

氏 名	シヨウ トウ コウ 尚 東 浩
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3091 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 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 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Synergy of Interferon- α and 5-fluorouracil in Human Renal Cell Carcinoma Requires p53 Activity (腎細胞癌株において Interferon- α と 5-fluorouracil の相乗作用には p53 の活性が必須である)
論文調査委員	(主 査) 教 授 武 田 俊 一 教 授 野 田 亮 教 授 松 田 道 行

論 文 内 容 の 要 旨

腎細胞癌の治療において免疫療法と抗がん剤の併用療法はある程度効果があるものの、その相乗作用はまだ十分に解明されていない。この研究では Isobolographic analysis を用いて五つの腎細胞癌株における IFN- α と 5-FU の相乗作用の有無を検討し、そのメカニズムについて解析した。さらに相乗作用に p53 の状態がどのような影響を及ぼすかを検討した。

今回の研究で使用した 5 つの腎細胞癌株は、いずれも p53 は野生型である。薬剤の増殖抑制効果は WST-1 アッセイを用いて薬剤負荷後 48 時間で測定した。相乗作用のメカニズムを解析するため、アポトーシス誘導と細胞増殖能の両面から検討した。アポトーシスの検出には FACS 法、ヘキスト法と Caspase 活性アッセイを用い、細胞増殖能のマーカーとして PCNA 発現量を Western blot にて評価した。p53 の影響を調べるため、Dominant-negative vector を細胞株にトランスフェクションし相乗作用の変化を解析した。

IFN- α と 5-FU は野生型 p53 を持つ腎細胞癌株すべてにおいて相乗作用を認めた。IFN- α 単独投与時には G1 または G2 cell cycle arrest を認めたが、アポトーシスは誘導されなかった。逆に 5-FU は濃度依存的にアポトーシスを誘導し、IFN- α と 5-FU 併用投与すると 5-FU 単独投与群に比べてアポトーシスが有意に亢進していた。また、IFN- α 単独投与時は PCNA の発現量が低下するが、5-FU 単独投与時は PCNA 発現量はほとんど変化なく、併用時も PCNA 発現量に有意な差は認められなかった。p53 dominant-negative vector を導入すると、p53 が不活化され相乗作用が消失した。以上より、アポトーシスの亢進が IFN- α と 5-FU の相乗作用の主なメカニズムであろうと考えられ、その相乗作用には p53 の活性が必要であるので、p53 の活性が相乗作用を期待できる指標となることが示唆された。

原発性腎細胞癌では p53 の変異は稀と考えられているが、転移性腎細胞癌では頻度は低くない。p53 の変異のある腎細胞癌に対して p53 の活性を回復させると、IFN- α と 5-FU 併用療法の奏効率の著明な改善が期待できるかもしれない。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

進行性腎細胞癌に対する免疫療法と化学療法の併用療法は、ある程度の有効性が報告されているが、相互の作用機序はまだ十分に解明されていない。本研究では腎細胞癌細胞株における IFN- α と 5-FU の相乗効果の有無とそのメカニズムについて解析し、さらにこの併用機序における p53 の役割を検討している。

Isobolographic analysis 法を用いて 5 つの野生型 p53 を持つ腎細胞癌株とその Dominant-negative vector 導入細胞株において相乗作用の変化を解析した。その結果、IFN- α と 5-FU との併用は野生型 p53 を持つ腎細胞癌細胞株すべてにおいて相乗作用が認められた。IFN- α 単独投与時には G1 または G2 cell cycle arrest が認められ、5-FU は濃度依存的にアポトーシスを誘導した。また、IFN- α と 5-FU 併用投与すると 5-FU 単独投与に比べてアポトーシスが有意に亢進した。しかし p53 dominant-negative vector の導入によって p53 を不活化させると相乗作用は消失した。以上より、アポトーシスの亢進が IFN- α と 5-FU の相乗作用の主なメカニズムと考えられ、その相乗作用には p53 の活性が必要であることが示

された。腎細胞癌における p53 変異の頻度は低い³が、p53 変異のある腎細胞癌では、何らかの方法で p53 の活性を回復させることにより IFN- α と 5-FU 併用療法の効果改善が期待でき、また p53 の活性を指標として免疫化学療法の有効性が判定出来る可能性が示唆された。

以上の研究は腎細胞癌における免疫化学療法の作用機序解明に貢献し、進行性腎細胞癌に対する新しい治療戦略の確立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みとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成19年2月14日実行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。