The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Fibroblast growth factor-2 enhances NK sensitivity of hepatocellular carcinoma cells
Author(s)	常松, 日奈子
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59725
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

【89】

氏　　名	常　松　日奈子（つね まつ ひな こ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学 位 記 番 号	第　２５９１５　号
学位授与年月日	平成25年３月25日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Fibroblast growth factor-2 enhances NK sensitivity of hepatocellular carcinoma cells （FGF-2は肝癌細胞のNK細胞感受性を増強させる）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教　授　竹原　徹郎 （副査） 教　授　上田　啓次　　教　授　森　　正樹

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

肝細胞癌はウイルス性肝炎やアルコール性肝炎・非アルコール性脂肪性肝炎などの慢性肝疾患から発症するが、前癌状態から肝発癌に至る機序についてはいまだ不明な点が多い。近年、肝臓には先天免疫細胞や獲得免疫細胞が多く存在しており、NK細胞表面に発現している活性化レセプターNKG2Dが腫瘍細胞認識機構において重要な役割を果たしていると考えられている。一方、FGF-2（fibroblast growth factor-2）は腫瘍増殖作用を有する因子の一つであるが、肝硬変患者の血清FGF-2濃度は健常者や肝癌患者の血清FGF-2濃度より高いという報告がある。これまでFGF-2の腫瘍免疫に与える影響を検討した報告はないため、本研究では慢性肝疾患からの発癌過程においてFGF-2が肝癌細胞のNK細胞感受性に与える影響を明らかにすることを目的として、以下の検討を行った。

〔方法〕

正常肝組織と肝癌を含む慢性肝疾患組織におけるFGF-2の発現を免疫組織化学染色にて検討した。また、健常者24例、慢性肝炎80例、肝硬変84例、肝癌患者112例の血清サンプル計300例を用いてFGF-2濃度をELISA法にて測定した。*in vitro*において、肝癌細胞株であるHepG2とPLC/PRF/5におけるFGF-2の発現と炎症性サイトカイン刺激を与えた際のFGF-2の発現変化をWestern blotとReal-time RT-PCR法にて検討した。また、両細胞株にFGF-2を作用させ、NKG2Dのリガンドである MICA（MHC class Ⅰ- related chain A）と、NK細胞の抑制性レセプターNKG2Aのリガンドである HLA class Ⅰ分子の発現変化をflow cytometryにて検討した。さらに、両細胞株に対してFGF-2を作用させた後、NK細胞の細胞傷害活性の変化を^{51}Crリリース法にて検討した。

〔成績〕

FGF-2の免疫組織化学染色の結果、正常肝組織ではFGF-2の発現を認めなかったが、慢性肝疾患組織では肝細胞が染色されFGF-2の発現を認めた。ELISA法で血清FGF-2濃度を測定した結果、血清FGF-2濃度は慢性肝炎群において、健常者群・肝硬変群・肝癌群のいずれに対しても有意な上昇を認めた。また、肝硬変群においては健常者群より血清FGF-2濃度の有意な上昇を認めたが、慢性肝炎群に比して有意に低下していた。肝癌群では有意差は認めないものの、血清FGF-2濃度が肝硬変群より低い傾向にあった。慢性肝疾患患者のうち、同一患者において発癌前後の血清サンプルが得られた6症例についてFGF-2濃度変化の検討を行ったところ、1例を除いた5例において発癌後の血清FGF-2濃度が低下しており、その低下には有意差を認めた。また、肝硬変患者84例を血清FGF-2濃度の中央値で高値群と低値群の2群に分けて肝発癌率を検討した結果、血清FGF-2濃度低値群では高値群に比して肝発癌率が有意に高いという結果が得られた。*in vitro*において、HepG2とPLC/PRF/5におけるFGF-2の発現をWestern blotにて確認した。両肝癌細胞株に炎症性サイトカイン（IL-1β、IL-6）の刺激を与えると、mRNAレベル・タンパク質レベルにおいてFGF-2の発現増加を認めた。次に、両肝癌細胞株にFGF-2を48時間作用させた後、肝癌細胞表面のMICAとHLA class Ⅰ分子の発現をflow cytometryで検討した結果、いずれの細胞株においてもFGF-2刺激後のMICA発現が増加していた。一方、HLA class Ⅰ分子の発現はFGF-2刺激により低下していた。これらの結果より、FGF-2は肝癌細胞のNK細胞に対する感受性を高めると考え、^{51}Crリリース法を行ったところ、いずれの細胞株においてもFGF-2添加群においてNK細胞の細胞傷害活性が亢進していた。この増強効果はFGF-2を添加した肝癌細胞にMICAの中和抗体を同時に添加することで打ち消され、FGF-2による肝癌細胞のNK細胞感受性の増強はMICAを介していることが明らかとなった。

〔総括〕

FGF-2は肝癌細胞表面MICAの発現増加を介して、NK細胞に対する感受性を増強させることが示された。

論文審査の結果の要旨

肝細胞癌はウイルス性肝炎やアルコール性肝炎・非アルコール性脂肪性肝炎などの慢性肝疾患から発症するが、前癌状態から肝発癌に至る機序についてはいまだ不明な点が多いのが現状である。今回申請者は、FGF-2(fibroblast growth factor-2)が慢性肝疾患組織において発現していること、血清FGF-2濃度が慢性肝炎患者において高値であり肝癌患者では低値であること、FGF-2添加により腫瘍細胞認識機構において重要な役割を果たしているNK細胞の活性化分子であるMICA(MHC class Ⅰ-related chain A)の発現が増加することを新規に示した。また、in vitroにおいてFGF-2

を添加した肝癌細胞に対するNK細胞の細胞傷害活性が亢進したことから、FGF-2が肝癌細胞のNK細胞感受性を増強することも示した。FGF-2は現在のところ腫瘍増殖促進因子としての作用が多く報告されているが、肝癌の発生段階においては腫瘍免疫の増強に関与している可能性を示した点において、本研究は新規かつ臨床的に意義の高い研究と考えられる。

以上より、申請者は学位の授与に値すると考えられる。