

論 文 内 容 要 旨

題目 Blocking of the interaction between Wnt proteins and their co-receptors contributes to the anti-tumor effects of adenovirus-mediated DKK3 in glioblastoma

(膠芽腫においてAd-DKK3の抗腫瘍効果はWnt蛋白と受容体の相互作用の阻害によりもたらされる)

著者 Keijiro Hara, Teruyoshi Kageji, Yoshifumi Mizobuchi, Keiko T. Kitazato, Toshiyuki Okazaki, Toshitaka Fujihara, Kohei Nakajima, Hideo Mure, Kazuyuki Kuwayama, Tomoyo Hara, Shinji Nagahiro

平成27年発行 Cancer Letters に掲載予定

内容要旨

膠芽腫は成人における全脳腫瘍のなかで 12-15%を占める悪性脳腫瘍である。浸潤能や組織破壊性が極めて強く、有効な治療法は確立されていない。膠芽腫の腫瘍増殖に関与する機序は多く報告されているが、Wnt シグナルについての詳細は未だ明らかにされていない。

Wnt シグナルは主に β -カテニン依存性経路と β -カテニン非依存性経路に分けられる。Wnt 上流において、リガンドである Wnt 蛋白が Frizzleds (Fzd) といわれるリセプターや LRP6、ROR2 といったコリセプターに結合することで、転写因子である β -カテニンを活性化すると考えられている。

一般的に β -カテニン依存性経路では Wnt3a が LRP6 に結合し、 β -カテニンの安定化と核内移行に関与する一方、 β -カテニン非依存性経路では Wnt5a が ROR2 に結合し、細胞の浸潤などに関与すると報告されている。しかし、膠芽腫における Wnt 蛋白とその受容体の相互作用は不明である。

他方、Wnt 阻害物質である Dickkopf (DKK) family はさまざまな臓器に発現しているが、Wnt シグナルに対する DKK family 蛋白の役割はそれぞれ異なる。特に我々のグループは膠芽腫では DKK3 の発現低下がみられ、このことが腫瘍増殖に関係しており、遺伝子導入により DKK3 蛋白を過剰発現させると β -カテニンの発現が抑制され、カスパーゼ依存の apoptosis が誘導、細胞増殖が抑制されることを報告している。

この研究結果をさらに発展させ、本研究では、DKK3 遺伝子のアデノウイルス

様式(8)

ベクター(Ad-DKK3)を用いて、膠芽腫細胞系および xenograft モデルに対する抗腫瘍効果を調べた。また Wnt シグナルの制御機構を解析した結果、以下の知見を得た。

1. 膠芽腫細胞系において、Ad-DKK3 は用量依存的、かつ時間依存的に細胞増殖を抑制した。また Ad-DKK3 遺伝子導入は TUNEL 陽性細胞や Annexin V 陽性細胞を増加させ、caspase-9、-3、および PARP を活性化することから、Ad-DKK3 はミトコンドリアを介した内因性 apoptosis を誘導すると考えられた。
2. 膠芽腫細胞では Ad-DKK3 は Wnt シグナルのリガンドである Wnt3a、Wnt5a およびコリセプターの LRP6 の遺伝子および蛋白の発現を低下させたが、ROR2 の発現には影響しなかった。
3. 動物の xenograft モデルでも同様な結果が得られ、Ad-DKK3 による抗腫瘍効果が認められた。
4. 膠芽腫細胞では Wnt3a および Wnt5a は共に LRP6、ROR2 に結合しているが、Ad-DKK3 によってこの結合が阻害された。この結果、下流分子の β -カテニンの発現や RhoA の活性化が抑制されたが、JNK や c-JUN は活性化され、 β -カテニン依存性へのクロストークが示唆された。
5. Ad-DKK3 は上流で Wnt シグナル経路を阻害し、 β -カテニン依存性および非依存性経路の両方の下流分子に影響を及ぼし、抗腫瘍効果を発揮すると考えられた。

本研究結果から Ad-DKK3 の遺伝子治療としての可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第1226号	氏名	原慶次郎
審査委員	主査 島田 光生 副査 西岡 安彦 副査 片桐 豊雅		

題目 Blocking of the interaction between Wnt proteins and their co-receptors contributes to the anti-tumor effects of adenovirus-mediated DKK3 in glioblastoma
 (膠芽腫において Ad-DKK3 の抗腫瘍効果は Wnt 蛋白と受容体の相互作用の阻害によりもたらされる)

著者 Keijiro Hara, Teruyoshi Kageji, Yoshifumi Mizobuchi, Keiko T. Kitazato, Toshiyuki Okazaki, Toshitaka Fujihara, Kohei Nakajima, Hideo Mure, Kazuyuki Kuwayama, Tomoyo Hara, Shinji Nagahiro
 平成 27 年発行 Cancer Letters に掲載予定
 (主任教授 永廣 信治)

要旨 膠芽腫は発生頻度の高い悪性脳腫瘍で、浸潤能や組織破壊性が極めて強く有効な治療法は確立されていない。
 これまで申請者らは、膠芽腫における Wnt シグナルの抗腫瘍分子である DKK3 の発現低下が腫瘍増殖に関係し、遺伝子導入により DKK3 の発現を増加させると内因性 apoptosis 誘導による細胞増殖抑制作用が見られることを報告したが、膠芽腫における Wnt 蛋白とその受容体の相互作用の詳細は不明である。そこで申請者らは、DKK3 遺伝子のアデノウイルスベクター (Ad-DKK3) を用いて、膠芽腫細胞系および xenograft モデルに対する抗腫瘍効果を調べ、Wnt シグナルの制御機構を解析した。

得られた結果は以下の如くである。

1. 膠芽腫細胞系において、Ad-DKK3 は用量依存的、かつ時間依存的に細胞増殖を抑制した。この効果にはミトコンドリアを介した内因性 apoptosis 誘導が寄与すると考えられた。
2. Ad-DKK3 により、Wnt シグナルのリガンドである Wnt3a、Wnt5a およびコリセプターの LRP6 の遺伝子および蛋白の発現が低下したが、ROR2 の発現は影響されなかった。
3. 動物実験でも Ad-DKK3 による抗腫瘍効果が認められ、Wnt シグナルへの同様な作用がみられた。
4. 膠芽腫では Wnt3a および Wnt5a は共に細胞膜表面で LRP6、ROR2 に結合していることが判明したが、この結合が Ad-DKK3 により阻害され、下流分子の β -カテニンの発現や RhoA の活性化を抑制した。一方、 β -カテニン非依存性シグナル下流の JNK や c-JUN の活性化もみられ、 β -カテニン依存性経路へのクロストークが示唆された。

以上の結果は、膠芽腫に対する新たな治療標的分子としての DKK3 の役割とその分子機構を明らかにし、Ad-DKK3 が遺伝子治療として有効である可能性を示唆している。

本研究は、膠芽腫の治療法の進歩に資すると考えられ、その臨床的意義は大きく、学位授与に値すると判定した。