

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36008">https://hdl.handle.net/11094/36008</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	た 丹	じ 治	よし 芳	お 郎
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  $2 \times 10^4$  個/well 植え、一晚培養後、TNF と IFN- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  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 ( $IC_{50} = 9 \text{ U/ml}$ ) が、IFN- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  各々と併用すると、いずれも相乗効果を示し、特に  $\gamma$  との併用効果が著しかった。HeLa, HEp-2 は、TNF と IFN- $\gamma$  との併用で、著しい効果増強が見られたが、 $\alpha$ ,  $\beta$  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、 $300 \text{ U/ml}$  の濃度でも 80% 以上の細胞が生存していたが、48 時間では  $3 \text{ U/ml}$  でも約 36% の生存率だった。IFN- $\gamma$  ( $300 \text{ U/ml}$ ) 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

IFN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- $\gamma$ 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- $\alpha$ と $\beta$ 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 (3000 U/ml) で22時間前処置後、<sup>125</sup>I 標識TNFを用いてScatchard analysisを行い、Receptor数を求めた。

$\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ 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 ( $\alpha + \beta$ ,  $\beta + \gamma$ ,  $\gamma + \alpha$ ,  $\alpha + \beta + \gamma$ ) 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/3 U/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 $\gamma$ との併用と比べ、 $\alpha + \beta$ は効果なく、その他は、同等の効果、あるいはHEp-2やHeLaでは $\beta + \gamma$ ,  $\alpha + \beta + \gamma$ との併用で、 $\gamma$ 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 ( $1 \times 10^5$  U), IFN ( $1 \times 10^5$  U) 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 $\alpha + \beta + \gamma$ ,  $\beta + \gamma$ ) 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との併用に關し、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- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  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- $\gamma$ 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 $\beta + \gamma$ ,  $\alpha + \beta + \gamma$ を併用すると、 $\gamma$ 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

I F NをT N F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、T N FとI F NならびにI F N-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。