

(様式4: 博士)

氏名 岡田 洋平 (昭和 62年 10月 22日生)

本籍地 岩手県

略歴

平成 20年	4月	岩手医科大学医学部入学
同 26年	3月	同上卒業
同 26年	3月	第108回医師国家試験合格
同 26年	4月	岩手医科大学大学院医学部研究科(内科系専攻, 高度臨床医 育成分野, 内科学分野, 肝臓病学) 入学
同 26年	4月	医師免許証第520645号をもって医籍登録
同 30年	4月	同上4年の過程を修了(見込)

指導者 滝川 康裕 教授(内科学講座, 消化器内科肝臓分野)

研究場所 岩手医科大学医学部消化器内科肝臓分野研究室

授与番号	甲第 1764 号
------	-----------

論文内容の要旨

Regulation of transforming growth factor is involved in the efficacy of combined 5-fluorouracil and interferon alpha-2b therapy of advanced hepatocellular carcinoma

(トランスフォーミング増殖因子の調節は、進行した肝細胞癌の 5-フルオロウラシルとインターフェロン α -2b の併用療法の有効性に関与している)

(岡田 洋平, 王 挺, 葛西 和博, 鈴木 一幸, 滝川 康裕)

(Cell Death & Discovery 4 巻, 42 号, 平成 30 年 3 月掲載)

I. 研究目的

トランスフォーミング増殖因子- β (TGF- β) は、癌細胞の浸潤・転移などの生物学的悪性度を促進すると言われ、肝細胞癌の抗癌剤耐性への関与も示唆されている。一方、進行肝細胞癌に対して、インターフェロンアルファ (IFN α)-2b 併用 5-フルオロウラシル (5-FU) 動注化学療法の臨床的有効性が示されているが、IFN α -2b の効果発現機序は解明されていない。

本研究は、IFN- α 2b が TGF- β の作用を阻害して癌細胞の悪性度を減弱させることにより、5-FU の有効性を増強しているとの仮説に基づき、TGF- β およびそのシグナルに対する IFN- α 2b, 5-FU 単独および併用の影響を評価することを目的とした。

II. 研究対象ならび方法

臨床研究：進行肝細胞癌患者 (Stage IV-A/B) 50 例に対し、ポリエチレングリコール (PEG)-IFN α -2b (50-100 μ g/回, 1 回/週, 4 週間) の皮下投与および 5-FU 肝動脈内投与 (250mg/日, 各週の 1~5 日目に 5 日間投与, 4 週間) を施行し、治療の前後で血液中の TGF- β を測定した。

実験的研究：肝癌細胞株 HepG2 を用いた。①5-FU および IFN- α 2b の細胞毒性を SF 試薬 (Nacalai Tesque 社) を用いた生細胞数計測法により評価した。②IFN- α 2b (0.2~10IU/ml), 5-FU (0~100ug/ml) の単独, 併用添加による TGF- β や TGF- β シグナル分子 (SMAD2, SMAD4), 細胞周期関連蛋白 (p15INK4b), 上皮-間葉転換 (EMT) 関連蛋白 (ERK1/2, E-cadherin) を Western blot 法により評価した。

Ⅲ. 研究結果

臨床研究：

PEG-IFN α -2b 併用 5-FU 動注化学療法施行後に血清 TGF- β は有意 ($p < 0.05$) に減少した。
(治療前血清 TGF- β 21323 \pm 10223pg/ml, 治療後血清 TGF- β 13665 \pm 8989pg/ml)

実験的研究：

1. HepG2 細胞に対する 5-FU (5 μ g/ml) 単独投与は, 48 時間で細胞数を対照の 74.2 \pm 3.5% に減少させた. また IFN α -2b の併用は細胞数をさらに 63.6 \pm 3.8% にまで有意に ($p < 0.05$) 減少させた.
2. 5-FU は HepG2 細胞に対して TGF- β を著明に誘導したが, IFN α -2b の添加はこれを容量依存性に解消した.
3. 5-FU は, SMAD2 の発現およびリン酸化を抑制し, SMAD4, p15INK4b の発現も抑制したが, IFN α -2b 併用はこの作用を解消した.
4. 5-FU は ERK1/2 のリン酸化を促進し, E-cadherin の発現を抑制したが, IFN α -2b の併用はこれを解消した.

Ⅳ. 結 語

5-FU は肝癌細胞株に対して細胞毒性を示す一方で, EMT シグナルを惹起し細胞死シグナルを抑制することにより生物学的悪性度も促進した. これに対し, IFN α -2b の併用は EMT シグナルを抑制し, 細胞死シグナルを復活させることにより 5-FU の細胞毒性を増強した. この結果は IFN α -2b 併用 5-FU 療法の臨床的有効性を一部説明できると考えられた. IFN の作用機序の詳細な解明は, さらに有効な化学療法併用薬の開発に繋がると考えられる.

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 伊藤 薫樹 (臨床腫瘍学講座)

副査 教授 前沢 千早 (腫瘍生物学研究部門)

副査 講師 及川 浩樹 (病理学講座：機能病態学分野)

進行肝細胞癌に対する有効な治療が限られている中で、インターフェロンアルファ (IFN α) -2b 併用 5-フルオロウラシル (5-FU) 動注化学療法 of 臨床的有効性が示されているが、IFN α -2b の効果発現機序は明らかにされていない。本論文は、IFN α -2b が肝癌細胞の生物学的悪性度の進行を抑制することにより、5-FU の抗癌作用を強めている可能性があることを実験的に明らかにした。すなわち、肝癌細胞株 HepG2 細胞に対する 5-FU 添加は TGF β 誘導を介して上皮-間葉転換シグナルを増強したが、IFN α -2b の併用添加は TGF β 発現およびそのシグナルを抑制することを明らかにした。さらに、臨床研究で IFN α -2b 併用 5-FU 動注化学療法が血清 TGF β を低下させることも確認した。癌細胞の生物学的悪性度を抑制する薬物の開発に道を開く意義のある研究であり、学位に値する。

試験・試問の結果の要旨

細胞培養や蛋白発現・リン酸化解析の手技、関連した細胞シグナルの機構、研究結果の実臨床への応用の可能性について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考える。

また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考論文

- 1) Necrotic cell death and suppression of T-cell immunity characterized acute liver failure due to drug-induced liver injury. (壊死細胞死及びT細胞免疫の抑制は、薬物性肝障害の特徴である). (柿坂 啓介, 他5名と共著). Cytokine 86 巻 21-26 号 (2016)
- 2) Fatal acute hepatic failure in a family infected with the hepatitis A virus subgenotype IB: A case report. (A型肝炎ウイルス亜型 IB に感染した家族感染の致命的急性肝不全: 症例報告) (吉田 雄一, 他7名と共著). Medicine (Baltimore) 96 巻 35 号 (2017)