OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Partial Contribution of Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis Inducing Ligand
Author(s)	山本, 為義
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45516
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

氏名	山本為義（やまもとためよし）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 19104 号
学位授与年月日	平成17年2月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Partial Contribution of Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis Inducing Ligand (TRAIL)/TRAIL Receptor Pathway to Antitumor Effects of Interferon-α/5-Fluorouracil against Hepatocellular Carcinoma. （肝細胞癌に対するIFN-α/5-FU併用療法におけるTRAIL/TRAILレセプター経路の関与）
論文審査委員	（主査） 教授 門田 守人 （副査） 教授 金倉 譲　教授 林 紀夫

論文内容の要旨

［目的］

門脈内腫瘍栓をともなう肝細胞癌はきわめて予後不良であり、肝癌終末期の一病態といっても過言ではない。現在までに種々の治療法が試みられてきたが、有効な治療法は存在しない。最近われわれは、このような病態に対するIFN-αを併用した5-FUの動注化学療法（IFN-α/5-FU併用療法）の有効性について報告してきた。本療法は既存のいかなる治療と比較しても、有意に良好な成績が得られており、今後さらなる肝細胞癌治療成績向上に寄与する可能性が高い。このIFN-α/5-FU併用療法の抗腫瘍効果の機序として、thymidine phosphorylaseの発現亢進作用、細胞周期遅延作用などいくつかの報告があるが、これら癌細胞に対する直接的腫瘍効果とは異なるIFN-αの免疫賦活作用の側面からの報告はない。近年IFN-αがT細胞、NK細胞、単球上のTNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL)を誘導し標的細胞の殺傷機能を増強することが示された。そこで本研究ではIFN-αと5-FUの併用による末梢血単核球のTRAILおよび肝癌細胞上のTRAIL receptor（TRAIL-R）の発現および機能の変化を検討し、IFN-α/5-FU併用療法の作用機序におけるTRAIL/TRAIL-Rの経路を介した免疫賦活作用の関与の有無について検討した。

［方法］

1）肝癌細胞株におけるTRAILおよび5-FUに対する感受性

5種類の肝癌細胞株（HuH7, PLC/PRF/5, HLE, HLF, HepG2）に対しTRAILおよび5-FUを用いてMTT assayで増殖抑制効果を検討し、各々の肝癌細胞株のTRAILおよび5-FUに対する感受性を検討した。

2）*in vitro*実験系でのTRAILおよびTRAIL-Rの発現および機能

末梢血単核球のTRAILの発現および5種類の肝癌細胞株上のTRAIL-Rの発現と、IFN-α, 5-FUで刺激した場合の発現の変化をflow cytometryで解析した。末梢血単核球をIFN-αで24時間刺激し、肝癌細胞株に対する細胞障害活性の変化を^{51}Cr放出試験で解析してTRAILの関与を検討した。

3）*in vivo*実験系でのTRAILおよびTRAIL-Rの発現

門脈内腫瘍栓をともなう肝細胞癌 12 症例を対象に、IFN-α の全身投与と 5-FU による肝動注化学療法を行い、治療前後の末梢血単核球中の TRAIL mRNA を比較検討した。同治療施行後の肝癌組織における TRAIL および TRAIL-R の発現を免疫染色で検討した。

［成績］

1）肝癌細胞株における TRAIL および 5-FU に対する感受性

TRAIL に対しては HLE および HepG2 株は感受性があり、他の 3 株は感受性に乏しかった。5-FU に対しては HLE を除く全株に感受性があった。TRAIL と 5-FU の併用では HLF 株に対しては相乗効果を、他の 4 株に対しては相加効果を認めた。

2）in vitro 実験系での TRAIL および TRAIL-R の発現および機能

肝癌細胞株の全てに TRAIL-R の発現を認め、この発現の多寡は TRAIL に対する感受性と相関していた。TRAIL-R の発現は 5-FU 刺激により亢進し、一方で末梢血単核球中の $CD4^+$ T 細胞、NK 細胞および単球上に IFN-α 刺激で TRAIL が誘導された。IFN-α で前刺激を受けた NK 細胞および単球は 5-FU で前刺激を加えられた TRAIL 感受性肝癌細胞株（HLF）に対し有意な細胞障害活性の増加を示した。さらに抗 TRAIL 中和抗体を用いた blocking assay より、これら増加の一部は TRAIL を介していることがわかった。

3）in vivo 実験系での TRAIL および TRAIL-R の発現

IFN-α/5-FU 併用療法を受けた 12 症例中、有効群 6 例（CR 1 例、PR 5 例）では TRAIL mRNA の発現が治療前に比し 1.5-2.5 倍に上昇しており、一方無効群 6 例（PD 6 例）では TRAIL mRNA の発現に変化は認められなかった。肝癌組織において TRAIL-R1 および TRAIL-R2 の発現は、治療効果の有無に関係なく肝癌細胞の細胞質と細胞膜に認められたが、TRAIL の発現は有効群でのみ浸潤する免疫担当細胞上に認められた。

［総括］

TRAIL/TRAIL receptor を介した細胞障害経路の活性化が、肝細胞癌に対する IFN-α/5-FU 併用療法の抗腫瘍効果増強の機序の一つとして関与していた。高度進行肝細胞癌が予後不良である原因の一つとして抗癌剤に低感受性であることが挙げられるが、IFN-α/5-FU 併用療法は免疫担当細胞を介した免疫賦活作用を有し、化学療法と互いに相加効果をもたらすことで劇的な治療効果を示すと考えられる。

論文審査の結果の要旨

門脈内腫瘍栓を伴う肝細胞癌は未だ予後不良であるが、IFN-α/5-FU 併用療法は既存のいかなる治療に比して、有意に良好な治療成績が得られている。本研究では IFN-α/5-FU 併用療法の作用機序に、免疫担当細胞の腫瘍細胞障害経路のひとつである TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL)/TRAIL レセプター経路が関与するかどうかを検討した。In vitro の実験より末梢血単核球は IFN-α 刺激で TRAIL を誘導し、5-FU 刺激で TRAIL receptor の発現が亢進した肝癌細胞株に対して TRAIL を介して細胞障害活性の増加を示した。また臨床標本を用いた検討でも IFN-α/5-FU 併用療法が有効であった患者では末梢血単核球中の TRAIL mRNA の発現が上昇しており、肝組織内においても肝癌組織に浸潤する免疫担当細胞上に TRAIL の発現が確認された。本研究は IFN-α/5-FU 併用療法の作用機序に TRAIL/TRAIL レセプター経路が関与し、免疫療法と化学療法が相加効果を示すことを明らかにしたもので、学位の授与に値すると考える。