

氏名(本籍)	野崎礼史(茨城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第6620号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	Effects of thrombopoietin on growth of hepatocellular carcinoma: Is thrombopoietin therapy for liver disease safe or not? (トロンボポエチンが肝細胞癌の増殖に与える影響についての検討: トロンボポエチンによる肝疾患治療法は安全か?)
主査	筑波大学教授 医学博士 正田純一
副査	筑波大学准教授 博士(医学) 竹内薫
副査	筑波大学講師 博士(医学) 小原直
副査	筑波大学助教 博士(医学) 上妻行則

論文の内容の要旨

(目的)

肝硬変 (liver cirrhosis: LC) は予後不良な慢性肝疾患の終末期像である。現在、肝硬変に対する有効な薬剤は存在せず、肝移植のみが唯一の有効な治療法である。研究室にこれまでに、トロンボポエチン (thrombopoietin: TPO) による血小板数の増加が、著明な肝再生促進効果および肝線維化抑制効果を誘導することを報告した。これらの成果をもとに、TPO を用いた血小板増加療法を新たな LC の治療法として臨床応用に向けて開発していく予定である。一方、LC 患者は肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma: HCC) を高率に発症することが知られている。TPO の臨床応用にあたり、TPO が HCC の発癌や進展に与える影響を検討する必要がある。そこで、本研究では TPO が HCC の増殖に与える影響を明らかにすることを目的とした。

(対象と方法)

1. 非癌肝組織や肝癌組織における TPO 受容体 (Myeloproliferative leukemia virus oncogene: MPL) の発現、種々の肝癌細胞株や肝を構成する細胞における MPL の発現をリアルタイム reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) 法で検討した。
2. MPL を高発現している肝癌細胞株である Huh7 を用いて、TPO が増殖関連シグナルや細胞増殖に与える影響について肝細胞と比較して *in vitro* の実験系で検討した。また、TPO が Huh7 の遊走、浸潤、抗アポトーシスに与える影響を *in vitro* の実験系で検討した。
3. ノードマウスの腰背部皮下に Huh7 を移植し皮下腫瘍を作製し、TPO を投与する TPO-treated 群と TPO を投与しない control 群とに分けて皮下腫瘍の体積を比較し、TPO の腫瘍増殖効果について検討した。

(結果)

1. MPL は肝細胞癌や慢性肝炎の組織に比して、正常肝組織において有意に高く発現していた。細胞における検討では、MPL は肝細胞に最も高く発現していた。また、MPL は各種肝癌細胞株にも発現していたが、その発現レベルは Huh7 において最も高く発現していた。

2. TPO の添加により Huh7 では protein kinase B (Akt) のリン酸化の亢進を認め、肝細胞では Akt に加え extracellular signal-related kinase 1 and 2 (ERK1/2) や signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) のリン酸化の亢進を認めた。しかし、Huh7 において Akt 経路の下流に位置する抗アポトーシス関連シグナルは活性化されなかった。また、TPO は Huh7 の細胞増殖、遊走、浸潤、抗アポトーシスに影響を与えなかった。
3. Huh7 の皮下腫瘍モデルにおいて、TPO-treated 群と control 群との間に腫瘍体積の増加に関する有意差を認めなかった。

(考察)

多くの癌細胞株において MPL の発現について報告されているが、その発現量は非常に低いもしくは検出不可能なレベルであると報告されている。今回の検討においても、肝細胞癌における MPL の発現は認められたが、その発現量は非常に低いレベルであった。TPO の添加により、アポトーシス、代謝、細胞増殖など、複数の生物学的プロセスのシグナル伝達を調節する重要な経路である Akt 経路が活性化されたが、遊走、浸潤、抗アポトーシスは促進されなかった。

内因性 TPO が Akt 経路を活性化するのに対し、TPO 受容体アゴニストである eltrombopag は Akt 経路を活性化しないと報告されている。このことより、血小板増加薬では Akt 経路を介さない TPO 受容体アゴニストが安全に臨床応用出来る可能性がある。

審 査 の 結 果 の 要 旨

血小板の有する肝再生促進効果が実証されており、現在、TPO による肝再生促進効果についても検討がなされている。肝硬変症は肝がんのハイリスク群であることより、本研究は肝がん細胞株に対する TPO の生物学的効果を解明している。大変興味深い内容の論文である。

本研究成果は、LC の患者においては既に微小な HCC を有している肝病態を想定すると、TPO が既存の HCC に対して有意な生物学的効果を及ぼさない点より、臨床応用に向けて有意義な内容である。しかしながら、今後の課題として、TPO の長期投与モデルにおいて肝発がんに対する影響について解析を加える必要がある。その際には、肝発がん因子として重要な細胞周期の変化、血管新生などの項目について検討を加える必要がある。遺伝子改変マウスなどの自然発癌モデルにおける TPO を投与実験も有意義であると考えられる。また、AML の芽球には MPL が発現しており、TPO が細胞増殖を促進したという報告があり、肝がん細胞以外のがん細胞に対する TPO の効果に関しても確認しておく必要がある。

平成 24 年 12 月 28 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。