

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因性 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DcR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。