

容体(HGFR)を介して機能するが、HGFRは多くの内皮細胞や上皮細胞に発現している。上皮由来の癌腫(消化器癌、肺癌など)はこの受容体を過剰に発現しており、HGFは多くの癌細胞の浸潤、運動、増殖を刺激し、加えて腫瘍血管新生をも促進した^{5,6,7}。以上のことから消化器外科分野において、組織修復(創傷治癒過程)とHGFとは非常に密接な関係があり、術後の癌切除周囲間質組織が修復する過程でHGFを産生して癌細胞の再発・播種性転移などを促進していることが考えられる。

2. HGF アンタゴニスト(HGF/NK4)による癌転移の阻止

そこでHGFを介した癌転移促進を阻止するために、HGF α 鎖N末側の4つのkringle domainとhairpin loopを有した分子断片NK4を作成しその効果を検討した。NK4はそれ自身では生物活性を持たずHGFのアンタゴニストとして作用した⁸。そこでNK4を大量に発現させるためにアデノウイルスに組み込み癌転移阻止を試みた。

E1、E3遺伝子を欠損させ増殖力を失ったアデノウイルスにNK4遺伝子を組んだAdCMV。NK4⁹を用いて(図1)基底膜浸潤in vitroモデルであるマトリゲル浸潤阻止実験を行った。HGFが10ng/ml添加されると、ヒト胆嚢癌細胞の運動性は著明に亢進され、マトリゲルでコートしたフィルターを容易に浸潤出来るようになったが、共培養した腹膜中皮細胞にアデノウイルスを感染させると浸潤は完全に阻止された。実際、感染細胞培養上清中のNK4蛋白をELISA法にて測定すると、200moi感染で約370ng/mlと高濃度検出された。

次に、マウス腹膜転移モデルでウイルスの有効性を検討した。ヌードマウスの腹壁に2mmの穿孔創を作成し、腹腔内にヒト胆嚢癌細胞を接種した。健康な腹膜には癌転移は起きないが、

創には転移結節が発生した。同時に腹腔内にウイルスを投与すると癌結節出現は著明に抑制され、転移が阻止された。

さらに、創に一致した転移形成とウイルスの効果はHGFの阻害によるのかを見るため、リアルタイムPCRを用いて受傷部位のHGF遺伝子の発現を調べた。受傷後3日で損傷部組織中のHGFmRNAが上昇し7日にピークを示し、創の治癒とともに正常化した(図2)。このことから、受傷により創局所にHGFが強く発現し、転移巣が形成される可能性が確かめられた¹⁰。

3. 吸収性高分子ゲル膜による転移予防効果

傷害部位への転移は、創や肉芽の露出と深い関係がある。我々は以前、腹腔の転移に対する抵抗性は創傷治癒が終了する7日から10日で回復する事を示した¹¹。つまり外科的な処置により腹腔内に生じた多くの損傷部はしばらく転移の危険に曝されている。創傷治癒に活躍するHGFは図2のように受傷7日でピークを示してその後正常化するが、同時に転移を誘発していると考えられる。そこで、創傷治癒が進行する7日間、癌細胞と損傷部位の接触を遮断するヒアルロン酸ゲル膜を使って、マウスでの創部

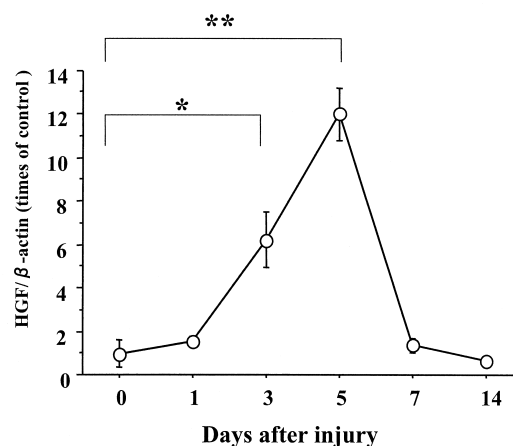


図2 傷害部組織でのHGFmRNA発現量推移(マウス腹膜)

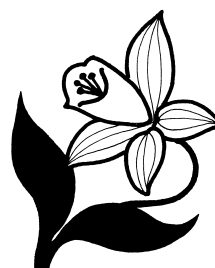
転移の予防効果を検討した。予想通り腹膜の損傷部位をヒアルロン酸膜で覆っておくと癌の転移を防止した^{12,13}。

おわりに

癌は傷害部位へ転移を起こしやすく、それには治癒過程での HGF 発現が関与していると考えられる。HGF のアンタゴニストによる転移予防遺伝子治療は有効であったがウイルスの臨床応用は問題が多い。現在 HGF と NK 4 を取り扱うクリングルファーマー社は NK 4 の抗癌作用に関して欧州と米国で特許権をとり今後の応用へ向かっている¹⁴。一方、吸収性ゲル物質による物理的な転移阻止も同様に効果的であり、実際の外科手術時の癌予防に利用できる可能性を示した。分子標的治療や高分子物質による癌再発予防は外科手術を補助する治療となると期待される。

参考文献

- 1 . Schirmmacher (1985) Adv. Cancer Res.43:1-73.
- 2 . Nakamura et al., (1984) Biochem. Biophys. Res Commun.122,1405-1459
- 3 . Nakamura et al., (1989) Nature,342,440-443
- 4 . Matsumoto et al, (1997) Biochem. Biophys. Res Commun.239,639-644
- 5 . Shimura et al., (1995) Jpn J Cancer Res,86,662-669
- 6 . Date et al., (1997) FEBS Letter,420,1-6
- 7 . Kuba et al., (2000) Cancer Res,60,6737-6743
- 8 . Date et al., (1998) Oncogene 17,3045-3054
- 9 . Maemondo et al., (2002) Mol Ther.,5(2)177-85
- 10 . Tanaka et al., (2004) Cancer Gene Ther.11(6): 431-40.
- 11 . Aoki et al (1999) Surgery.125:553-559.
- 12 . Sasaki et al., (2003) Surgical Endosc. Dec.29
- 13 . Sasaki et al., (2004) Int Surg 89:202-208
- 14 . <http://www.kringle-pharma.com/news.html>



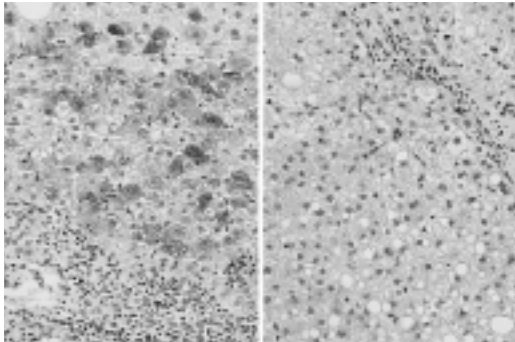


図2 免疫染色による肝組織内のHBV検出。ラミブジン治療前(左)と比較すると、治療後(右)ではHBVの減少が認められる。

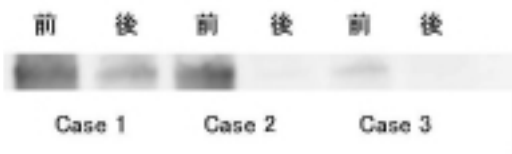


図3 Southern blotによるHBx integrationの検索。ラミブジン投与前後でHBx integrationを比較すると、いずれの症例においてもラミブジン治療後のHBx integrationは減少していた。

3. ラミブジン治療による肝内のHBVの変化
ラミブジンによる発癌抑制のメカニズムを調べるために、HBx integrationを含めた肝組織内のHBVの状態を、ラミブジン治療前後で比較した。

組織所見では、ラミブジン治療後の炎症細胞浸潤は明らかに減少し、HBVも免疫染色ではほとんど検出できなくなっていた(図2)。

また、ラミブジン治療前の肝生検組織で認められていたHBx integrationは、治療開始3年での肝組織では、完全消失には至っていないものの、全ての症例において明らかに減少していた(図3)。すなわちラミブジンはウイルス血症を改善し肝炎を鎮静化させるが、肝内のウイルス量の減少、さらにHBx integrationも減少させる効果が示唆された。

同様に、ラミブジン治療開始後の数年は良好な経過を示していたものの、その後YMDD変

異のために肝炎の再燃を起こした症例についても検討した。しかしこれらの症例においてもHBx integrationは治療前と比較すると減少傾向にあり、再燃後もHBx integrationは短期間には増加しないことが示された。

おわりに

HBVによる発癌のリスクを減少させるためには、この効果をさらに長期間持続させる必要があると考えられる。ラミブジンの長期投与ではYMDD変異が問題となるが、変異を誘導しない新しい抗ウイルス療法での発癌抑制効果が期待される。また、occult Bに対しても、このHBV治療薬がHBx integrationを減少させ、発癌のリスクを低下させうるのか、興味ある問題が残されている。

参考文献

Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. Liaw YF, et al. *New Engl J Med* 351:1521-1531, 2004