

プロリンに富む内因性抗菌ペプチドのアダプター 分子競合による大腸癌細胞増殖抑制

課題番号 12670452

平成12～13年度科学研究費補助金
基盤研究(C)(2)研究成果報告書

平成14年2月

研究代表者 藤本佳範
(旭川医科大学医学部助手)

研究組織

研究代表者 : 藤本 佳範 旭川医大・医学部・助手

研究分担者 : 高後 裕 旭川医大・医学部・教授

研究経費

平成12年度	2,100千円
平成11年度	1,400千円
計	3,500千円

研究発表

(1) 学会誌等

1. Tanaka K, Fujimoto Y, Suzuki M, Suzuki Y, Ohtake T, Saito H, Kohgo Y. PI3-kinase p85a is a target molecule of proline-rich antimicrobial peptide to suppress cell proliferation on ras-transformed cells. *Jpn J Cancer Res* 92:959-967, 2001.

2. 藤本佳範. proline-rich endogenous antimicrobial peptide PR-39によるPI3-kinaseシグナル伝達の阻害と肝癌細胞の浸潤抑制について. 第3回Liver Forum in Kyoto記録集, メディカルトリビューン, 東京, 9-17, 2001

2. 藤本佳範, 田中浩二, 鈴木康秋, 鈴木晶子, 大竹孝明, 斉藤浩之, 大平基之, 高後裕. 内因性抗菌ペプチドPR-39遺伝子のras transformantに及ぼす細胞増殖抑制機能について. *Biotherapy* 14: 511-513, 2000

(2) 口頭発表

1. proline-rich endogenous antimicrobial peptide PR-39によるPI3-kinaseシグナル伝達の阻害と肝癌細胞の浸潤抑制について. 藤本佳範.

第3回Liver Forum in Kyoto, 3/24/2001

2. 内因性抗菌ペプチドPR-39のPI3-Kinaseシグナル伝達阻害による肝癌細胞の浸潤抑制について. 藤本佳範, 高後 裕.

第10回日本がん転移学会, 6/14/2001

3. 内因性抗菌ペプチドPR-39遺伝子導入によるras transformantの増殖抑制とMAPK活性の低下について. 高後 裕, 藤本佳範.

平成12年度北海道腸内細菌叢研究会, 6/23/2000

4. proline-rich peptide PR-39のPI3 kinase p85alpha結合によるras transformantの増殖抑制について. 田中浩二, 藤本佳範, 鈴木康秋, 櫻井忍, 鈴木晶子, 斉藤浩之, 高後裕.

第59回日本癌学会総会, 10/4/2000

5. 内因性抗菌ペプチドPR-39遺伝子導入によるsignal伝達阻害とras transformant増殖抑制. 藤本佳範.

北海道遺伝子治療研究会, 3/11/2000

6. シグナル伝達介入によるK-ras変異腫瘍細胞に対する分子標的治療. 高後 裕, 藤本佳範, 浦等, 水上裕輔, 田中浩二, 小原剛.

US-Japan GI symposium, 5/17/2000

7. PR-39, a proline-rich antimicrobial peptide suppresses cell proliferation by binding to PI3-kinase p85a on ras-transformed fibroblast. Fujimoto Y.

US-Japan GI symposium (Otaru), 9/10/2000

8. PR-39, endogenous antimicrobial peptide derived from porcine neutrophils is capable binding PI3Kp85 and inhibits cell proliferation and modifies actin bundle structure in K-ras transformed cells. Yutaka Kohgo, Yoshinori Fujimoto, Koji Tanaka, Masako Suzuki, Yasuaki Suzuki, Hiroyuki Saito, Takaaki Ohtake

13th Symposium on Leukemia, Lymphoma & Cancer (MBH), 4/15/2000

(3) 出版物

なし

はじめに

PR-39はブタの小腸粘膜から精製されたprolineに富む内因性の抗菌ペプチドであるが、抗菌作用に加えてproteoglycan型接着分子であるsyndecanの発現を誘導したり、また、白血球のp47phoxのSH3 (Scr homology 3) domainに結合しNADPH oxidaseの活性を抑さえることやシグナル伝達分子であるP130CasのSH3 domainに結合しその局在を変えることも報告され多機能を有していることがわかった。我々はsyndecan familyのひとつであるsyndecan-1が肝細胞癌において転移抑制因子として働いていることを報告し (Int J Cancer 74: 482-491, 1997) , PR-39遺伝子の肝癌細胞への導入がsyndecan-1を誘導し、その浸潤・転移を抑制し、さらにactin disorganizationを引き起こし細胞形態を変化させることを明らかにした (Brit J Cancer 81: 393-403, 1999) . さらに、我々は、activated k-rasでtransformしたmouse NIH3T3細胞においてPR-39遺伝子の導入がactin構築を変化させること、細胞増殖を抑制すること、MAP kinase活性を低下させること、およびPR-39がPI3 kinase p85aに結合することを明らかにした (Jpn J Cancer Res 92: 959-967, 2001) . 以下に科学研究費補助金を用いて行った研究の結果を述べる。

研究成果

(1) PR-39遺伝子導入によるactivated K -ras NIH3T3 transformantおよび大腸癌細胞の形態変化について

PR-39がactivated K -rasによりtransformしたNIH3T3の細胞増殖をin vivo, in vitroで抑制することが明かとなったので実際にk-rasの突然変異を有する大腸癌細胞にPR-39を遺伝子導入することによりPR-39の臨床応用について検討した。PR-39遺伝子をマウス大腸癌細胞colo26に導入し、まず、細胞形態の変化について検討した。トランスフェクタントの細胞形態は多角形でスパイクの長い不整形を示した。これらのことよりPR-39は肝癌細胞、線維芽細胞、大腸癌細胞すべてにおいて細胞形態およびactin構造に変化をもたらすことが明かとなった。

(2) PR-39遺伝子導入によるactivated K -ras NIH3T3 transformantおよび大腸癌細胞の細胞増殖抑制について

PR-39トランスフェクタントはin vitroにおいて細胞増殖能が低下していた。さらに、この細胞をヌードマウスに皮下移植すると4週後にはコントロールのマウス大腸癌細胞colo26に比較して有意に腫瘍が小さかった。すなわち、PR-39はin vivoにおいても細胞増殖を抑制した。さらに、colo26は移植されたマウスに悪液質状態をつくり、移植後4週には著しい体重減少をきたすが、PR-39トランスフェクタントでは体重減少が軽度であった。これらの効果はPR-39がPI3 kinase p85aに結合することにより起きることが想定された。

結論

ras transformantにPR-39遺伝子を導入すると細胞増殖能の低下とヌードマウス移植早期での腫瘍形成能の低下が認められたが、本研究において、すでにrasが突然変異している大腸癌細胞にPR-39遺伝子を導入しても、同様に細胞形態の変化、細胞増殖能の低下とヌードマウス移植早期での腫瘍形成能の低下が認められることが明かとなった。我々は肝癌細胞においてPR-39が浸潤能を抑制することもすでに報告している。以上の事よりPR-39遺伝子導入による効果は複数の癌細胞でみられ、今後、PR-39は癌の浸潤・転移抑制および増殖抑制を目的としたシグナル伝達ブロックによる遺伝子治療に有用な遺伝子になると思われる。

具体的な方法および結果はすでに公表された論文・著書にて以下に報告する。