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

Title	Suppression of Colorectal Cancer Growth Using an Adenovirus Vector Expressing an Antisense K-ras RNA.
Sub Title	アンチセンスK-ras RNA発現アデノウイルスベクターによる大腸がんの増殖抑制
Author	中野, 雅(Nakano, Masaru)
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.44-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0044

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.

Suppression of Colorectal Cancer Growth Using an Adenovirus Vector Expressing an Antisense K-*ras* RNA.

（アンチセンスK-*ras* RNA発現アデノウイルスベクターによる大腸がんの増殖抑制）

中　野　　雅

内容の要旨

我が国での大腸がんの罹患率は過去20年間で急速に増加しており、1998年における大腸がんの死亡数は胃がん、肺がんに次いで第３位を占める。進行大腸がん、特に外科的切除不能例での化学療法を主体とする治療成績はいまだ満足のいくものではなく、遺伝子治療がこれに代わる新しい治療法として期待されている。大腸がんは複数の遺伝子異常の集積により発生し、この多段階発がん過程においてK-*ras*の変異は細胞複製の促進を介して腺腫からがんへの進展に寄与すると言われている。K-*ras*の点突然変異は大腸がんで40～50%と膵がんに次いで高頻度であることからも、大腸がんの発がん過程においてK-*ras*が中心的な役割を担っている可能性が高い。今回著者はK-*ras*を標的とした大腸がんに対する遺伝子治療法開発の前臨床段階として、アンチセンスK-*ras*RNA発現アデノウイルスベクターAxCA-AS-K-*ras*を用いて大腸がん細胞に対する*in vitro*ならびに*in vivo*での抗腫瘍効果と安全性を検討した。

AxCA-AS-K-*ras*導入後のHCT-15細胞株において、CAGプロモーターによって発現誘導されたアンチセンスK-*ras*RNAの発現を確認し、K-*ras*特異的p21モノクローナル抗体を用いたウエスタンブロット解析では、アンチセンスK-*ras*RNA導入大腸がん細胞株におけるK-*ras*p21蛋白質発現の抑制も確認した。５種類のヒト正常細胞株ではアンチセンスK-*ras*RNA導入による*in vitro*での増殖抑制は認められなかったが、K-*ras*の点突然変異の有無にかかわらず７種類の大腸がん細胞株（HT-29、WiDr、SW1116、HCT-15、NCCCO33、NCCCO34、NCCCO31）すべてにおいて著明な増殖抑制が認められた。次にSPF環境下で飼育したSCIDマウスの左側腹部皮下にHCT-15細胞を注入して皮下腫瘍モデルを作成し、皮下腫瘍が４㎜に達した時点でAxCA-AS-K-*ras*を24時間ごとに３回腫瘍内に直接注入し腫瘍径の経時的変化を観察した。最終投与後７日間にわたりHCT-15皮下腫瘍の増殖抑制が認められ、皮下腫瘍の組織学的検討では広範な細胞死と腫瘍周囲への単核球およびリンパ球の浸潤を認めた。

アンチセンスK-*ras*RNAの導入により*in vitro*だけでなく*in vivo*においても大腸がん細胞の増殖抑制が確認された。特に毒性が認められなかった点も含め、将来的な臨床応用を目指す上で有用な知見が得られた。切除不能肝転移例や閉塞を合併した原発巣など、進行大腸がん局所での腫瘍のコントロールを目的とした新たな治療法としての、アンチセンスK-*ras*RNA発現アデノウイルスベクター腫瘍内注入の有用性を確立するために、今後臨床研究も含めさらに研究を進めたいと考えている。

論文審査の要旨

我が国での大腸がんの罹患率は過去20年間で急速に増加しており、進行大腸がん、特に外科的切除不能例での化学療法を主体とする治療成績は向上している一方で、遺伝子治療が新しい治療法として期待されている。大腸がんの多段階発がん過程において、K-*ras*の点突然変異は細胞複製の促進を介して腺腫からがんへの進展に関与すると言われ、大腸がんでは膵がんに次いで高頻度であることからも、大腸がんの発がん過程においてK-*ras*が中心的な役割を担っている可能性が高い。本研究ではK-*ras*を標的とした大腸がんに対する遺伝子治療法開発の前臨床段階として、アンチセンスK-*ras* RNA発現アデノウイルスベクターAxCA-AS-K-*ras*を用いて大腸がん細胞に対する抗腫瘍効果を検討した。K-*ras*の点突然変異の有無にかかわらず７種類の大腸がん細胞株すべてにおいて著明な増殖抑制が認められ、HCT-15細胞を用いて作成した皮下腫瘍モデルにおいても、AxCA-AS-K-*ras*の腫瘍内直接注入によりHCT-15皮下腫瘍の増殖抑制が認められた。

審査ではまずAxCA-AS-K-*ras*による抗腫瘍効果の機序について説明が求められた。活性型*ras*の抑制によるPI3K/AKT経路を介したアポトーシスの誘導が細胞増殖抑制の機序の１つであり、*in vivo*ではさらにVEGF発現抑制を介した血管新生抑制効果の影響も考えられ、今後検討していく課題であると回答された。また以前の報告において膵がん細胞株ではK-*ras*点突然変異依存性の増殖抑制を認めたのに対し、本研究では点突然変異の有無にかかわらずすべての大腸がん細胞株で抑制が認められたことについて質問があった。膵がん細胞と大腸がん細胞とでは細胞の生存・増殖におけるK-*ras*遺伝子の依存度に違いがあり、発がん機構におけるK-*ras*の役割が異なる可能性があると回答された。この膵がん細胞と大腸がん細胞での相異を追及する上で、*ras*下流のシグナルについての検討も考慮すべきとの助言がなされた。最後に皮下腫瘍に対する約７日間の増殖抑制効果後再増殖が認められたことに対し、単一遺伝子を標的とした遺伝子治療の限界についての指摘があり、再投与の必要性や投与間隔の検討など、実際の臨床応用を目指す上での問題点や治療効果向上のために治療の個別化の必要性などについて助言がなされた。

以上のように、本研究は今後検討されるべき課題を残しているものの、アンチセンスK-*ras* RNAの導入により*in vitro*のみでなく*in vivo*においても大腸がん細胞の増殖抑制効果を示し、大腸がんにおいてK-*ras*が遺伝子治療の標的になりうることが示唆された。すなわち、一部の大腸がんにおいてK-*ras*ががん形質の維持あるいはがん細胞生存の鍵となる分子であることを示した点で消化器病学上価値ある有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　内科学　日比　紀文
外科学　北島　政樹　　病理学　坂元　亨宇
先端医科学　河上　裕
学力確認担当者：北島　政樹
審査委員長：北島　政樹

試問日：平成16年10月13日