

氏 名	こん どう かん 近 藤 幹
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 3008 号
学位授与の日付	平 成 18 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Cisplatin - dependent upregulation of Death Receptors 4 and 5 Augments Induction of Apoptosis by TNF - related Apoptosis - inducing ligand against Esophageal Squamous Cell Carcinoma (シスプラチンによるデスレセプター 4 と 5 の発現増強は TNF - related Apoptosis - inducing Ligand による食道扁平上皮癌のアポトーシス誘導を増強する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 野 田 亮 教 授 和 田 洋 巳

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】手術手技や化学放射線療法の進歩にもかかわらず、食道癌の予後は不良で、新たな治療方法が求められている。TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) は1997年に発見されたINF サイトカインファミリーで、多くの正常細胞で発現している。TRAIL には4つのレセプターがあり、デスドメインを保持するデスレセプター4 (DR4) と DR5 を介して腫瘍細胞やウイルス感染細胞を標的細胞としてアポトーシスを誘導する。それに対し、デコイレセプター1 (DcR1) はデスドメインが欠落し、又 DcR2 では短縮しているため、アポトーシスを誘導できない。申請者は食道扁平上皮癌に対する TRAIL と化学療法併用による新たな治療について検討した。

【材料と方法】(1)食道扁平上皮癌細胞株19株を用いて RT-PCR 法により TRAIL レセプター mRNA 発現を調べた。(2)細胞株19株の TRAIL とシスプラチン単独及び併用投与に対する感受性をクリスタルバイオレット染色で調べ、(3)これら19株の原発巣の臨床病理学的所見と細胞株における併用投与感受性の関連性を調べた。(4)併用投与感受性細胞株と耐性株各4株を用い、フローサイトメトリー及びヘキスト核染色でアポトーシス誘導の有無を確認し、(5)ウエスタンブロット法でアポトーシス関連蛋白の活性化や発現量の変化を調べた。(6)併用投与による感受性増強の要因としてシスプラチンによる TRAIL レセプター発現の変化をフローサイトメトリーで確認した。(7)更に、併用投与感受性細胞株で TRAIL、シスプラチン時間差投与の有用性について検討した。(8)最後に、併用投与感受性細胞株の KYSE170 をヌードマウスに皮下移植し、*in vivo* での併用療法の効果について検討した。

【結果】(1)19株すべてで DR4 と DR5 の発現を認め、DcR1 と DcR2 の発現率はそれぞれ95% (18/19株) と79% (15/19株) であった。(2)TRAIL (50ng/ml) 単独投与では1株、シスプラチン (5 μ g/ml) 単独では3株、両者併用では7株 (37%) で感受性を認め、(3)併用投与に対する感受性と臨床病理学的所見では有意な相関性は見られなかったが、高分化型癌に耐性株が多い傾向が見られた。(4)また、併用投与感受性株でアポトーシスの誘導とアポトーシスに特異的な核の変化を認め、(5)更にアポトーシス関連蛋白の caspase-8 と -3 の活性化を、また、シスプラチン単独投与で XIAP と FLIPs の発現減少を認めた。(6)併用投与感受性株ではシスプラチンによる細胞膜 DR4 と DR5 の発現増強を認め、(7)シスプラチンと TRAIL を時間差投与したところ、4株すべてでシスプラチン前投与群がシスプラチン後投与群に比べ有意に抗腫瘍効果が増強した。(8)ヌードマウスへの癌細胞移植後の *in vivo* 実験では TRAIL 単独投与群に比べ両者併用投与群で有意に ($p < 0.001$)、またシスプラチン単独投与群に比べ有意差はなかったものの腫瘍増殖抑制効果増強を認めた。TRAIL をシスプラチンに追加することで副作用の増強は見られなかった。

【結論】食道扁平上皮癌にシスプラチンと TRAIL を併用すると副作用を増強することなく、抗腫瘍効果の増強を期待できる。メカニズムとしてシスプラチンによる細胞膜 DR4、DR5 発現の増強が重要な因子と考えられ、時間差投与により臨

床応用にも期待できると考えられた。

論文審査の結果の要旨

申請者は近年 Expression Sequence Tag より新たに発見された TNF サイトカインである TRAIL 投与による抗腫瘍効果について食道扁平上皮癌及びマウス移植モデルを用いて検討した。

食道扁平上皮癌細胞株において、TRAIL レセプターである DR4 と DR5 の発現は100% (19/19株) と高頻度で、抗癌剤のシスプラチンとの併用投与に対して7株で感受性を認めた。これらの細胞株では併用投与によるアポトーシスの誘導が細胞レベルでも蛋白レベルでも観察され、シスプラチンによる細胞膜表面の DR4 と DR5 の発現増強及び、抗アポトーシス蛋白である cFLIP と XIAP の減少も確認された。19株の原発食道癌の臨床病理学的データと比較したところ、高分化型の食道癌では TRAIL を用いた処置に抵抗性である傾向が見られた。ヌードマウスを用いた *in vivo* の実験でも TRAIL とシスプラチンの併用投与で腫瘍増殖抑制効果を認め、生体内でも食道扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果があることが確認された。更には臨床的に副作用が起りやすい両薬剤同時投与ではなく、シスプラチンを先に投与してから TRAIL を投与する時間差投与が投与順序を入れ替えた場合より抗腫瘍効果が高いことを証明し、TRAIL を食道癌治療に臨床的に用いる場合の投与指針の目安となりうる実験結果を得た。

以上の研究は TRAIL と抗癌剤との併用による食道癌に対する新たな治療方法の可能性を示唆し、将来の食道癌治療へ寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年3月22日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。