

氏名	まつもと かず や 松本和也
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第530号
学位授与年月日	平成17年 9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Differential effects of interferon alpha-2b and beta on the signaling pathways in human liver cancer cells (インターフェロン α -2bと β の肝癌細胞での細胞内シグナル伝達系への異なる影響)
学位論文審査委員	(主査) 池口正英 (副査) 清水英治 村脇義和

学位論文の内容の要旨

インターフェロン(IFN) α -2b および IFN β は抗ウイルス効果とともに、細胞増殖抑制や免疫調整作用等多くの生物活性を有している。これら IFN は慢性ウイルス性肝炎の治療に有用であるととともに、肝発癌を抑制すること、更には肝癌治療後の再発を抑制することが知られている。ただこれら IFN の肝癌細胞に対する増殖抑制効果や細胞内シグナル伝達経路は不明の点が多い。今回、IFN α -2b および IFN β の肝癌細胞増殖に対する影響とともに、これに関連する細胞内シグナル伝達経路を検討した。

方法

ヒト肝癌由来の Hep3B、HLF、Huh6、PLC/PRF/5 の4種類の細胞株に、IFN α -2b および IFN β を添加した後、細胞増殖は MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenylterazolium bromide)法、細胞周期とアポトーシスはフローサイトメトリー法にて評価した。IFN レセプター(IFNAR1、IFNAR2)の発現は、各レセプター特異的プライマーによる RTPCR 法を用いた。STAT1(signal transducer and activation of transcription)、ERK(extracellular signal-regulated kinase)、AKT、JNK(Jun terminal kinase)、p38MAPK(p38 MAP kinase)の細胞内シグナル伝達経路の活性化は、各リン酸化特異抗体を用いた Western blot 法にて評価した。

結果

4種すべての肝癌細胞株で IFNAR1と IFNAR2の発現を認めたが、今回の実験は主として HLF 細胞株で行った。IFN α -2b 添加により STAT1、ERK の活性化を、IFN β 添加により STAT1、

ERK および AKT の活性化を認めた。p38MAPK、JNK 活性はこれらの IFN 添加により影響を受けなかった。次に、ERK、AKT と STAT1 との相互関係を検討した。IFN α -2b 添加に、MEK(mitogen-activated ERK-regulating kinase)阻害剤(U0126)を前投与しても、STAT1 活性に影響を及ぼさなかった。一方、IFN β 添加に加え U0126 あるいは PI3K(phosphatidylinositol-3-OH kinase)阻害剤(LY294002)を前投与すると STAT1 活性は抑制された。従って、IFN α -2b による STAT1 の活性化に ERK は関与していないが、IFN β による STAT1 の活性化は ERK、AKT に依存していた。また、IFN α -2b は G1/S 期での細胞周期停止を誘導したが、IFN α -2b および IFN β 添加は、肝癌細胞増殖抑制効果を示さなかった。IFN により活性化された ERK、AKT の役割を探索する目的で U0126 や LY294002 前投与を IFN に加えて行ったが、細胞周期や細胞増殖は修飾されなかった。

考察

肝癌細胞は IFN レセプターを発現し、IFN α -2b および IFN β 添加後に STAT1 の活性化を認め、G1/S 期の細胞周期停止を誘導したが、細胞増殖抑制効果は認められなかった。一般的に、ERK、AKT は種々の化学療法剤に対する抵抗因子であることが報告されており、今回 IFN α -2b による ERK の活性化、IFN β による ERK および AKT の活性化を認めたが、阻害剤添加実験から肝癌細胞の IFN による増殖抑制効果に対する抵抗機序には、ERK や AKT は関与していないことが示唆された。

結論

IFN α -2b および IFN β は肝癌細胞増殖抑制効果を示さなかったが、ERK、AKT はその抵抗因子ではなかった。したがって、これらの IFN を肝癌治療に応用するためには、その他の抵抗因子を探索する必要があると思われる。

審査結果の要旨

本研究は、ヒト肝癌由来の細胞株を用いて、IFN α -2b および IFN β の細胞内シグナル伝達系への影響と増殖抑制効果について検討したものである。その結果、IFN α -2b 添加により STAT1、ERK の活性化を、IFN β 添加により STAT1、ERK および AKT の活性化を認め、IFN α -2b は G1/S 期での細胞周期停止を誘導した。また、IFN α -2b の場合と異なり、IFN β 添加に加え MEK 阻害剤 U0126 あるいは PI3K 阻害剤 LY294002 を前投与すると STAT1 活性は抑制されたことから、IFN α -2b および IFN β による STAT1 活性化の制御には、それぞれ異なった細胞内シグナル伝達分子機構が関与していることが示された。また、IFN α -2b および IFN β 添加は、肝癌細胞増殖抑制効果を示さなかった。さらに U0126 や LY294002 前投与を行っても、これらの IFN 投与による細胞増殖は修飾されなかった。本論文の内容は、IFN α -2b および IFN β はそれぞれ異なった細胞内シグナル伝達経路に影響を及ぼすが、これらの細胞内シグナル伝達分子は、IFN

による肝癌細胞増殖抑制機構とは直接関与しないことが明らかにされ、IFN による肝発癌抑制の機序の面で明らかに学術の水準を高めたものと認める。

C

C