

論 文 内 容 要 旨

題目 Synergistic anti-tumor activity of miriplatin and radiation through PUMA-mediated apoptosis in hepatocellular carcinoma

(ミリプラチン及び放射線は PUMA を介したアポトーシスにより肝細胞癌に相乗効果を示す)

著者 Hironori Tanaka, Koichi Okamoto, Yasushi Sato, Takahiro Tanaka, Tetsu Tomonari, Fumika Nakamura, Yasuteru Fujino, Yasuhiro Mitsui, Hiroshi Miyamoto, Naoki Muguruma, Akinori Morita, Hitoshi Ikushima, Tetsuji Takayama

令和 2 年発行 Journal of Gastroenterology に掲載予定

内容要旨

肝細胞癌の死亡率は我が国を含むアジアにおいて高く、全世界においても悪性腫瘍死亡率の第 4 位を占めており、有効な治療法の確立が急務である。肝細胞癌のうち、ラジオ波焼灼療法や手術などの局所治療が不能な症例には肝動脈塞栓療法 (TACE) や分子標的薬の投与等が行われているが、早晚脈管浸潤や腫瘍増大により肝不全を来して予後不良である。近年、このような脈管浸潤を有する症例にシスプラチン (CDDP) を用いた化学放射線療法 (CRT) の有効性が報告されたが、必ずしも十分な効果は得られていない。一方、ミリプラチン (MPT) は肝動脈塞栓療法に用いられるリピオドールに親和性の高い油性白金製剤であり、高い組織滞留性、抗腫瘍活性及び安全性が示されている。しかし、MPT を用いた CRT の有効性は報告されていない。そこで本研究では、まず肝癌細胞株を用いて MPT と放射線の相乗効果を調べるとともに、その機序を検討した。また、脈管浸潤を伴う局所進行肝細胞癌に対して MPT 併用 CRT を行い、CDDP 併用 CRT と有効性を比較検討した。

肝癌細胞株 (HepG2、HuH-7) に MPT の活性体である DPC または CDDP を添加し、72 時間後に生細胞数を調べたところ、DPC の IC50 は CDDP に比べて有意に低かった。両細胞に DPC または CDDP を添加した後、0-10Gy の X 線を照射し、120 時間後に生細胞数を評価して Chou & Talalay 法により Combination-Index (CI) を算出したところ、いずれの細胞においても DPC と放射線の併用では $CI < 1$ とな

様式(8)

り強い相乗効果を示した。コロニーアッセイによる長期間培養法においても、同様の結果が得られた。次いで、DPCとX線の相乗効果の機序を調べるために、Flowcytometryによりアポトーシスを評価したところ、DPCとX線の併用群ではAnnexin V陽性細胞が有意に増加し、強いアポトーシスの誘導が示された。また、アポトーシス関連蛋白質の発現をWestern blot法により評価したところ、DPC単独やX線単独処理にてアポトーシス誘導蛋白であるPUMAの発現増加を認め、両者の併用ではより強い発現を認めた。アポトーシスにおけるPUMAの役割を確認するため、両細胞のPUMA遺伝子をsiRNAにてノックダウンしてFlowcytometryを行ったところ、いずれの細胞においても対照群に比べてAnnexin V陽性細胞の割合は有意に低下し、アポトーシスが抑制された。さらに、局所進行肝細胞癌10例を対象にMPT併用CRT療法(day 0にMPTによりTACE, day 7~39にX線2.0 Gy/25Fr)を行い、従来行われていたCDDP併用CRT群とretrospectiveに有効性を比較検討した。その結果、MPT併用CRT群の奏効率は100% (10/10)であり、CDDP併用CRT群(53.3%)に比べて有意に高かった。また、MPT併用CRT群の生存期間(23.6ヶ月)は、CDDP併用CRT群(10.4ヶ月)より長い傾向が認められた。

以上より、MPTと放射線の併用は肝細胞癌に対して相乗効果を示し、その主な機序としてPUMAを介したアポトーシスの増強が示唆された。MPT併用CRT局所進行肝細胞癌に対する有効性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

| | | | |
|------|----------------------------------|----|-------|
| 報告番号 | 甲医第 1465 号 | 氏名 | 田中 宏典 |
| 審査委員 | 主査 島田 光生 副査 原田 雅史 副査 常山 幸一 | | |

題目 Synergistic anti-tumor activity of miriplatin and radiation through PUMA-mediated apoptosis in hepatocellular carcinoma

(ミリプラチン及び放射線は PUMA を介したアポトーシスにより肝細胞癌に相乗効果を示す)

著者 Hironori Tanaka, Koichi Okamoto, Yasushi Sato, Takahiro Tanaka, Tetsu Tomonari, Fumika Nakamura, Yasuteru Fujino, Yasuhiro Mitsui, Hiroshi Miyamoto, Naoki Muguruma, Akinori Morita, Hitoshi Ikushima, Tetsuji Takayama

令和 2 年発行 Journal of Gastroenterology に掲載予定
(主任教授 高山 哲治)

要旨 肝細胞癌の死亡率は我が国を含むアジアにおいて高く有効な治療法の確立が急務である。局所治療が不能な症例には transarterial chemoembolization (TACE) や分子標的薬の投与等が行われているが未だに予後不良である。脈管浸潤症例に cisplatin (CDDP) を用いた chemoradiotherapy (CRT) の有効性も報告されたが効果は十分でない。Miriplatin (MPT) は肝動脈塞栓療法に用いられる油性白金製剤であり、高い組織滞留性、抗腫瘍活性及び安全性が示されているが、MPT を用いた CRT の有効性は報告されていない。

申請者らは、肝癌細胞株を用いて MPT と放射線の相乗効果ならびにその機序を検討し、次いで脈管浸潤を伴う局所進行肝細胞癌症例に対する MPT 併用 CRT 療法の有効性を CDDP 併用群と比較検討した。

得られた結果は以下の通りである。

1. 肝癌細胞株に MPT の活性体である dichloro [(1R, 2R)-1,2-cyclohexanediamine-N,N'] platinum (DPC) を添加後の IC50 は CDDP に比べて有意に低かった。
2. 肝癌細胞株に DPC または CDDP を添加して X 線を照射し 120 時間後の生細胞数から算出した combination index は、DPC と X 線併用群では 1 未満となり強い相乗効果を示した。
3. 肝癌細胞株に DPC 添加・X 線照射を行い、アポトーシス関連蛋白質の発現を評価したところ、DPC 単独や X 線単独処理にてアポトーシス誘導蛋白である PUMA の発現を認め、両者の併用ではより強い発現増加を認めた。
4. 肝癌細胞株の PUMA 遺伝子をノックダウンして DPC 添加・X 線照射を行ったところアポトーシスが有意に抑制された。
5. 局所進行肝細胞癌症例に対する MPT 併用 CRT 群の奏効率は 100% であり CDDP 併用群(53%) に比べて有意に高く、また生存期間(24 ヶ月)も CDDP 併用群(10 ヶ月)より長い傾向を認めた。

以上より、MPT と放射線の併用は肝細胞癌に対して相乗効果を示し、その主な機序として PUMA を介したアポトーシスの増強が示唆された。また局所進行肝細胞癌に対する MPT 併用 CRT の有効性が示唆された。本研究は、今後の肝細胞癌の治療法の開発に寄与するものであり、その臨床的意義は大きく学位授与に値すると判定した。