

論文内容要旨

論文題目

CRM197, an Inhibitor of Heparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor, Can Suppress the Growth of Human Hepatocellular Carcinoma Cells

(へパリン結合性 EGF 様増殖因子阻害蛋白である CRM197 はヒト肝癌細胞の増殖を抑制する)

責任講座：内科学第二 講座

氏 名：宇賀神 智

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】進行肝細胞癌(HCC)は予後不良の疾患であり、化学療法に関しては、依然として科学的根拠のある有効な治療薬が存在しない。へパリン結合性 EGF 様増殖因子(HB-EGF)は、強力な肝細胞増殖因子として知られているが、ジフテリア毒素受容体としての側面も持つ。HCC においては HB-EGF が過剰に発現しており、HB-EGF がオートクライン機序により、HCC の増殖を促進することが知られている。CRM197 は無毒なジフテリア毒素の変異体であり、膜結合型および分泌型 HB-EGF と結合し、HB-EGF の細胞増殖活性を阻害することが知られている。

【目的】HCC に対する新規分子標的治療を開発するために、HCC 株および腫瘍移植マウスにおける、CRM197 の抗腫瘍効果を検討した。

【方法】in vitro : HCC 株 Huh7 と Hep3B に抗 HB-EGF 抗体(25, 50 μ g/ml) または CRM197(0.01, 0.1, 1, 10 μ g/ml)を添加して、24 または 48 時間後に増殖抑制効果を検討した。細胞数は WST-1 アッセイ法で検出した。in vivo : 6 週齢の BALB-c 雄ヌードマウスに Huh7 または Hep3B を移植し、対照群と

CRM197 投与群(0.1, 0.3, 1 mg/kg)の 4 群に分けて、CRM197 を連日腹腔内投与した(2×10^7 cell / mouse, n=8~9)。薬剤投与は、各移植細胞に対して (I) 腫瘍移植と同時に投与開始 (II) 腫瘍生着後(腫瘍径約 5mm)から投与開始の 2 通りで行った。

【結果】 in vitro : 抗 HB-EGF 抗体の添加量が 50 μ g/ml の条件で、Huh7 は 66 % ($p < 0.01$)、Hep3B は 65 % ($p < 0.01$)まで増殖が抑制された。CRM197 の添加量が 10 μ g/ml の条件で、Huh7 は 46 % ($p < 0.01$)、Hep3B は 77 % ($p < 0.01$)まで増殖が抑制された。in vivo : CRM197 の投与量が 1mg/kg/day の条件で、腫瘍体積は対照群と比較して (I) Huh7 において 42 %、Hep3B において 39 %、(II) Huh7 において 57 %、Hep3B において 53 %まで低下した。

【結語】 HB-EGF アンタゴニストである CRM197 は、HCC の増殖を in vitro および in vivo において、顕著に抑制することが示された。CRM197 が HCC に対する有望な分子標的治療薬となる可能性が示唆された。

平成 23 年 / 月 2 / 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：宇賀神 智

論文題目：CRM197, an Inhibitor of Heparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor, Can Suppress the Growth of Human Hepatocellular Carcinoma Cells

審査委員：主審査委員

副審査委員

副審査委員

宇賀神 智 博久
浅尾 裕信
本山 伴一



審査終了日：平成 23 年 / 月 20 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

肝細胞癌は一般的な化学療法の効果が悪く、分子標的治療の開発が強く望まれている。本研究では、肝細胞癌の増殖機転として、heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF)/EGF 受容体 autocrine 機構が重要であることに着目して、この増殖機構をターゲットとする肝細胞癌の分子標的治療の開発を目的とする基礎研究がおこなわれている。ジフテリア毒素の受容体は HB-EGF であること、無毒なジフテリア毒素の変異体として CRM197 があることから、本研究では、CRM197 の肝細胞癌細胞 (Huh7 と Hep3B の 2 つの細胞株を使用) の増殖抑制効果を *in vitro*, *in vivo* で確認し、以下の結果を得ている。

① CRM197 は *in vitro* において抗 HB-EGF 抗体とともに有意な増殖抑制効果を示した。

② ノードマウス移植系においても、CRM197 は有意な増殖抑制効果を発揮した。

以上の結果から、肝細胞癌における CRM197 の有用性が示唆されたとしている。実験結果は明快であり、CRM197 の臨床的な有用性も期待される。

ただし、以下の問題も指摘され、今後の検討を要望した。また、基礎的事項についての知識について一部確認することと、論文中の引用文献に一部不適切なものがあり修正することを要望した。

① 2 つの細胞株の HB-EGF, EGF 受容体の発現を確認すること。

② ノードマウスに形成された腫瘍の組織学的検討。

③ CRM197 の毒性についての検討。

博士論文の予備審査は合格である。

(1, 200 字以内)