慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Down-regulation of matrix-invasive potential of human liver cancer cells by type I interferon and a histone deacetylase inhibitor sodium butyrate.
Sub Title	I型インターフェロン及び酪酸によるヒト肝細胞癌株に対する細胞外基質浸潤抑制効果
Author	金子, 文彦
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.18-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0018

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Down-regulation of matrix-invasive potential of human liver cancer cells by type Ⅰ interferon and a histone deacetylase inhibitor sodium butyrate.

（Ⅰ型インターフェロン及び酪酸によるヒト肝細胞癌株に対する細胞外基質浸潤抑制効果）

金子　文彦

内容の要旨

我々は培養ヒト肝癌細胞株を分化誘導させることにより、その悪性度を低下させることを検討してきた。特にインターフェロン-αやヒストン脱アセチル化阻害薬である酪酸が、ヒト肝癌細胞の増殖を濃度依存性に抑制し、正常への形成変化を誘導することを報告してきた。

本研究では肝癌細胞の転移機序における細胞外基質浸潤に着目し、インターフェロン及び酪酸がヒト肝癌細胞の細胞外基質（マトリゲル）浸潤および浸潤に重要な役割を果たすマトリックスプロテアーゼ活性に及ぼす作用につき検討した。

６種類のヒト肝癌細胞株（HLE，HLF，PLC/PRF/5，HepG2，HCC-T，HCC-M）を用いたマトリゲルインベージョンアッセイによるマトリゲル浸潤能の測定では、HLEとHLFのみが高浸潤能を示した。HLEとHLFを１×10^3U/mlのインターフェロン、２mMの酪酸にて７日間刺激培養したところ、アポトーシスは誘導されなかったが、細胞形態が変化し、マトリゲル浸潤能は有意に低下した。また、ゼラチンザイモグラフィーによる検討では、HLEとHLFは活性型MMP-2、潜在型MMP-2、活性型MMP-9、潜在型MMP-9を分泌していたが、インターフェロン、酪酸により両細胞株ともこれらMMPの発現は有意に低下した。さらに、両細胞株の分泌する活性型MMP-2，9を測定したところ、インターフェロン、酪酸により発現が低下した。リアルタイムRT-PCRによる検討では、MMP familyの中でもⅠ型コラーゲンの溶解に重要なMMP-1 mRNAの発現がインターフェロン、酪酸刺激により低下した。MMPの拮抗物質であるTIMP-1 mRNA、TIMP-2 mRNAの発現に関しては、インターフェロンによって共に有意な発現の増加が認められたが、酪酸刺激ではわずかに減少し、インターフェロンと酪酸はマトリゲル浸潤能を抑制するものの、そのメカニズムには相違があると推察された。

以上の結果より、インターフェロンと酪酸は、ヒト肝癌細胞のマトリゲル浸潤能を抑制し、さらにマトリックスプロテアーゼ－２、９の発現を抑制することにより、転移を抑制することが示唆された。

論文審査の要旨

肝細胞癌は主に血行性に肝内、肝外へと転移し、同時性異時性多発癌とともに転移の有無が予後を左右する。本研究では、近年進行肝細胞癌の治療に用いられてきているⅠ型インターフェロン(IFN)とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である酪酸（SB）の細胞外基質浸潤能とMMPの発現に及ぼす効果を検討した。６種類のヒト肝癌細胞株の中からマトリゲルインベージョンアッセイにて高浸潤能を示したHLEとHLFを、１×10^3U/mlのIFN、２mMのSBにて刺激培養したところ、アポトーシスは誘導されなかったが細胞形態が変化し、マトリゲル浸潤能は有意に低下した。また、ゼラチンザイモグラフィーにて、HLEとHLFは活性型、潜在型MMP-2，9を分泌していたが、IFN、SBによりこれらの発現は有意に低下した。さらに、分泌された活性型MMP-2，9をELISAで測定したところ、両薬剤により発現が低下した。リアルタイムRT-PCRによる検討では、MMP familyの中でもⅠ型コラーゲンの溶解に重要なMMP-1 mRNAの発現がIFN、SB刺激により低下した。しかしMMPの拮抗物質であるTIMP-1 mRNA、TIMP-2 mRNAの発現に関しては、IFNとSB刺激では効果が異なり、その細胞内シグナル伝達機序には相違があることが推察された。

審査ではまず、IFNとSBによる細胞形態の変化に関して、細胞表面の突起様構造やアクチンの状態など、転移に関連する形態の変化を検討しているかとの質問があり、高倍率で細胞形態を観察すると、IFNやSBにより細胞の突起様構造が減少し、円形の構造をとるようになったこと、過去の検討では、アクチンは減少していたとの返答がなされた。またこれらの薬剤によるMMPの変化は多様であることが考えられるが、他のMMPに関しては検討したのかとの質問に対し、MMP-1，MMP-3，MMP-7，MT1-MMP等のRT-PCRを行ったが、均一な結果が得られなかったとの返答がなされた。また、マトリゲルで高い浸潤能を示した細胞株のみでなく浸潤能の低かった細胞株についてもザイモグラフィーを行うか、MMPのインヒビターを用いた結果を示すべきであったとの指摘があり、論文には示さなかったが、低浸潤能の細胞株を用いたザイモグラフィーでは、MMPの分泌が少なかったとの返答がなされた。また今後臨床応用を考えるならin vivoでのモデル実験も行うべきであるとの指摘がなされた。さらに両薬剤の相乗効果はあるかとの質問に対し、文献的にはin vitroで肝細胞癌株に対して相乗効果があり、その系はSTAT1を介するものであったと返答された。

以上のように、本研究は実験系や結論の導き方に検討すべき課題を残しているものの、近年肝細胞癌に対する抗腫瘍効果の注目されているⅠ型IFN、またヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるSBが肝癌細胞株に対し細胞外基質への浸潤抑制効果を示し、その機序としてMMP-2，9の産生を抑制したことを明らかにした点で、肝臓病学上有意義な研究と評価された。

論文審査担当者　主査　医化学　末松　誠
外科学　北島　政樹　　病理学　坂元　亨宇
病理学　岡田　保典
学力確認担当者：北島　政樹
審査委員長：北島　政樹
研究指導者：石井　裕正（内科学）

試問日：平成16年 6月15日