果の検討は Table 2 に示す28例の primary culture で行ったが, Ver および CsA それぞれの併用で14例ずつ使用した。両群を比べると悪性度は CsA 群で Grade 2 の症例が多く認められたが病期には差を認めず, ADM および VLB に感受性を認めた症例数もほぼ同じであった。ADM 0.4 μg/ml, VLB 0.1μg/ml の濃度での survival rate は Ver 併用の場合 ADM では単独で66.5%から併用時 51.6%へと有意に低下し (t 検定, p=0.0003), VLB では単独で74.3%から併用時62.6%へと低下した (p=0.0012)。感受性を認めた症例は ADM で6例, VLB で4例あり, 単独の場合に比べともに3例ずつ増加し

た (Fig. 3)。CsA 併用の場合 ADM では単独で56.6% から併用時41.5%へと低下し (p=0.0009), VLB では単独で72.4%から併用時53.0%へと低下した (p=0.0000)。感受性を認めた症例は ADM で9例, VLB で6例ありそれぞれで6例ずつ増加した (Fig. 4)。

考 察

近年,様々な制癌剤の開発が進められているものの, その実用化までには多くの経費と時間が必要である。そのため, 既存の薬剤を用いて投与方法や併用療法を検討し, その有効性向上を図ることも臨床上非常に重要な課題である。泌尿器科腫瘍のうちでは精巣腫瘍, 尿路上皮腫瘍は制癌剤に対して感受性が高いものの, 腎細胞癌では現在治療の中心であるインターフェロンをもってしても有効性はせいぜい20%程度である⁹⁾¹⁰⁾。腎細胞癌の制癌剤に対する低感受性の原因としてはいくつもの因子が複雑に関与していると考えられるが, 特に制癌剤の能動的排出ポンプである P-gp が高率に発現している点が注目される。今回基礎的検討に使用した P-gp 高度発現 ADM 耐性株である ACHN/ADM は細胞内 ADM の蓄積量を蛍光量でみたところ ACHN に比べ著しく低下しており¹¹⁾P-gp が ADM 耐性の主因と考えられる。また, 臨床例においても P-gp の発現率は秋山ら¹²⁾によれば尿路上皮癌の22%に対して腎細胞癌では87%と高率であり, 本検討中においても reverse transcriptase-polymerase

Fig. 3 Survival rates of primary culture cells treated with 0.4μg/ml of ADM or 0.1μg/ml of VLB alone or in the presence of 2.5μg/ml of verapamil

Fig. 4 Survival rates of primary culture cells treated with 0.4 μ g/ml of ADM or 0.1 μ g/ml of VLB alone or in the presence of 0.5 μ g/ml of cyclosporin A

chain reaction 法により P-gp mRNA の発現の検討が可能であった腎細胞癌13例では全例陽性であった¹³⁾。このため P-gp が関与した耐性機構を克服することは腎細胞癌に対する制癌作用を向上させるうえで非常に有用性が期待される。

これまでも P-gp による耐性を克服する目的で、P-gp と結合しその制癌剤の細胞外排出作用を阻害し、細胞内の制癌剤濃度を高める働きを持つ様々な薬剤が試みられている¹⁴⁾。我々はカルシウム拮抗薬である Ver および免疫抑制剤である CsA を制癌剤と併用した。両剤は川本らによる ACHN/ADM における検討では ADM の蓄積量を併用しない場合に比べ、いずれも約3倍増加させるとのことであり¹¹⁾、今回、ACHN/ADM に対するその制癌効果を ATP 法にて検討したところ、ともにその増強が確認された。また、ACHN/ADM は VLB に対し交差耐性を示し、Ver と CsA により ADM 同様にかんりの程度の制癌剤感受性の reverse がみられた。今回用いた ATP 法は生体のエネルギー源である ATP を測定する制癌剤感受性試験であるが、癌細胞の制癌剤処理後においても生細胞数と有意の相関を示し細胞内 ATP 量が cell viability の良い指標であることを利用したものである⁸⁾。

また、臨床検体においても感受性のみられなかった症例が Ver を併用することで ADM, VLB ともに3例ずつ、CsA を併用することで6例ずつ感受性有りへ

と変動し効果の増強がみられた。感受性の有無の判定に関しては何%で判断するかは議論のあるところであるが、地主ら¹⁵⁾の消化器癌の検討、山田ら⁸⁾の尿路性器腫瘍の検討に従い、今回は50%を境界とした。

Ver と CsA を比較すると ACHN/ADM では ADM, VLB ともに CsA で reverse の程度が著明であった。臨床検体では耐性克服薬を併用しない場合、両群間には感受性症例数の差はほとんどみられぬものの、併用した場合、感受性側へ変動した症例は CsA 併用で多く、survival rate の平均をみても Ver 併用では ADM で14.9%, VLB で11.7%の低下に比べ、CsA 併用ではそれぞれ15.1%, 19.4%とより低下していた。Ver と CsA の作用機序の差については P-gp に対する binding site の違いとも推測されており¹⁶⁾、それが効果の差を生む可能性があり今後より一層の解明が待たれるところである。また、耐性克服薬剤による殺細胞効果の増強は ADM に比べ VLB でより顕著にみられ、VLB はその耐性機序の中で P-gp の影響がより大きい薬剤と考えられた。P-gp 耐性克服薬剤を併用しても ACHN/ADM の制癌剤感受性は ACHN のそれには完全には reverse しないこと、臨床検体のなかでも症例間で感受性の変動に差があることより、腎細胞癌の耐性が P-gp だけによるものではなく他の耐性機構の存在を示唆するものであるが、症例によっては非常に効果増強を示すものがあり症例を選べば少なからず

これらの薬剤が臨床の場においても有用と考えられる。

現在のところ P-gp 克服薬剤の投与に際してはいくつかの問題点がある。まず第一に全身投与では克服薬剤濃度を *in vitro* での有効濃度にするためにはかなりの投与量を必要とし、その副作用が懸念される。カルシウム拮抗薬である Ver では心血管系への影響が、免疫抑制剤である CsA では白血球減少が問題となるが、それに加え正常組織での P-gp の生理機能をも阻害するため、たとえば胆管上皮における胆汁排泄作用阻害による高ビリルビン血症などが問題となり、P-gp 耐性克服薬剤の dose limiting factor のひとつと考えられる¹⁴⁾。このように耐性克服薬の臨床応用には副作用や効果の点で問題が多いが、現在これに対して様々な薬剤で検討が行われている。たとえば以前より抗アレルギー薬として使用されていたセファランチン¹⁷⁾、また新薬としては心血管系への作用の少ないカルシウム拮抗薬である R-ベラパミル¹⁸⁾、免疫抑制作用の少ない PSC833¹⁹⁾の他にも、PAK 200¹²⁾、L623 (N1379)¹⁷⁾などがあり、特に PSC833においては治験¹⁹⁾²⁰⁾もかなり進んでいるようで安全で克服活性の高い薬剤が近い将来臨床の場で使用されることとなろう。また Dalton ら²¹⁾のごとく *in vivo* においては *in vitro* と同様の高い薬剤濃度が必要とは限らないとの考えもあり、可能な最大投与量で臨床応用してみることも検討に値すると思われる。

P-gp については未だ不明の点も多い。例えばどの程度の発現で耐性化してしまうのかという P-gp 量と耐性度の相関性の有無、腫瘍組織による特異性やその分化度による発現の差の有無、また各臓器における本来の生理機能などである。これらの点が今後究明され、腎細胞癌をはじめ P-gp による多剤耐性癌治療における効果的で副作用の少ない耐性克服薬剤の早期の臨床応用が期待される。

結 語

1. ACHN/ADM では P-gp の発現の増強がみられ、ACHN に比べ IC₅₀ で約13倍耐性化していた。
2. ACHN/ADM は VLB に対して交差耐性を示した。
3. ACHN/ADM に対して Ver を併用した場合、IC₅₀ は ADM で約2/3、VLB で1/7に低下した。CsA を併用した場合それぞれ1/6、1/11に低下した。
4. Primary culture 28例の検討では感受性を認めた症例は Ver 併用の場合 ADM、VLB ともに3例増

加し、CsA 併用の場合ともに6例増加し制癌効果の増強がみられ、今後の臨床応用に期待がもたれた。

稿を終えるにあたり、検体提供に御協力を頂いた当教室員諸兄ならびに以下の各関連病院泌尿器科の諸先生方に感謝致します。

岐阜市民病院、県立岐阜病院、羽島市民病院、大垣市民病院、県立下呂温泉病院、高山赤十字病院、松波総合病院、平野総合病院、木沢記念病院、大雄会第一病院、東海記念病院、トヨタ記念病院、彦根市立病院、長浜赤十字病院。

文 献

- 1) Kanamaru, H., Kakehi, Y., Yoshida, O., Nakanishi, S., Pastan, I. and Gottesman, M.M.: MDR1 RNA levels in human renal carcinomas: Correlation with grade and prediction of reversal of doxorubicin resistance by quinidine in tumor explants. *J. Natl. Cancer Inst.*, **81**, 844—849, 1989.
- 2) Mickisch, G.H., Roehrich, K., Koessig, J., Foster, S., Tschada, R.K. and Alken, P.M.: Mechanism and modulation of multidrug resistance in primary human renal cell carcinoma. *J. Urol.*, **144**, 755—759, 1990.
- 3) 本田利雄, 三比和美, 服部理男: 多剤耐性となった再発性非ホジキンリンパ腫に対する Nicardipine と Vinca Alkaloid の併用による治療の試み. *A preliminary report*. *癌と化学療法*, **10**, 2330—2334, 1984.
- 4) 赤沢修吾, 本田敏雄, 三比和美, 三ツ木浩一: カルシウム拮抗剤の併用を試みた Vindesine sulfate, Cis-diammine dichloroplatinum (II) に治療抵抗性食道癌の2症例. *癌と化学療法*, **11**, 943—947, 1984.
- 5) Benson, A.B. III, Trump, D.L., Koeller, J.M., Egorin, M.I., Olman, E.A., Witte, R.S., Davis, T. E. and Tormey, D.C.: Phase I study of vinblastine and verapamil given by concurrent iv infusion. *Cancer Treat. Rep.*, **69**, 795—799, 1985.
- 6) Ozols, R.F., Cunnion, R.E., Klecker, R.W. Jr., Hamilton, T.C., Ostchega, Y., Parrillo, J.E. and Young, R.C.: Verapamil and adriamycin in the treatment of drug-resistant ovarian cancer patients. *J. Clin. Oncol.*, **5**, 641—647, 1987.
- 7) Nishiyama, K., Shirahama, T., Yoshimura, A., Sumizawa, T., Furukawa, T., Ichikawa-Haraguchi, M., Akiyama, S. and Ohi, Y.: Expression of the multidrug transporter, P-glycoprotein, in renal and transitional cell carcinomas. *Cancer*, **71**, 3611—3619, 1993.
- 8) 山田伸一郎, 出口 隆, 根笹信一, 玉木正義, 江原英俊, 岡野 学, 河田幸道: 細胞内 ATP 量を指標

- とした尿路性器腫瘍の抗癌剤感受性試験の検討。日泌尿会誌, 83, 2022—2028, 1992.
- 9) Quesada, T.R., Swanson, D.A., Trindada, A. and Guttermann, J.U.: Renal cell carcinoma: Antitumor effect of leukocyte interferon. *Cancer Res.*, 43, 940—947, 1983.
 - 10) 里見佳昭, 千賀 裕, 福田百邦, 河合恒夫: インターフェロン療法. 日泌尿会誌, 75, 909—916, 1984.
 - 11) 川本正吾, 根笹信一, 西田泰幸, 玉木正義, 山田伸一郎, 岡野 学, 出口 隆, 河田幸道: 多剤耐性ヒト腎細胞癌由来培養細胞株における制癌剤効果増強について[abstract]. *Proc. Jpn. Cancer Assoc.*, 53, 662, 1994.
 - 12) 秋山伸一: 癌細胞の薬剤耐性克服. 西日泌尿, 54, 557—559, 1992.
 - 13) 根笹信一, 出口 隆, 川本正吾, 西田泰幸, 山田伸一郎, 岡野 学, 江原英俊, 玉木正義, 藤広 茂, 栗山 学, 坂 義人, 河田幸道: RT-PCR 法による多剤耐性遺伝子(MDR1)mRNA 発現の検討. *J. Jpn. Soc. Cancer Ther.*, 28, 345, 1993.
 - 14) Leyland-Jones, B., Dalton, W., Fisher, G.A. and Sikic, B.I.: Reversal of multidrug resistance to cancer chemotherapy. *Cancer*, 72, 3484—3488, 1993.
 - 15) 地主和人, 平林直樹, 桐原義昌, 高上真一, 金 隆史, 頼島 敬, 西山正彦, 野宗義博, 峠 哲哉: 消化器癌に対する ATPassay の臨床的検討. 癌と化学療法, 17, 2235—2239, 1990.
 - 16) Cardarelli, C.O., Aksentijevich, I., Pastan, I. and Gottesman, M.M.: Differential effect of P-glycoprotein inhibitors on NIH3T3 cells transfected with wild-type (G185) or mutant (V185) multidrug transporters. *Cancer Res.*, 55, 1086—1091, 1995.
 - 17) 笥 善行, 清川岳彦, 橋村孝幸, 吉田 修: 腎細胞癌における内因性多剤耐性とその克服. 泌尿紀要, 38, 1319—1324, 1992.
 - 18) Keilhauer, C., Emling, F., Raschak, M., Gries, J. and Schlick, E.: The use of R-verapamil (R-VPM) is superior to racemic VPM in breaking multidrug resistance (MDR) of malignant cells [abstract]. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 30, 503, 1989.
 - 19) Keller, R.P., Altermatt, H.J., Nooter, K., Poschmann, G., Laissue, J.A., Bollinger, P. and Hiestand, P.C.: SDZ PSC 833, a non-immunosuppressive cyclosporine: Its potency in overcoming P-glycoprotein-mediated multidrug resistance of murine leukemia. *Int. J. Cancer*, 50, 593—597, 1992.
 - 20) Boesch, D., Gaveraux, C., Jachez, B., Pourtier-Manzanedo, A., Bollinger, P. and Loor, F.: In vivo circumvention of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance of tumor cells with SDZ PSC 833. *Cancer Res.*, 51, 4226—4233, 1991.
 - 21) Dalton, W.S., Grogan, T.M., Meltzer, P.S., Schepers, R.J., Durie, B.G.M., Taylor, C.W., Miller, T. P. and Salmon, S.E.: Drug resistance in multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma: Detection of P-glycoprotein and potential circumvention by addition of verapamil to chemotherapy. *J. Clin. Oncol.*, 7, 415—424, 1989.
(1995年7月7日受付, 1996年5月13日受理)