



Title	Tyrosine Kinase Inhibitor PTK/ZK Enhances the Antitumor Effects of Interferon- α /5-Fluorouracil Therapy for Hepatocellular Carcinoma Cells
Author(s)	村上, 昌裕
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58115
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	むら かみ まさ ひろ 村 上 昌 裕
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 24249 号
学位授与年月日	平成22年10月27日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学位論文名	Tyrosine Kinase Inhibitor PTK/ZK Enhances the Antitumor Effects of Interferon- α /5-Fluorouracil Therapy for Hepatocellular Carcinoma Cells (肝細胞癌に対するIFN- α /5-FU併用化学療法へのチロシンキナーゼ阻害薬PTK/ZKによる抗腫瘍効果増強に関する検討)
論文審査委員	(主査) 教授 森 正樹 (副査) 教授 奥村明之進 教授 野口眞三郎

論文内容の要旨

〔目的〕

門脈内腫瘍栓を伴った肝細胞癌の予後はきわめて不良であり、有効な治療法は確立されていない。このような高度進行肝癌に対して、インターフェロン- α /5-FU併用化学療法(IFN/5-FU療法)は予後延長効果が期待できる治療法の一つであるが、その奏功率には限界がある。そこでわれわれは、治療効果の向上を目的として、抗腫瘍効果の機序を解析してきた。その結果、VEGFなど血管新生因子の調整機構が関与していることが判明したため、関連するシグナル伝達を阻害することでさらなる抗腫瘍効果の増強が期待できると考えている。本研究においては、VEGF受容体の選択性阻害薬として、すでに大腸癌などに対して臨床的に有効性と安全性が確認されている薬剤であるPTK787/ZK222584 (Vatalanib®、以下PTK/ZK) を併用することで、肝細胞癌に対するIFN/5-FU療法の抗腫瘍効果の増強について確認し、さらにその機序について検討した。

〔方法〕

ヒト肝癌細胞株PLC/PRF/5、HuH7を用いて、IFN/5-FU療法へのPTK/ZK併用による抗腫瘍効果の増強に関して以下の項目を検討した。1) VEGF受容体(VEGFR)発現とVEGF分泌の変化(Western Blot法、ELISA法)、2) In vitro 増殖抑制試験(MTT法)、3) アポトーシス解析および関連蛋白の発現変化(Annexin V法、Western Blot法)、4) 細胞周期解析および関連蛋白の発現変化(フローサイトメトリ、Western Blot法)、5) In vivo 増殖抑制効果(ヌードマウス皮下腫瘍

モデル)

〔成績〕

1) PLC/PRF/5、HuH7株ともVEGFR(Flt-1、KDR/Flik-1)の発現を確認した。またVEGF分泌量は無治療群を100%とし、3剤併用(IFN、5-FU、PTK/ZK)で68.5%、65.8%と著明に減少したが、IFN/5-FU療法群と比較して明らかな有意差は認めなかつた(61.8%、59.0%)。2) MTT法による細胞増殖率は無治療群を100%とし、A) PLC/PRF/5株がIFN/5-FU療法群59±10%、PTK/ZK10 μ M併用群37±6%、B) HuH7株がIFN/5-FU療法群61±10%、PTK/ZK10 μ M併用群15±8%と有意に抑制されており(p<0.05)、PTK/ZK併用による増殖抑制効果の増強が認められた。3) Annexin V陽性細胞比率は、PLC/PRF/5株がPTK/ZK1.25 μ M、2.5 μ M、5 μ M、10 μ M単剤で1.65%、2.94%、2.96%、3.05%、さらに3剤併用で5.94%、7.18%、8.51%、9.73%と、濃度依存性に増加することを確認した。HuH7株においても同様の結果を認めた。4) 細胞周期解析では治療経過により、A) PLC/PRF/5株ではIFN/5-FU療法と同様に、3剤併用でG0/G1期の減少とS期の増加を、またB) HuH7株ではPTK/ZK単剤と同様に、3剤併用でG0/G1期の増加とS期の減少を認めたが、各々さらなる増強効果は認めなかつた。5) アポトーシス関連蛋白(Bax、Bcl-xL、Bcl-2)の発現においては、PLC/PRF/5、HuH7株ともアポトーシス分子であるBcl-xL、Bcl-2蛋白の発現が減弱し、アポトーシス誘導分子であるBax蛋白の発現が増強した。細胞周期関連蛋白(CyclinD1、p27kip1、p21)の発現においては、CyclinD1、p27kip1蛋白はPLC/PRF/5、HuH7株とも同様の傾向を示したが、p21蛋白はPLC/PRF/5株で減弱、HuH7株では増強と、逆の発現変化を示した。6) HuH7株を用いたヌードマウス皮下腫瘍モデルにおいて、各治療群の腫瘍容積(長径×短径²×0.5)は、無治療群が4839.5±1172.1mm³、PTK/ZK単独群で3237.5±189.5mm³、IFN/5-FU療法群で2083.4±440.4mm³、3剤併用群で1310.6±328.9mm³と、無治療群およびPTK/ZK単独群と比較して有意に抗腫瘍効果の増強を認めた。

〔総括〕

VEGFシグナル伝達の阻害によりIFN/5-FU療法の肝細胞癌に対する抗腫瘍効果は増強し、その機序の一つとして、アポトーシスの増加と細胞周期への影響が考えられた。

論文審査の結果の要旨

門脈内腫瘍栓や多発肝内転移を伴う進行肝細胞癌に対して、インターフェロン- α /5-FU併用療法(以下IFN/5-FU)は有効な治療法の一つであるが、その機序の詳細は明らかではない。本論文では、その中でIFN/5-FU療法が血管新生抑制効果を有し、血管新生因子であるVEGFの調整機構に関与することに着目し、VEGF受容体阻害薬であるPTK787/ZK222584 (Vatalanib®、以下PTK/ZK) を併用し、IFN/5-FU療法の持つ抗腫瘍効果に対する影響と、その機序について検討した。その結果、PTK/ZK併用により、IFN/5-FU療法の肝細胞癌に対する抗腫瘍効果が増強することを確

認するとともに、その機序については、アポトーシスの増加と細胞周期への影響であることを明らかにした。

以上より、VEGFシグナル伝達を阻害することで、IFN/5-FU療法の肝細胞癌に対する抗腫瘍効果は、アポトーシス誘導と細胞周期制御を介して増強することが示された。

このことは進行肝細胞癌の予後改善と新規治療法の開発の可能性に寄与することを示すものであり、博士（医学）の学位授与に値すると考える。