

第 16 回 神澤医学賞受賞講演 要旨

「RCAS1 をターゲットとした新たながん分子標的治療の開発」

Development of novel therapeutic strategies against human cancer
by targeting RCAS1

九州大学大学院医学研究院生殖生態病理学教室 准教授

園田 顕三

はじめに

本邦でのがん罹患および死亡者数は増加傾向にあり、公益財団法人 がん研究振興財団統計によると 2008 年の罹患総数は 749,767 人（男性：437,787 人、女性：311,980 人）となっています¹⁾。また、2012 年の厚生労働省人口動態統計によると、がんによる死亡者数 371,909 人（男性：220,747 人、女性：151,162 人）は総死亡者数の 29.6%を占め死亡種別での第 1 位です²⁾。がんによる死亡者数が増加している背景には、初期病変ではなく進行した状態で発見されることや、再発した際に治療が困難となることが挙げられます。このため、現在のがん治療では予後不良な進行・再発がんに対し新たな治療法の開発が望まれており、細胞の増殖や機能に関与する複数の分子をターゲットとした標的治療が臨床応用されるようになりました。しかし、当初期待していた程に満足いく治療効果を認めるに至っておらず、標的とされる分子によっては甚大な有害事象が生じることも報告されています。この現状を打開するためには、多数の候補分子の中から有効性と安全性が期待出来るものを効率よく選択する必要がありますが、候補分子の機能解析が進捗し臨床的意義が理解されている RCAS1 は当に有望な標的分子と考えられます。RCAS1 は当方の研究活動において子宮頸癌細胞株から単離された膜タンパクであり、分泌型に変換されることにより末梢血 T リンパ球や NK 細胞を含む RCAS1 受容体発現細胞に細胞死を誘導します。RCAS1 に関してこれまで 150 を超える科学論文報告がありますが、腫瘍細胞と周囲間質細胞の双方に質的变化を誘導することによって腫瘍の進展に寄与することが証明されてきました。RCAS1 の生物活性を理解し、RCAS1 の発現および機能を人為的に変調させることによって新たながん分子標的治療を開発することを目的とした研究を現在遂行していますので、これまでの研究成果と今後の展望についてご紹介いたします。

これまでの研究成果

RCAS1 は本研究申請者により子宮頸癌細胞株(SiSo 細胞)³⁾から単離された分泌型分子で、末梢血 T リンパ球を含む RCAS1 受容体発現細胞にアポトーシスによる細胞死を誘導します⁴⁾。また、アミノ酸 N 末端が細胞内に、C 末端が細胞外に位置した II 型の膜タンパクであり、分

泌される際にはC末端に存在する coiled-coil 構造で oligomer を形成します。本研究申請者は RCAS1 の発現・分泌機構、アポトーシス誘導能、腫瘍増殖促進作用に関して *in vitro* 実験系における知見の積重ねを行う一方で、臨床サンプルを用いた解析により RCAS1 発現と臨床病理因子との相関や予後因子としての意義について検討を行ってきました。RCAS1 は正常組織から悪性腫瘍への悪性転化シーケンスにおいてその発現頻度が増加し^{5), 6)}、悪性腫瘍の分化度、腫瘍径、臨床進行期、浸潤、脈管侵襲、リンパ節転移と有意な相関を示します⁷⁾。さらに、RCAS1 は脳腫瘍、口腔癌、肺癌、胸膜悪性中皮腫、食道癌、胃癌、膵癌、胆嚢癌、胆管癌、大腸癌、消化管間葉系腫瘍、前立腺癌、腎癌、子宮頸癌、子宮体癌を含む計 15 種類の悪性腫瘍での臨床的予後因子であることが報告されています。

RCAS1 は受容体発現細胞にアポトーシスを誘導しますが、臨床検体を使用した TUNEL 法による検討では子宮頸癌に発現する RCAS1 に相関して腫瘍周囲リンパ球にアポトーシスが誘導されていました⁸⁾。同様の知見は脳グリオーマ、口腔癌、肺癌、乳癌、食道癌、胃癌、胆管癌、大腸癌でも得られており⁹⁾、RCAS1 を介して腫瘍細胞が生体内の免疫サーベイランスから逃避することによって、腫瘍の進展に寄与することが想定されます。RCAS1 は分泌型となり子宮頸癌では腔分泌液中に検出されますが¹⁰⁾、子宮癌および卵巣癌患者血清中には健常者に比し高濃度の RCAS1 が分泌され、RCAS1 値の推移は治療後臨床経過と相関することが明らかとなりました^{11), 12)}。さらに、子宮癌患者での末梢血リンパ球数が血清 RCAS1 濃度に逆相関して減少し、患者血清を用いた *in vitro* 実験系では血清中に存在する RCAS1 により RCAS1 受容体発現細胞の細胞増殖抑制効果が認められることから、RCAS1 はバイオマーカーであることが証明されました。RCAS1 が臨床的に腫瘍マーカーとして有用であるという知見は、これまでに、肺癌、胸膜悪性中皮腫、膵癌、胆嚢癌、胆管癌、パジェット病でも得られています⁹⁾。RCAS1 の分泌機構に関する研究の結果、RCAS1 は ectodomain shedding による proteolysis により分泌され、分泌型に変換されることによって細胞死を誘導することが明らかとなりました¹³⁾。生体の発生、分化、組織の生理学的機能維持に関わる growth factor、interleukin、tumor necrosis factor、Fas ligand 等の分子は、ectodomain shedding 機構により細胞膜から切断され分泌型として機能することから、RCAS1 がこれらの分子同様に生体にとって重要な役割を担っていることが想定されます。実際、RCAS1 はアポトーシス誘導以外にも、血管新生因子である vascular endothelial growth factor を介する血管新生によって *in vivo* 腫瘍増殖を促進することが認められました¹⁴⁾。さらに、腫瘍細胞での RCAS1 発現と matrix metalloproteinase-1 および laminin-5 発現が相関する一方で、腫瘍間質での vimentin 陽性細胞数の減少が確認されました^{15), 16)}。これらの研究成果から RCAS1 が悪性腫瘍の特性を表現する重要な分子であることが理解され、悪性腫瘍に対する標的治療における新たなターゲットとなり得ることが示唆されました¹⁷⁾。

今後の研究展望

新たな分子標的治療開発においては、

- (1) 対象とする分子の生物活性が十分に評価され、理論的に標的治療分子たり得ること

が確認出来ており、かつ、

- (2) 臨床応用される際に安全性が保障されていることが必要十分条件です。

これまでの研究成果から RCAS1 に関する上記 (1) の確認は出来ていますが、(2) は今後の臨床応用を目指した研究において解決しなければならない事項です。

RCAS1 をターゲットとした新たながん分子標的治療の開発においては、今後以下の研究が選択肢として考慮されます：

- ① RCAS1 の機能変調を誘導する新たな抗体の作製
- ② RCAS1 特異的 siRNA の効率良い組織デリバリーおよび発現システムの開発
- ③ RCAS1 の shedding に関与する protease および細胞内シグナル伝達系に対する阻害剤の有効性・有害性に関する評価
- ④ RCAS1 によって誘導される細胞内シグナル伝達系を阻害する small substance の同定

おわりに

21 世紀のがん治療では予後不良な進行・再発がんに対する新たな治療法の開発が望まれています。腫瘍細胞の増殖、浸潤、転移に於ける細胞内シグナル伝達系に関する基礎研究を背景として、複数の分子が標的治療のターゲットとなり臨床応用が行われてきましたが、満足いく治療効果が得られない一方で甚大な有害事象も報告されています。機能解析が進捗し臨床的意義が理解されている RCAS1 は、この現状を打開する有望な標的分子候補の一つと考えられます。RCAS1 は悪性腫瘍のバイオマーカーであり膜型から分泌型へ変換されることによって細胞死を誘導する生物活性を獲得することから、RCAS1 をターゲットとしたがん治療戦略は複数立案可能です。即ち、RCAS1 の発現、機能、分泌機構の制御が考案されますが、近年の生物学、生化学、工学領域の進歩がこの新規治療法開発の一助となるでしょう。本邦で開始されたオリジナリティーの高い RCAS1 研究が医学研究の最終目標である「ベンチからベッドへ」と標記される基礎と臨床研究の架け橋となり、今なお根治出来ない悪性腫瘍を含めた疾患の新たな治療法開発に帰結することを期待しています。

参考文献

1. 公益財団法人 がん研究振興財団、「がんの統計 ’13」、
http://ganjoho.jp/professional/statistics/backnumber/2013_jp.html。
2. 厚生労働省 平成 24 年（2012）人口動態統計（確定数）の概況、「死因簡単分類別にみた性別死亡数・死亡率（人口 10 万対）」、
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei12/>。
3. Kenzo Sonoda, Manabu Nakashima, Toshiaki Saito, Satoshi Amada, Toshiharu Kamura, Hitoo Nakano, Takeshi Watanabe. Establishment of a new human uterine cervical adenocarcinoma cell line, SiSo, and its reactivity to anti-cancer reagents. *Int J Oncol* 6: 1099–1104, 1995.
4. Manabu Nakashima, Kenzo Sonoda, Takeshi Watanabe. Inhibition of cell growth and induction of apoptotic cell death by the human tumor-associated antigen RCAS1. *Nat Med* 5: 938–942, 1999.
5. Kenzo Sonoda, Tsunehisa Kaku, Toshiharu Kamura, Manabu Nakashima, Takeshi Watanabe and Hitoo Nakano. Tumor-associated antigen 22-1-1 expression in the uterine cervical squamous neoplasia. *Clin Cancer Res* 4: 1517–1520, 1998.
6. Kenzo Sonoda, Tsunehisa Kaku, Toshio Hirakawa, Hiroaki Kobayashi, Satoshi Amada, Kunihiro Sakai, Manabu Nakashima, Takeshi Watanabe, Hitoo Nakano. The clinical significance of tumor-associated antigen RCAS1 expression in the normal, hyperplastic, and malignant uterine endometrium. *Gynecol Oncol* 79: 424–429, 2000.
7. Kenzo Sonoda, Shingo Miyamoto, Manabu Nakashima, Norio Wake. Biological role of the unique molecule RCAS1: A bioactive marker that induces connective tissue remodeling and lymphocyte apoptosis. *Front Biosci* 13: 1106–1116, 2008.
8. Kenzo Sonoda, Shingo Miyamoto, Toshio Hirakawa, Hiroshi Yagi, Fusanori Yotsumoto, Manabu Nakashima, Takeshi Watanabe, Hitoo Nakano. Association between RCAS1 expression and microenvironmental immune cell death in uterine cervical cancer. *Gynecol Oncol* 97: 772–779, 2005.
9. Kenzo Sonoda. Novel therapeutic strategies to target RCAS1, which induces apoptosis via ectodomain shedding. *Histol Histopathol* 26: 1475–1486, 2011.
10. Kenzo Sonoda, Manabu Nakashima, Tsunehisa Kaku, Toshiharu Kamura, Hitoo Nakano.

A novel tumor-associated antigen expressed in human uterine and ovarian carcinomas. *Cancer* 77: 1501–1509, 1996.

11. Kenzo Sonoda, Shingo Miyamoto, Toshio Hirakawa, Hiroshi Yagi, Fusanori Yotsumoto, Manabu Nakashima, Takeshi Watanabe, Hitoo Nakano. Clinical significance of RCAS1 as a biomarker of uterine cancer. *Gynecol Oncol* 103: 924–931, 2006.
12. Kenzo Sonoda, Shingo Miyamoto, Fusanori Yotsumoto, Hiroshi Yagi, Manabu Nakashima, Takeshi Watanabe, Hitoo Nakano. Clinical significance of RCAS1 as a biomarker of ovarian cancer. *Oncol Rep* 17: 623–628, 2007.
13. Kenzo Sonoda, Shingo Miyamoto, Manabu Nakashima, Norio Wake. Receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells induces apoptosis via ectodomain shedding. *Exp Cell Res* 316: 1795–1803, 2010.
14. Kenzo Sonoda, Shingo Miyamoto, Ayano Yamazaki, Hiroaki Kobayashi, Manabu Nakashima, Eisuke Mekada, Norio Wake. Biologic significance of RCAS1 as a pivotal regulator of tumor growth via angiogenesis in human uterine cancer. *Cancer* 110: 1979–1990, 2007.
15. Kenzo Sonoda, Shingo Miyamoto, Toshio Hirakawa, Hiroshi Yagi, Fusanori Yotsumoto, Manabu Nakashima, Takeshi Watanabe, Hitoo Nakano. Invasive potency related to RCAS1 expression in uterine cervical cancer. *Gynecol Oncol* 99: 189–198, 2005.
16. Kenzo Sonoda, Shingo Miyamoto, Hiroaki Kobayashi, Shinji Ogawa, Kaoru Okugawa, Shuichi Taniguchi, Norio Wake. The level of RCAS1 expression is inversely correlated with the number of vimentin-positive stromal cells in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 19: 838–843, 2009.
17. Kenzo Sonoda. RCAS1 is a promising therapeutic target against cancer: its multifunctional bioactivities and clinical significance. *Expert Rev Obstet Gynecol* 7: 123–129, 2012.