

氏名	黒川 友博		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 7856 号		
学位授与年月	平成 28 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	The Eltrombopag anticancer effect on hepatocellular carcinoma (エルトロンボパグの肝細胞癌に対する抗腫瘍効果)		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	原 尚人
副査	筑波大学教授	医学博士	島居 徹
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	大林 典彦
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	福田 邦明

論文の内容の要旨

(目的)

肝細胞癌は肝炎、肝硬変を背景に発癌することが多く、発症時に血小板減少を呈していることが少なくない。肝移植の適応にならないような進行肝細胞癌に対する化学療法は現在のところソラフェニブのみであるが、血小板減少症のある肝硬変患者は適応にならない。輸血や脾摘などを行わず、非侵襲的に血小板を増加させることができる薬剤としてトロンボポエチン(TPO)が知られている。我々は、第1世代TPOを用いて、血小板増加が肝線維化抑制効果を示すこと、一方でTPOがヒト肝癌細胞株に対する細胞増殖促進効果がないことなどを示してきた。しかし第1世代TPOは、臨床治験の段階で中和抗体が誘導され、逆に血小板数が減少する有害事象が出現した。現在、中和抗体の産生を誘導しない低分子の第2世代TPO受容体作動薬として難治性ITPに対しエルトロンボパグ(EP)が承認されている。最近このEPにはTPO受容体のない白血病細胞株などに対する抗腫瘍効果が報告されている。本研究では、EPがもつ鉄キレート作用に着目しEP自体に肝細胞癌に対する抗腫瘍効果があれば、血小板増加作用による肝線維化抑制効果と合わせて、ソラフェニブ以外に有効な抗がん剤のない肝細胞癌に新たな治療法となる可能性があると考え、EPのヒト肝細胞癌細胞株に対する抗腫瘍効果とソラフェニブ併用効果を検討した。

(対象と方法)

i) ヒト肝細胞癌細胞株 Huh7, HepG2, Hep3B に EP を添加し, 殺細胞効果を検討した. ii) EP には白血病細胞に対する鉄キレート作用が報告されている. そこでヒト肝細胞癌細胞株 Huh7, HepG2, Hep3B にクエン酸鉄アンモニウム(FAC)を添加し鉄補充をすることでEPの抗腫瘍効果に変化するか検討した. iii) EP のヒト肝細胞癌細胞株 Huh7 に対する抗腫瘍効果および鉄キレート効果を簡易 FACS を用いて cell cycle を見ることで及び western blot 法を用いてシグナル; cyclinD1, p21 を見ることで検討した. iv) 既存の鉄キレート剤で最も臨床に用いられているデフェロキサミン(DFO)との抗腫瘍効果をヒト肝細胞癌細胞株 Huh7 を用いて比較した. v) ヒト肝細胞癌細胞株 Huh7 に EP とソラフェニブを併用投与し, その効果を combination index を用いて検討した.

(結果)

i) 3 種類のヒト肝細胞癌細胞株に EP を添加すると濃度依存性に殺細胞効果(IC50 は 4.7~5.7 μ g/ml)が認められた. ii) FAC を添加することで EP の抗腫瘍効果は相殺された. iii) EP 投与により G2/M 期の細胞が減少し, G0/G1 期での cell cycle arrest が生じていること及び cyclin D1, p21 の低下がみられた. iv) 既存の鉄キレート剤 DFO とほぼ同等の抗腫瘍効果を認めることがわかった. v) ヒト肝細胞癌細胞株に対する抗腫瘍効果は低濃度においてソラフェニブに拮抗しないことが示唆された.

(考察)

我々の実験結果から, EP は鉄キレート作用によって細胞周期を停止させることによりヒト肝細胞癌細胞株に対する抗腫瘍効果を示したと考えられる.

rhTPO が HCC に対して腫瘍増殖効果を示さないことや EP が短期間の使用であれば HCC を増悪させないことなどの EP に関わる安全性の報告は既になされており, それらの濃度は今回の実験結果で得られた抗腫瘍効果を示す濃度に十分当てはまる. さらに, 遺伝性ヘモクロマトーシスにおいて肝癌の発生頻度が高いこと, アフリカにおける鉄製ビール樽による肝癌の高発生, 鉄キレート剤が HCV 患者の発がんを抑え肝機能も改善することなど鉄過剰症と肝細胞癌についても十分な既報が存在しているが, 我々の実験においても鉄補充をすると抗腫瘍効果が減弱されること, p21, cyclinD1 がともに低下し, cell cycle arrest が起きていることから, 十分な鉄キレート効果により肝細胞癌に抗腫瘍効果を示していることがわかった.

その上, TPO 受容体作動薬である EP が, 鉄キレート効果でヒト肝細胞癌株に抗腫瘍効果を示すことは, 市販品や開発の段階で中断した既存薬剤を新規効能として再利用あるいは再生させるドラッグ・リポジショニングにも当てはまり, これは近年の創薬技術やバイオインフォマティクスなどの発展により, イノベーションギャップを解消する新たな創薬ツールとして注目されているものである.

また, EP は, ヒトとチンパンジーにしか効果のない薬であり, 動物実験が非常に困難であるため, 前述の安全性の既報と ITP など他疾患で臨床において使用され十分な安全性が担保されていることから, ソラフェニブ以外に有効な抗がん剤のない肝細胞癌に血小板増加作用による肝線維化抑制効果と合わせて, 新たな治療法を確立すべく, 今後は, 臨床試験を行っていくべきと考える.

EP は濃度依存性に細胞周期を停止させることによりヒト肝細胞癌に抗腫瘍効果を示し, 現在唯一の抗腫瘍剤であるソラフェニブに拮抗しないことが示唆された. EP は肝硬変や血小板減少を伴う肝細胞癌患者にとって新規治療薬となる可能性を示した.

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は血小板増加作用薬である第2世代TPO受容体作動薬エルトロンポバグの抗腫瘍効果に着目している。この薬剤がもつ鉄キレート作用に着目し、胞癌細胞株に対する抗腫瘍効果を証明したことは非常に高く評価できる。肝細胞癌に血小板増加作用による肝線維化抑制効果と合わせて、新たな治療法を確立すべく、臨床試験を予定しており、すぐに臨床応用できることも評価できる。

平成28年1月8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）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。