The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	遺伝子組換えヒトTNFと各種遺伝子組換えヒトインターフェロンの併用による抗腫瘍効果の増強
Author(s)	丹治, 芳郎
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36008
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【50】

氏名・(本籍)	丹治芳郎（たんじよしお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8127 号
学位授与の日付	昭和63年3月25日
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**遺伝子組換えヒトＴＮＦと各種遺伝子組換えヒトインターフェロンの併用による抗腫瘍効果の増強**
論文審査委員	(主査) 教授 田口 鐵男 (副査) 教授 森 武貞　教授 中田 篤男

論文内容の要旨

［目　的］

遺伝子工学の発達によりTumor Necrosis Factor（ＴＮＦ）や各種Interferon（ＩＦＮ）が大量に生産され，臨床応用が可能となったが，いずれも単剤では臨床効果が限られている。そこで本研究では，抗腫瘍効果増強のためにＴＮＦとＩＦＮの併用に関する基礎的検討を行った。

［方法ならびに成績］

1）ＴＮＦ，ＩＦＮの抗腫瘍活性：ＭＣＦ－7（乳癌），ＭＫＮ－28（胃癌），HEp－2（喉頭癌），HeLa（子宮頸癌）を96穴microplateに2×10^4個／well植え，一晩培養後，ＴＮＦとＩＦＮ－α，β，γを添加し3日間培養後，生細胞数をNeutral red dye-uptake法にて測定した。

ＭＣＦ－7はＴＮＦ単独でも高感受性を示した（IC_{50}＝9Ｕ／ml）が，ＩＦＮ－α，β，γ各々と併用すると，いずれも相乗効果を示し，特にγとの併用効果が著しかった。HeLa，HEp－2は，ＴＮＦとＩＦＮ－γとの併用で，著しい効果増強が見られたが，α，βとは相加効果に留まった。ＭＫＮ－28はＴＮＦに抵抗性を示し，ＩＦＮとの併用でも相加効果しか示さなかった。

2）薬剤接触時間の検討：ＭＣＦ－7を用いて1）と同じくＴＮＦ添加後一定時間接触させMediumで洗浄後さらに培養を続け，ＴＮＦ添加後3日目に生細胞数を測定した。

1－24時間の接触では，300Ｕ／mlの濃度でも80％以上の細胞が生存していたが，48時間では3Ｕ／mlでも約36％の生存率だった。ＩＦＮ－γ（300Ｕ／ml）を併用すると高濃度長時間接触では数％の細胞しか生存しておらず，短時間接触でも50％以下の生存率であった。

3）投与順序の検討：ＴＮＦとＩＦＮの投与順序を決定するために，ＭＣＦ－7に対し，ＴＮＦ＋Ｉ

ＦＮ同時接触（12ｈ），ＴＮＦ前処置（12ｈ）後＋ＩＦＮ接触（12ｈ），ＩＦＮ前処置（12ｈ）後＋ＴＮＦ接触（12ｈ）の３群を比較した。

ＩＦＮ－γでは，両者同時あるいはＩＦＮ前処置群の抗腫瘍活性が高く，ＴＮＦ前処置群はあまり併用効果を示さなかった。また，ＩＦＮ－αとβでは，同時ならびにＴＮＦ前処置群は，ほとんど効果増強を認めなかったが，ＩＦＮ前処置群では，併用効果が著しかった。

４）Receptor数の検討：併用効果の機構を検討するために，Receptor assayを行った。ＭＣＦ－７を各ＩＦＮ（3000Ｕ／ml）で22時間前処置後，^{125}Ｉ標識ＴＮＦを用いてScatchard analysisを行い，Receptor数を求めた。

α，β，γいずれの前処置においても無処置群に比べReceptor数の増加は認められなかった。

５）ＴＮＦとＩＦＮ mixtureとの併用：１）と同様にＴＮＦとＩＦＮ mixture（α＋β，β＋γ，γ＋α，α＋β＋γ）との併用について検討した。ＩＦＮの濃度はTotal量が一定（単剤Ｘ Ｕ／mlなら２剤でＸ／２，３剤でＸ／３Ｕ／mlずつ使用）となるように設定した。

いずれの細胞株においても，単剤時最も併用効果の見られたγとの併用と比べ，α＋βは効果なく，その他は，同等の効果，あるいはHEp－２やHeLaではβ＋γ，α＋β＋γとの併用で，γ単独以上の併用効果が見られた。

６）臨床：甲状腺癌の皮膚転移巣にＴＮＦ（1×10^5Ｕ），ＩＦＮ（1×10^5Ｕ）を各々単独及び併用局注した。単独では，病巣にほとんど変化が認められなかったが，併用部は，出血壊死を起こし，痂皮形成がみられた。

［総　　括］

以上の結果から，臨床においてＴＮＦを投与する際，人における薬理動態を考慮して，高濃度のBolus injectionあるいは，長時間のContinuous injectionが最も効果が上がると考えられ，またその際，ＩＦＮをPre－treatmentとして併用することで，効果の増強，さらには，各薬剤の投与量軽減が期待できることが示唆された。同様に，ＩＦＮもMixture（特にα＋β＋γ，β＋γ）として併用することにより，さらに効果が期待できる。

論文の審査結果の要旨

近年，サイトカインによる癌治療が注目されているが，効果，副作用の点で種々の問題点をかかえている。本研究は遺伝子組換えヒトＴＮＦの効果増強の一貫として遺伝子組換えヒトＩＦＮとの併用に関し，併用効果，作用時間，投与タイミング等を検討したものである。ＴＮＦならびＩＦＮ－α，β，γ各々単独では抗腫瘍効果は限られており，長時間の接触が必要であったが，ＴＮＦとＩＦＮを併用することで，相乗効果が見られ，作用時間の短縮，濃度の軽減が可能であった。特にＩＦＮ－γとの併用では種々の癌細胞に対し，著しい抗腫瘍効果の増強が見られた。さらにＴＮＦとＩＦＮ－Mixture，特にβ＋γ，α＋β＋γを併用すると，γとの併用より強い活性を示すことも判った。投与のタイミングは

ＩＦＮをＴＮＦの先に投与すると最も強い効果増強が得られることが判った。以上より本研究は臨床において，ＴＮＦとＩＦＮならびにＩＦＮ－Mixtureの併用療法の可能性を示唆し，サイトカインの癌治療における効果増強への新しい道をきりひらくものとして博士論文に値するものと認めた。