

神澤医学賞受賞講演

細胞間相互作用からみた卵巢癌腹膜播種の進展機序とその制御に関する研究 -アクチン結合蛋白質カルポニン h1 に着目した腹膜播種遺伝子治療の基礎的検討

九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学 講師 小林 裕明

Multistep phenomenon といわれる癌の浸潤・転移現象には多種多様の分子が関与しているが、その中でも特に細胞の形態、接着、運動に密接に関与すると言われるアクチン蛋白質およびアクチン関連蛋白質カルポニン h1 (calponin h1 : CNh1) の発現低下が転移病巣で普遍的に生じることが最近の大規模な遺伝子検索により報告された 1)。これまで細胞間相互作用に着目して癌研究を進めてきた我々も 2-7)、卵巢癌組織の腫瘍間質で平滑筋型 α アクチン (α -smooth muscle actin : α -SMA) と CNh1 の発現が特異的に低下しており、それが周囲間質への癌浸潤に有利に働いている可能性を報告した 8)。さらに卵巢癌細胞の培養上清中に間質細胞の α -SMA と CNh1 の発現を減弱させ、その細胞骨格を不安定にさせる作用があること、およびその液性因子に血小板由来成長因子 (PDGF) が含まれることを見いだした 9)。

卵巢癌において腹膜播種という特徴的進展形態がその治療を困難にしていることは周知の事実であるが、腹膜播種の機序解明には卵巢癌細胞と腹膜中皮細胞間の cell-cell interaction を解明する実験系が必要である。我々は卵巢癌細胞の培養上清を腹膜中皮細胞層に作用させると、アクチンストレスファイバーの減少を伴う細胞間開裂が生じ、癌細胞が浸潤・通過しやすくなるという実験結果を得た 9)。さらに共同研究者である信州大学分子腫瘍学の谷口俊一郎博士らは、*CNh1* ノックアウトマウスでは全身の組織で α -SMA の発現低下が生じ、メラノーマの血行性転移や腹膜播種が高度に生じること 10)、CNh1 低発現の平滑筋肉腫細胞や線維肉腫細胞へ *CNh1* 遺伝子を導入すると抗腫瘍効果が得られること 11, 12) を報告した。以上の知見から我々は、CNh1 と α -SMA は宿主間質細胞では癌細胞に抗して防御的に作用する一方、癌細胞自体には制癌的に働くのではないかと考え、 α -SMA をコントロールする *CNh1* 遺伝子の腹腔内導入が卵巢癌腹膜播種の治療と成りうるか検討することとした。

アデノウイルスをベクターとして腹膜中皮細胞に *CNh1* 遺伝子を導入したところ、卵巢癌細胞の培養上清存在下でも中皮細胞の CNh1 および α -SMA 発現は減弱しなかった。*CNh1* 導入部に一致してアクチンストレスファイバーが発達し細胞形態が平坦化した中皮細胞層は、卵巢癌細胞の浸潤を明らかに抑制した。一方、卵巢癌細胞に *CNh1* 遺伝子を導入すると、 α -SMA の発現亢進を伴うアクチンストレスファイバーの発達とともに細胞は伸展・平坦化し、細胞運動能の低下を介した浸潤能の低下および足場非依存性の増殖抑制がもたらされた。中皮細胞と卵巢癌細胞の両者に *CNh1* 遺伝子を導入した場合、中皮細胞層に対する癌細胞浸潤を抑制する効果は相加的に増強した。ヒト卵巢癌細胞をヌードマウスの腹腔内に移植すると走査電顕上、平坦かつ整然とした配列を保っていた腹膜中皮細胞に多数の微絨毛様構造が生じて表面が粗造となるが、*CNh1* アデノウイルスを腹腔内に投与した場合、この変化は生じず、腹膜播種が顕著に抑えられマウスの生存率が有意に延長した。治療したマウスに体重減少や腹腔内癒着などの副作用は認めなかった 9)。

以上の様に CNh1 に着目した卵巣癌腹膜播種に対する遺伝子治療は、腹膜中皮を介しての癌細胞浸潤抑制効果と卵巣癌自身に対する抗腫瘍効果の双方向からの治療効果が期待された。更に治療に伴う副作用をマウスに認めなかったことから、化学療法等の卵巣癌に対する他治療と本治療の併用の可能性が示唆された。現在、本治療の臨床応用に向け更なる検討を重ねているが、CNh1 遺伝子治療は、同一遺伝子が癌抑制および宿主防御能の増強という二面的効果を発揮する、新しい概念の卵巣癌腹膜播種に対する治療となりうるであろう。

参考文献

1. Ramaswamy S, Ross KN, Lander ES, Golub TR. *Nat Genet* 33:49-54,2003
2. Kobayashi H, Man S, Graham CH, Kapitan SJ, Teicher BA, Kerbel RS. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:3294-3298,1993
3. Kobayashi H, Man S, MacDougall JR, Graham CH, Lu C, Kerbel RS. *Am J Pathol* 144:776-786,1994
4. Mitsumoto M, Kamura T, Kobayashi H, Sonoda K, Kaku T, Nakano H. *J Cancer Res Clin Oncol* 124:607-614,1998
5. Yahata H, Kobayashi H, Kamura T, Amada S, Hirakawa T, Kohno K, Kuwano M, Nakano H. *J Cancer Res Clin Oncol* 128:621-626,2002
6. Sonoda T, Kobayashi H, Kaku T, Hirakawa T, Nakano H. *Cancer Lett* 196:229-237, 2003
7. Okugawa K, Kobayashi H, Hirakawa T, Sonoda T, Ogura T, Nakano H. *J Cancer Res Clin Oncol* 130:178-186, 2004
8. Kobayashi H, Tsuruchi N, Sugihara K, Kaku T, Saito T, Kamura T, Tsukamoto N, Nakano, H. *Gynecologic Oncology* 48:308-313, 1993
9. Kobayashi H. *Acta Obst Gynaec Jpn* 56:1296-1308, 2005
10. Taniguchi S, Takeoka M, Ehara T, Hashimoto S, Shibuki H, Yoshimura N, Shigematsu H, Takahashi K, Katsuki M. *Cancer Res* 61:7627-7634, 2001
11. Horiuchi A, Nikaido T, Taniguchi S, Fujii S. *J Natl Cancer Inst* 91:790-796, 1999
12. Takeoka M, Ehara T, Sagara J, Hashimoto S, Taniguchi S. *Eur J Cancer* 38:436-442, 2002