

氏名	辻 昭一郎
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医博第 2633 号
学位授与の日付	平成 15 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	Endogenous Decoy Receptor 3 blocks the growth inhibition signals mediated by Fas ligand in human pancreatic adenocarcinoma に関する研究 (ヒト膵癌における内院性 Decoy Receptor 3 の Fas ligand を介した細胞増殖抑制シグナルに対する阻害作用に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 千葉 勉 教授 野田 亮 教授 今村 正之

### 論 文 内 容 の 要 旨

多くの癌では Fas を発現しているにもかかわらず、Fas を介したアポトーシスが誘導されにくい。本研究は誘導回避の機構として Decoy Receptor 3 (以下 DcR3) に着目した。DcR3 は Tumor Necrosis Factor 受容体ファミリーに属する分泌蛋白であり、Fas ligand と高親和性を有する。Fas 高感受性の Jurkat 細胞では外因性の DcR3 により、Fas を介したアポトーシス誘導が競合阻害される。一方、膵癌は Fas 刺激に対し極めて高い抵抗性を示すが、膵癌における DcR3 発現の多寡を定量的に評価した報告はなく、また DcR3 が膵癌の Fas 抵抗性に寄与しているかどうかの検討もなされていない。本研究は膵癌組織、膵癌細胞株の DcR3 の発現と、膵癌細胞株の Fas 抵抗性における DcR3 の役割について検討した。

TaqMan RT-PCR 法により、膵癌組織 15 例中 10 例、および膵癌細胞株 7 株中 5 株に DcR3 mRNA 発現量が増強していた。癌部における DcR3 発現と膵癌取り扱い規約に基づく膵癌患者の血管浸潤因子と有意な正の相関を認めた ( $P=0.026$ )。Western blotting 法を用いて膵癌細胞株の DcR 蛋白の発現を検討した結果、膵癌細胞株の細胞内および培養上清における DcR3 蛋白の発現量は DcR3 mRNA の発現量と極めてよく相関した。

膵癌細胞株は Fas 刺激に対し高度の抵抗性を示すため、これまでは DcR3 のように中和抗体や阻害剤などが利用できない分子がどの程度 Fas 抵抗性に寄与しているかを検討することは困難であった。しかし Interferon gamma で前処置を行うと、機能的抗 Fas 抗体 (CH-11) (1-100ng/ml) により膵癌細胞株 7 株中 5 株の細胞増殖が濃度依存性に抑制されることを初めて示した。Hoechst 染色と DNA 断片化により、この細胞増殖抑制とアポトーシスとの関連が示唆された。Western blotting 法により、Interferon gamma の前処置では膵癌細胞株の Fas 発現が増強しないことが示され、Fas の発現量と CH-11 による膵癌細胞株の増殖抑制には相関がないことも示された。 ( $P=0.165$ )。また DcR3 の発現量と CH-11 による膵癌細胞株の増殖抑制にも相関はなかった ( $P=0.257$ )。

DcR3 が Fas ligand の作用のみを阻害し、CH-11 の作用を阻害しないことが考えられたため、Fas ligand 強制発現株 (hFasL/L5178Y) と膵癌細胞株を共培養することにより、Fas ligand の膵癌細胞株に対する増殖抑制効果を検討した。膵癌細胞株 7 株中 4 株で hFasL/L5178Y との共培養により細胞増殖が抑制された。Fas ligand による膵癌細胞株の増殖抑制は培養上清中の DcR3 量すなわち DcR3 の分泌量と有意に相関した ( $P=0.038$ )。さらに DcR3 発現が少なく Fas ligand に感受性のある HPAC 膵癌細胞株の培養上清を DcR3 rich にすることにより、HPAC は Fas ligand 抵抗性に変化した。

以上の結果より外因性および内因性の DcR3 が Fas ligand の膵癌細胞株に対する増殖抑制を阻害することが示された。膵癌組織および膵癌細胞株における DcR3 の高発現を勘案すると、膵癌の Fas 抵抗性において DcR3 が重要な役割を担っていると考えられた。また DcR3 が膵癌治療の新たな標的となる可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

申請者はFasの機能を競合的に阻害する分泌蛋白, Decoy Receptor 3 (DcR3) に着目し, 膵癌におけるDcR3の発現と意義をTaqMan RT-PCRとFas ligand 強制発現株を用いた実験により検討した。

TaqMan RT-PCR では膵癌患者から得られた15標本中10標本と膵癌細胞株7株中5株にDcR3発現量の増強を認め, 癌先進部でのDcR3発現と血管浸潤の程度の間有意な正の相関を認めた ( $P=0.026$ )。機能的抗Fas抗体 (CH-11) の単独接触は膵癌細胞の増殖抑制には無効であったが, インターフェロンの前処置により, CH-11は膵癌細胞株7株中5株の増殖を濃度依存性に抑制した。この増殖抑制の多くはアポトーシスであった。Fas ligand の強制発現株は膵癌細胞7株中4株の増殖を抑制した。その抑制の程度はDcR3分泌量に反比例していた。DcR3発現が軽度でFas ligand 高感受性のHPAC膵癌細胞株は, 外因性DcR3添加によりFas ligand に対する感受性が低下した。結論として, 膵癌ではDcR3の発現増強があり, Fas ligand の細胞増殖抑制をDcR3が阻害していること, またインターフェロンの併用の膵癌治療における有効性が示唆された。

本研究は, 膵癌におけるDcR3の意義を明らかにするとともに, 今後の膵癌治療法の研究に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15年4月21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。