

膵癌に対する新しい治療法

—分子生物学的手法による—

茂垣雅俊*, 藤井秀樹*, 松本由朗*,
広田昌彦**, 柴田雄二**, P. M. Pour**

膵癌は予後不良な悪性腫瘍のひとつであるが、その予後向上のために、診断面における早期発見、治療面における手術を基本とした集学的治療が積極的に施行されている。しかし膵癌の有する生物学的悪性度の特殊性の故に未だ有効な治療法は確立されていないのが現状である。著者らは従来からの化学療法、放射線療法に加えて、Targeting radio immunotherapy ならびに Gene therapy を動物実験モデルに対して施行した。1) 膵癌膜抗原に対する抗体である TAG72 に ^{131}I をラベルし投与、ラット皮下に移植した膵癌細胞全体に高濃度に集積するものの、膵癌モデルの生存率の向上は得られなかった。2) 癌抑制遺伝子で P53 に対する antisense oligomer を作成し 5 種類の cell line に投与したが、2 種類の cell line でわずかに増殖が抑制された。以上の結果より、より有効なモノクローナル抗体の開発と膵癌に比較的高率に認められる点突然変異を有した Ki-ras oncogene codon 12 に対する antisense oligomer の投与を検討する必要があると考えられた。

キーワード：膵癌, Targeting radio immunotherapy, Gene therapy

1. はじめに

膵癌は予後の極めて悪い悪性腫瘍である¹⁾。その理由は 1) 早期発見が困難であり治療の開始が遅れること、2) 膵後面に被膜が存在しないために比較的小さな腫瘍であっても周囲組織へ容易に浸潤すること、3) 解剖学的な位置関係から重要な脈管が隣接し拡大手術が困難であることが挙げられる。さらに生物学的にはランゲルハンス島が膵臓内に存在し成長因子の供給が容易に行われること、神経周囲及び神経への浸潤傾向が強いことなども挙げられよう。これらの因子を考慮した上で、膵癌の治療成績向上のために比較的有效とされる術中放射線療法²⁾や温熱療法³⁾などが、手術を基礎とした集学的治療の一貫として施行されている。しかしこれらの集学的治療では、膵癌の生存率を飛躍的に向上させるに到っていない。米国では早期膵癌の発

見は皆無に等しく¹⁾、従って膵癌の進行症例に対する外科的切除以外の治療法の開発が盛んに試みられている。本稿では、米国ネブラスカ州立大学の P. M. Pour らの膵臓研究チームで著者らが行ってきた、膵癌に対する新しい療法の開発について述べる。

2. Targeting radio immunotherapy

膵癌細胞膜抗原に対するモノクローナル抗体である TAG72⁴⁾ に ^{131}I をラベルし、体内に投与する Targeting radio immunotherapy を施行した。しかしまだ生存率の向上に寄与するに到っていない。Targeting radio immunotherapy の問題点は、1) 腫瘍細胞の細胞膜を抗原としなければならないため、特異的な抗体の獲得が困難で正常細胞とのクロスリアクティングが生ずるため、ターゲットの絞り込みがうまくいかないこと、2) また、癌細胞は全てが同一の膜抗原を有しているわけではないという点にある。著者らはより確実な Targeting radio immunotherapy の樹立を目的に、ハムスター実験膵癌モデルから、癌細胞に特異的な抗体の作成、複数の抗体を用い、腫瘍細胞の全てが網羅される抗体の組み合わせ等について研究を展開し

*山梨県中巨摩郡玉穂町山梨医科大学外科学講座第 1 教室

**Eppley Institute, Omaha, NE, USA

(受付：1993年9月30日)

てきた。その一貫として、ハムスター実験膵癌組織より抽出した細胞膜抗原を用い、癌細胞にのみ高い特異性を有する抗体の作成に成功した⁵⁾。現在この抗体を使用して、前述した Targeting radio immunotherapy の問題点を克服したうえで、ハムスター実験膵癌に対する同療法の基礎的研究が進行中である。癌免疫治療法に関しては、谷内らの総説に詳細に記述されているので参照されたい⁶⁾。

3. Gene therapy

酵素欠損症などの遺伝子病に対する Gene therapy は、最も効果的な治療法として既に臨床応用されている⁷⁾。我が国でも既に臨床応用されつつあり、現在、最も注目されている領域の1つである。癌も基本的には遺伝子の異常により生じる局所的な遺伝子病であり、その根本的な治療として、Gene therapy が期待されている⁸⁾。一方、悪性腫瘍の発生に於いては多段階発癌説が広く認められており⁹⁾、複数の癌(関連)遺伝子が同一腫瘍(細胞)内に同定されている¹⁰⁾。従って同一腫瘍細胞内に複数発現されている癌関連遺伝子のうち、如何なる遺伝子を導入すれば治療につながるのかという点が問題になる。ネブラスカ大学では既に acute lymphoblastic leukemia に対して Gene therapy が臨床応用されているが¹¹⁾、これには癌抑制遺伝子の1つである P53 (変異を生じたものは癌遺伝子として作用する。)を使用している。簡単には、Plasmid を使用して腫瘍細胞内に遺伝子を組みこませるのではなく、合成した antisense oligonucleotide を静脈中に投与し、細胞質で本来存在する m-RNA と結合させ部分的な double strand RNA を形成させる。この double strand RNA は、細胞質内に存在するある種の RNase により認識され更に digestion を受ける。その結果、ribosome での m-RNA から癌遺伝子蛋白質への翻訳を未然に防ぐことができる。このような理論から、著者らは、固形癌である膵癌に対しても同様の治療が可能であろうと考え、ヒトならびにハムスター膵癌細胞株を使用して研究を展開してきた。多くのヒトならびに動物膵癌モデルの細胞株に於ても P53 遺伝子の突然変異が同定されている。このことから著者らは P53 遺伝子の antisense oligonucleotide を、ヒト、ハムスターのそれぞれに対応して数種類作成し、膵癌細胞株

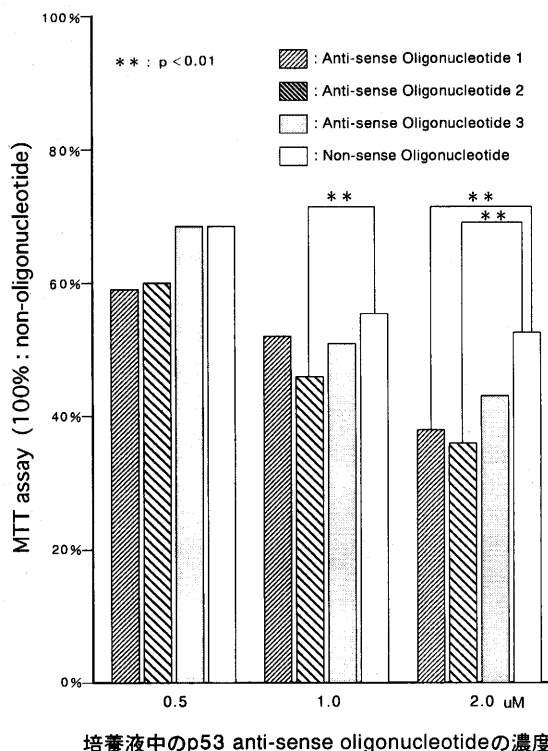


図1 ハムスター実験膵癌モデルより樹立した細胞株(PC-1)の培養液中に P53 遺伝子の antisense Oligonucleotide (それぞれ含まれる exon 領域が異なる) を各濃度投与した。濃度依存性に細胞活性は抑制されることがわかるが、どの領域の antisense か、また細胞腫の特異性などが関与すると考えられる。

の培養液中に添加し、腫瘍細胞の増殖抑制について検討した(Fig1)。しかし、有意な腫瘍細胞の増殖抑制が認められたのは、ヒト、ハムスターの樹立細胞株において各1株ずつで、完全に細胞死の認められた株は全くなかった。antisense oligonucleotide の投与期間が約2週間と短期間であり、長期投与での検討が必要と考えられた。一方、膵癌における P53 蛋白の役割は未だ明かではなく、本研究において P53 の antisense oligonucleotide を使用したのは正しいかどうかを確認する必要もある。ところで、ヒト膵癌では高率に ki-ras oncogene, codon 12 に point mutation が認められ¹²⁾、更に著者らはハムスター実験膵癌でも同部位に point mutation が認められることを明らかにしている¹³⁾。これらの事実を基に、著者らの教室では ki-ras

oncogene に対する antisense oligonucleotide を作成し、膵癌細胞の増殖抑制、壊死あるいは発癌の抑制について研究を展開している。遺伝子治療に関しては多数の総説があるのでそれらを参照されたい。^{14,15,16)}

4. おわりに

膵癌に対する集学的治療の1つとしての Targeting radio immunotherapy と Gene therapy に関して著者らの研究を総説した。今後これらの集学的治療が確立され、膵癌の予後が飛躍的に向上することが期待される。

文 献

- 1) Go VLW, Gardner JD, Brooks FP, Lebenthal E, DiMagno EP and Scheele GA ed. (1986) The exocrine pancreas, Raven Press, New York
- 2) 芝本雄太 (1992) 膵癌に対する放射線治療, 癌と化学療法, 19: 2344-2348.
- 3) 新編一癌・温熱療法. (1987) 柄川順編, 篠原出版, 東京
- 4) Takasaki H, Tempero MA, Uchida E et al. (1988) Comparative studies on the expression of tumor-associated glycoprotein (TAG-72), CA19-9 and DU-PAN-2 in normal, benign and malignant pancreatic tissue. *Int J Cancer* 42: 681-686.
- 5) Masahiko Hirota, M. Mogaki, P. M. Pour, W. G. Chaney. (1993) Glycan structure of Blood Group-A Antigen in Hamster Normal tissue and Pancreatic Cancers. *Experimental and Molecular Pathology* 58, 169-178.
- 6) 谷内昭, 辻崎正幸, 今井浩三 (1991) モノクローナル抗体一癌の遺伝子工学的診断と治療, 高久史磨編: 157-168, 中外医学社, 東京.
- 7) Bory, C., Bouliou, R., Souillet, G., Chantin, C., Rolland, M. O., Mathieu, M. & Hershifield M.: *Pediatric Res.* 28: 127-130 (1990).
- 8) McManaway ME, Neckers LM, Loke SL, et al. (1990) Tumor-specific inhibition of lymphoma growth by an antisense oligodeoxynucleotide. *Lancet* 335: 808-
- 9) Bishop J. B.: *cell* 64, 235-248 (1991).
- 10) 中村祐輔, 大腸腫瘍の発生・進展過程と遺伝子異常, *細胞工学* 12: 78-85, (1993)
- 11) unpublished data.
- 12) Almoguera C, Shibata D, Forrester K (1988) Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-k-ras genes. *Cell* 53: 549-554.
- 13) Fujii H, Pour PM, Pelling JC (1990) Pancreatic ductal adenocarcinoma induced in Syrian hamster by N-Nitrosobis (2-oxopropyl) amine contain a c-k-ras oncogene with a point-mutated codon 12. *Mol. Carcinogenesis* 3: 296-301.
- 14) Rosenberg SA (1992) Gene therapy. *JAMA*, 268: 2416-2419.
- 15) 小澤敬成 (1991) 遺伝子治療一癌の遺伝子工学的診断と治療, 高久史磨編: 200-209, 中外医学社, 東京.
- 16) 谷憲三朗, 浅野茂隆 (1992) 遺伝子治療. 癌と化学療法, 20: 181-188.

Abstract**New therapies for pancreatic cancer**

Masatoshi MOGAKI*, Hideki FUJII*, Yoshiro MATSUMOTO*

Masahiko HIROTA**, Yuji SHIBATA**, P. M. Pour.**

Pancreatic cancer is a poor prognostic malignant tumor. Lots of investigators are working to improve this cancer's prognosis. Early diagnosis and multidisciplinary therapy including operation should be done for that. However, even small pancreatic cancer invades lymphatics and perineural spaces. Thereby, development of therapy is necessary for that. This paper focus on "Targeting radio-immunotherapy" and "Gene therapy" which are now multidisciplinary undergoing at our laboratories by pancreatic research group. We hope these therapies improve a prognosis of the human pancreatic cancer.

*Department of Surgery 1

**Eppley Institute, UNMC