

Title	Insulin-like growth factor-binding protein 7 alters the sensitivity to interferon-based anticancer therapy in hepatocellular carcinoma cells
Author(s)	富丸, 慶人
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58125">https://hdl.handle.net/11094/58125</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">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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

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

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

Osaka University

## 論文内容の要旨

### 〔 目 的 〕

高度進行肝細胞癌は、既存のあらゆる治療法に対して治療抵抗性を示し、余命は約6か月と極めて予後不良な病態である。このような高度進行肝細胞癌に対する、5-フルオロウラシル（5-FU）肝動注化学療法にインターフェロン（IFN）- $\alpha$ を併用するIFN併用動注化学療法は、1年生存率37%、3年生存率11%という極めて良好な成績を示す。治療効果別に予後改善の程度を評価すると、奏効例では予後の劇的な改善が見込まれるのに対し、非奏効例ではその予後は極めて不良であるため、更なる治療成績向上のためには治療効果予測が重要であると考えられる。しかしながら、現在のところ、治療効果予測に有用な因子は明らかにされていない。そこで、今回、IFN- $\alpha$ に対する耐性を示す肝細胞癌株を樹立し、樹立した細胞株の網羅的遺伝子発現解析を行い、新たな治療効果予測に有用な因子を同定した。

### 〔 方 法 〕

肝細胞癌株PLC/PRF/5にIFN- $\alpha$ を持続的に曝露させてIFN- $\alpha$ に耐性を示す株を作成し、クローニングを行い、3種類のIFN耐性肝細胞癌株を樹立した。親株と樹立した耐性株からmRNAを抽出し、ヒト全遺伝子搭載DNAチップを用いて網羅的遺伝子発現解析を行った。両細胞株間に有意に発現差を認める候補遺伝子を選択し、その遺伝子がIFN- $\alpha$ に与える影響について検討した。遺伝子導入はLipofection法にて行い、薬剤耐性はMTT法にて評価した。遺伝子レベル、蛋白レベルでの発現解析は、それぞれqRT-PCR、western blot法にて行った。また、IFN- $\alpha$ /5-FU併用動注化学療法に対する治療効果の明らかな高度進行肝細胞癌30例の癌組織標本における発現解析は、免疫組織化学染色にて行った。

### 〔 成 績 〕

樹立したIFN耐性株は、親株と比較して、IFN- $\alpha$ に対する耐性が有意に増強していた。これまでの研究にてIFN- $\alpha$ の治療効果と関連することが確認できていたIFN受容体は両細胞株において陽性であり、その下流のStat1, 2, 3の発現状況も同様であった。耐性株と親株の網羅的遺伝子発現解析の結果より、両細胞株間に有意に発現差を認める107遺伝子を同定した。今回、耐性株において発現が有意に低下していたInsulin-like growth factor binding-protein 7 (IGFBP7)に注目した。まず、親株へのIGFBP7 shRNA発現プラスミド導入によるIGFBP7の発現を抑制する実験を行った。IGFBP7 shRNA導入株では、コントロール株と比較して、IFN- $\alpha$ に対する薬剤耐性の有意な増強を認めた。IGFBP7 shRNA導入株では、IFN- $\alpha$ によって誘導されるアポトーシスおよびカスパーゼ3, 8, 9も有意に減少していた。IGFBP7 shRNA導入株では、他の薬剤に対しても耐性の増強を認めた（IC50の変化:5-FU:1.28倍、シスプラチン:1.24倍、ドキソルビシン:1.52倍）が、IFN- $\alpha$ に対する薬剤耐性の増強の方が有意に大きかった（IFN- $\alpha$ :14.38倍）。また、他の肝細胞癌株（HLE, Hep3B）においても、IGFBP7 shRNA導入によって同様の結果が得られた。次に、耐性株にIGFBP7発現プラスミド導入によるIGFBP7を強制発現させる実験を行った。IGFBP7を強制発現させた耐性株では、コントロール株と比較して、IFN- $\alpha$ に対する薬剤耐性の有意な減弱を認めた。さらに、30例の癌組織標本における免疫組織化学染色によるIGFBP7の発現解析では、12例で陽性、18例で陰性であった。陽性12例中、奏効例は8例（66.7%）であったのに対して、IGFBP7陰性18例中、奏効例は4例（22.2%）であり、IGFBP7発現状況は治療効果と有意に相関していた（ $p < 0.05$ ）。また、IGFBP7陽性例の治療後の累積生存率は、陰性例と比較して、有意に良好であった（ $p < 0.05$ ）。

### 〔 総 括 〕

IFN- $\alpha$ /5-FU併用動注化学療法の耐性にはIGFBP7が関与していると考えられた。このことより、IGFBP7は臨床上的効果予測に有用である可能性が示唆された。

【89】

氏 名	とみ 富 まる 丸 慶 と 人
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 4 1 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 3 年 3 月 2 5 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	Insulin-like growth factor-binding protein 7 alters the sensitivity to interferon-based anticancer therapy in hepatocellular carcinoma cells (Insulin-like growth factor-binding protein 7 (IGFBP7)は肝細胞癌細胞におけるインターフェロン併用化学療法の治療効果を変化させる)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 森 正 樹 (副査) 教 授 福 澤 正 洋 教 授 野 口 眞 三 郎

## 論文審査の結果の要旨

これまでに、高度進行肝細胞癌に対する5-フルオロウラシル（5-FU）肝動注化学療法にインターフェロン（IFN）- $\alpha$ を併用するIFN併用動注化学療法の有効性については教室を含め多くの報告はあるが、現時点ではその治療効果は十分に予測できない。本論文では、樹立したIFN- $\alpha$ 耐性細胞株の網羅的遺伝子発現解析を行い、親株との比較において有意に発現差を認める107遺伝子を同定し、耐性株において発現が有意に低下していたInsulin-like growth factor binding-protein 7（IGFBP7）に注目し、その抗腫瘍効果との関係について検討した。まず、IGFBP7 shRNA発現プラスミドを肝癌細胞株に導入すると、コントロール株と比較して、IFN- $\alpha$ に対する薬剤耐性の有意な増強を認めた。また、耐性株にIGFBP7発現プラスミドを導入すると、コントロール株と比較して、IFN- $\alpha$ に対する薬剤耐性の有意な減弱を認めた。更に、癌組織標本における免疫組織化学染色によるIGFBP7の発現解析の結果、IGFBP7陽性例における奏効率は陰性例よりも有意に高く、IGFBP7発現状況は治療効果と有意に相関することが明らかとなった。これらの結果より、IFN- $\alpha$ /5-FU併用動注化学療法の治療不応答にはIGFBP7が関与していると考えられた。このことは、高度進行肝細胞癌に対するIFN- $\alpha$ /5-FU併用動注化学療法の治療効果予測に加え、今後の臨床成績の向上に寄与するものであり、博士（医学）の学位授与に値すると考える。