

率検定を用いた。

結 果

1. 体重および腫瘍体積

pEndo群で実験開始の2週で一過性に有意な体重増加の抑制が観察されたが、その後回復した。なお、各群とも一般状態は極めて良好であった。

腫瘍体積では、実験開始の1週より実験終了の6週まで、pesVEGFR-2群およびpEndo群で、対照群と比較して、有意に低値を示した(図1)。陽性対照のpEndo群では、pesVEGFR-2群と比較して、更に強い抑制が観察された(図1)。

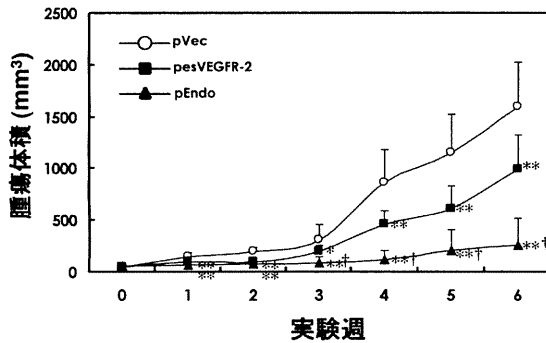
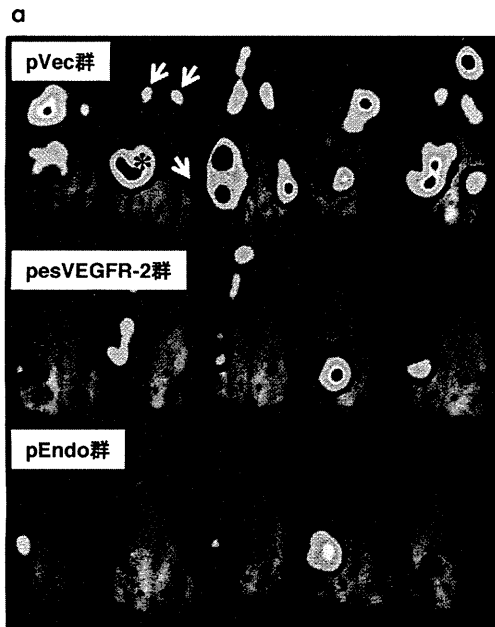


図1 経時的な腫瘍体積。腫瘍体積は、実験開始の1週より終了まで、対照群のpVec群と比較して、pesVEGFR-2群およびpEndo群で有意に抑制されていた。



2. 癌転移の生体イメージング

いずれの群においても、腋窩リンパ節や単径リンパ節への転移が観察されたが、その拡がりの程度はpesVEGFR-2群およびpEndo群において明らかに抑制傾向にあり(図2 a)、フォトン計測値で見るとこれらの群で有意な抑制が示された(図2 b)。

3. 転移の病理組織学的検索

代表的なリンパ節転移を図3 a, bに、肺転移を図3 c, dに示した。マウス1匹当たりのリンパ節の転移個数は、pesVEGFR-2群およびpEndo群で、有意な低下が示された(図4 a)。肺転移では転移巣の大きさが250 μ m以上のものについて、マウス1匹当たりの数を算出すると、これらの両群で有意な抑制が観察された(図4 b)。また、リンパ節転移、肺転移ともにpesVEGFR-2群と比較して、pEndo群では更に有意な低下が示された(図4 a, b)。

4. 腫瘍内の微小血管およびリンパ管密度

腫瘍内の微小血管密度(CD34⁺/Lyve-1⁻)はpEndo群のみで有意な減少が示され(図4 c)、リンパ管の密度(CD34⁺/Lyve-1⁻)はpesVEGFR-2群およびpEndo群で有意な減少が観察された(図4 c)。同様にリンパ管内皮のマーカーであるpodoplaninを免疫組織学的に染色し、リンパ管を鑑別したところ、拡張したリンパ管の内腔に癌細胞が観察された(図5 a, b)。その癌細胞の侵襲を受けたリンパ管の数を算定した結果、pesVEGFR-2群およびpEndo群ともに有意な低下が観察された(図4 d)。

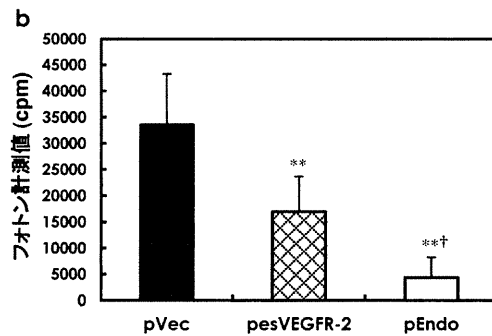


図2 a. ルシフェラーゼ発光によるイメージングにおいて、乳癌移植部(*で示す)や鼠径リンパ節(矢印で示す)、腋窩リンパ節(矢印)への転移を検出した。対照群のpVec群と比較して、pesVEGFR-2群およびpEndo群で転移の拡がりは抑制傾向にあった。b. 生体発光をPhoton Imagerで計測した結果、これら治療群で有意な低下がみられた。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, 対照群と比較して。† < 0.01 , pEndo群と比較して。数値は平均 \pm SDで表す。

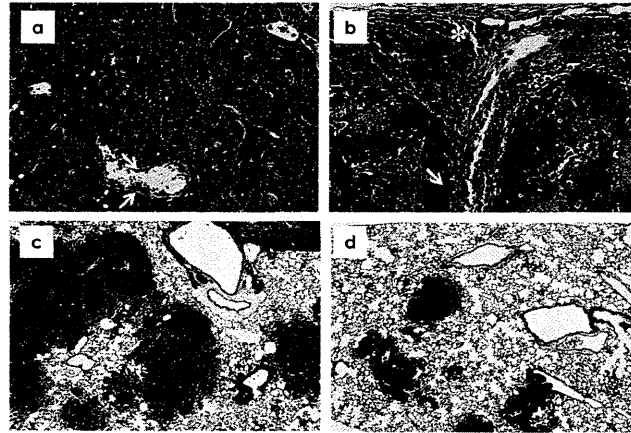


図3 リンパ節転移および肺転移の病理組織像。 a. pVec群のリンパ節転移。矢印はリンパ節内の血管への浸潤を示す。 b. pesVEGFR-2群のリンパ節転移。辺縁洞内 (*印) や中間洞内 (矢印) に癌細胞が観察される。 pVec群の肺転移巣 (c) と比較して、 pesVEGFR-2群の肺転移巣 (d) は小さい傾向にあった。 H&E染色。 a, b: 倍率×200; c, d: 倍率×40。

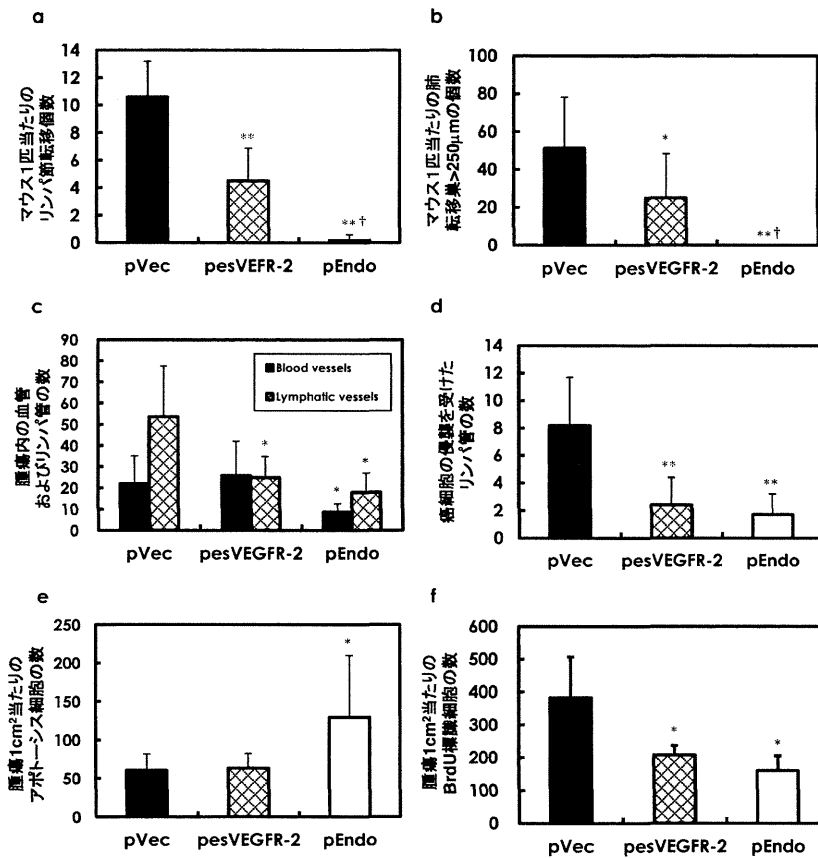


図4 転移個数および腫瘍内の各種定量解析値。 a. マウス1匹当たりのリンパ節の転移個数はpesVEGFR-2群およびpEndo群で有意な低下をみた。 b. マウス1匹当たりの250µm以上の大きさの肺の転移巣個数もこれらの治療群で有意な低下をみた。 c. 腫瘍内の血管密度はpEndo群で、リンパ管はpesVEGFR-2群およびpEndo群で有意な低下が示された。 d. 癌細胞の侵襲を受けたリンパ管の数ではpesVEGFR-2群およびpEndo群で有意な低下が観察された。 アポトーシス細胞の数はpEndo群で有意な増加が (e), BrdU標識率ではpesVEGFR-2群およびpEndo群で有意な低下が (f), それぞれ観察された。 * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, 対照群と比較して。 † $P < 0.01$, pEndo群と比較して。 数値は平均±SDで表す。

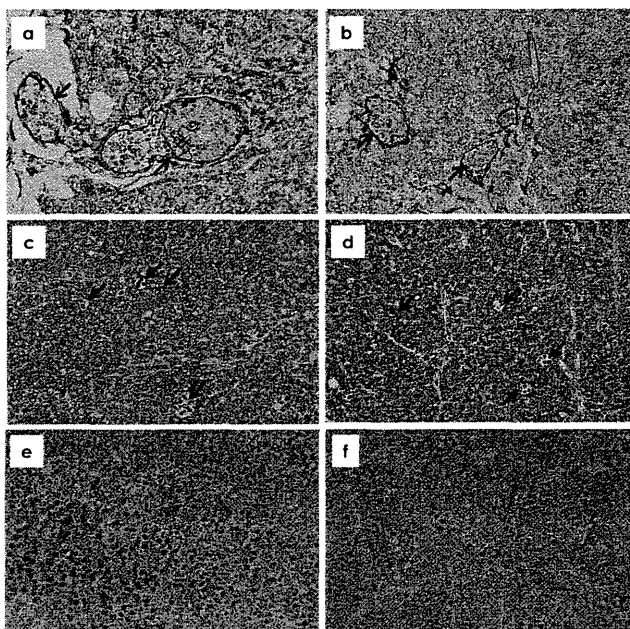


図5 腫瘍内のリンパ管，アポトーシスおよびBrdU標識。矢印で示すように腫瘍内の拡張リンパ管の内腔にはしばしば癌細胞が観察される (a : pVec群 ; b : pesVEGFR-2群)。代表的なアポトーシス細胞を矢印で示した (c : pVec群 ; d : pesVEGFR-2群)。BrdU標識されたS期の細胞はpVec群 (e) と比較して，pesVEGFR-2群 (f) では低下を示している。a, b : podoplanin免疫組織染色。c, d : TUNEL染色。e, f : BrdU免疫組織染色。a - f : 倍率×200。

5. 腫瘍細胞のアポトーシスおよびDNA合成

TUNEL染色にて陽性を示すアポトーシス細胞を図5 c, dに示す。TUNEL陽性を示したアポトーシス細胞の数を定量的に解析した結果，pEndo群のみで有意な増加が示された (図4 e)。BrdUにて標識されたS期の細胞を図5 e, fに示す。BrdU標識率を指標としたDNA合成では，pesVEGFR-2群およびpEndo群で有意な抑制が観察された (図4 f)。

考 察

ヒトと類似の転移スペクトラムを有する高転移性マウス乳癌モデルに対して，esVEGFR-2は腫瘍増殖を低下させ，さらにリンパ節転移を抑制した。同群では腫瘍細胞のDNA合成も抑制した。これらにはesVEGFR-2の有するVEGF-C阻害作用が効果をもたらしたものと推測される¹⁾。また，pesVEGFR-2群では腫瘍内のリンパ管新生は阻害されており，転移抑制に一役を担っているものと考えられた。更に癌細胞の浸潤を受けた腫瘍内リンパ管の数はpesVEGFR-2群で抑制されており，この事実はpesVEGFR-2群のリンパ節転移抑制を裏付ける所見であると考えられる。

ヒトの乳癌は主にリンパ節，肺，肝臓および骨に転移し，殆どの場合，転移により死に至る。本実験にお

いて，esVEGFR-2が転移の抑制を示した事実は極めて臨床的に意義があると考えられる。また，ヒト乳癌ではサイズが4 cmを超えると再発や転移のリスクが著しく高まることが報告されていることから³⁾，pesVEGFR-2群の腫瘍サイズが対照群のそれより小さいことは意義深い所見と考えられる。

陽性対照に用いたendostatin (pEndo) は，血管基底膜の構成成分の一つであるCollagen XVIIIが腫瘍細胞の産生するcathepsin Lやelastaseで切断されて生じる20kDaのC末端断片で，VEGF₁₂₁やVEGF₁₆₅がVEGFR-2に結合するのを阻害してこの受容体のチロシンリン酸化を抑制し，血管新生を抑制する^{13),14)}。私達は，以前，pEndoが今回用いた同じマウス乳癌モデルに対して，リンパ節転移ならびに肺転移を抑制することを報告した⁷⁾。その際，腫瘍内血管のみならずリンパ管にも影響を及ぼすことを見出した。今回の実験においても，pEndoはリンパ節転移および肺転移を抑制し，腫瘍内の血管新生やリンパ管新生を抑制することを確認した。事実，endostatinを皮膚に過剰発現させたJ4トランスジェニックマウス (ケラチンK14をプロモーターとして使用) を用いた皮膚発癌では，腫瘍内の血管新生，リンパ管新生はともに抑制されていた¹⁵⁾。本実験において，pesVEGFR-2の抗転移作用はpEndoのそれに比

較して、弱いものであった。これはpEndoが血管新生およびリンパ管新生の両者に対して抑制作用を発揮するのに対して、pesVEGFR-2ではリンパ管新生のみを抑制し、リンパ行性転移に対して限定的に作用するからであると考えられる。

以上、高転移性マウス乳癌モデルにおいて、esVEGFR-2は抗腫瘍効果を発揮し、特にリンパ節転移の抑制は臨床的意義が極めて高い所見と考えられた。esVEGFR-2が血管新生に影響を与えずリンパ管新生のみを抑制した事実はhypovascularityに起因する副作用を懸念する場合の有効性を示唆している。また、sVEGFR-2は癌治療だけではなく、リンパ管形成異常などにも治療効果が期待されると考えられた。

謝辞ほか

本研究は、文科省の科学研究費基盤 (C) (2) (課題番号19591520 : 柴田雅朗) 並びに米国National Institutes of Health, National Eye Institute, Doris Duke Charitable Foundation (Burroughs Wellcome Fund: Jayakrishna Ambati) の助成により実施された。

文 献

- 1) Albuquerque RJ, Hayashi T et al: Alternatively spliced vascular endothelial growth factor receptor-2 is an essential endogenous inhibitor of lymphatic vessel growth. *Nat Med*, 15 : 1023-1030, 2009.
- 2) がん対策情報センター: 日本最新がん統計まとめ (2008年) <http://ganjoho.ncc.go.jp/public/statistics/pub/statistics01.html>. 2010年.
- 3) Carter CL, Allen C et al: Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*, 63 : 181-187, 1989.
- 4) Roy H, Bhardwaj S et al: Biology of vascular endothelial growth factors. *FEBS Lett*, 580 : 2879-2887, 2006.
- 5) Skobe M, Hawighorst T et al: Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis. *Nat Med*, 7 : 192-198, 2001.
- 6) Shibata MA, Ambati J et al: The endogenous soluble VEGF receptor-2 isoform suppresses lymph node metastasis in a mouse immunocompetent mammary cancer model. *BMC Med*, 8 : 69, 2010.
- 7) Shibata MA, Morimoto J et al: Electrogenic therapy using endostatin, with or without suicide gene therapy, suppresses murine mammary tumor growth and metastasis. *Cancer Gene Ther*, 14 : 268-278, 2007.
- 8) Morimoto J, Imai S et al: New murine mammary tumor cell lines. *In vitro Cell Dev Biol*, 27A : 349-351, 1991.
- 9) Shibata MA, Shibata E et al: An immunocompetent murine model of metastatic mammary cancer accessible to bioluminescence imaging. *Anticancer Res*, 29 : 4389-4396, 2009.
- 10) Shibata MA, Morimoto J et al: Suppression of murine mammary carcinoma growth and metastasis by HSVtk/GCV gene therapy using in vivo electroporation. *Cancer Gene Ther*, 9 : 16-27, 2002.
- 11) Shibata MA, Ito Y et al: Lovastatin inhibits tumor growth and lung metastasis in mouse mammary carcinoma model: a p53-independent mitochondrial-mediated apoptotic mechanism. *Carcinogenesis*, 25 : 1887-1898, 2004.
- 12) Shibata MA, Liu M-L et al: Haploid loss of bax leads to accelerated mammary tumor development in C3(1)/SV40-TAg transgenic mice: reduction in protective apoptotic response at the preneoplastic stage. *EMBO J*, 18 : 2692-2701, 1999.
- 13) O'Reilly MS, Boehm T et al: Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*, 88 : 277-285, 1997.
- 14) Kim YM, Hwang S et al: Endostatin blocks vascular endothelial growth factor-mediated signaling via direct interaction with KDR/Fik-1. *J Biol Chem*, 277 : 27872-27879, 2002.
- 15) Brideau G, Makinen MJ et al: Endostatin overexpression inhibits lymphangiogenesis and lymph node metastasis in mice. *Cancer Res*, 67 : 11528-11535, 2007.

著者連絡先: 柴田雅朗
大阪保健医療大学 保健医療学部
〒530-0043 大阪市北区天満1丁目9番27号
TEL: 06-6352-0093 FAX: 06-6352-5995
E-mail: masaaki.shibata@ohsu.ac.jp

日本臨牀 70 卷 増刊号 7 (2012 年 9 月 20 日発行) 別刷

乳癌(第 2 版)

—基礎と臨床の最新研究動向—

IX. 乳癌の治療戦略
遺伝子治療・免疫治療

転移抑制を念頭に置いた乳癌遺伝子治療の
実験的基礎研究

柴田雅朗

IX 乳癌の治療戦略

遺伝子治療・免疫治療

転移抑制を念頭に置いた乳癌遺伝子治療の
実験的基礎研究Experimental basic research on mammary cancer gene therapy for
metastasis inhibition

柴田 雅朗

Key words : 乳癌, 遺伝子治療, 転移, siRNA, VEGF

はじめに

癌の終末像は転移による死である。乳癌の死因においてもほとんどはリンパ節、肺などへの転移によるものであり、癌転移を克服することこそが延命につながると考えられ、癌治療の最大の課題といえる。癌細胞はリンパ管を介したリンパ行性転移や血管を介した血行性転移、播種性転移あるいは近隣組織への直接的浸潤がある。癌細胞の浸潤・転移を担うシグナルを遮断できれば、転移の抑制につながり、延命効果をもたらすものと考えられる。したがって、乳癌の転移抑制に対する低毒性の治療法あるいは化学予防法の開発は急務である。

血管新生は固形癌の増殖に極めて重要なプロセスであり、新生血管のネットワークなしには腫瘍は1mm³を超える大きさには成長できないといわれている¹⁾。原発巣の増殖だけでなく転移においても血管新生に依存していることが報告されており、腫瘍内微小血管は癌治療の新たな標的として重要視されるようになってきた。現在までに多くの研究で血管新生抑制遺伝子が原発巣の腫瘍増殖を効果的に抑制したとの報告がある²⁻⁴⁾。特に、転移性大腸癌に対する VEGF

-A 中和抗体ベバシズマブの成功が引き金となって、血管を標的とする癌治療戦略の概念は広く理解されるようになった。現在、血管新生を阻害する低分子阻害薬の開発は急速に進んでおり、VEGF 受容体(VEGFR)を含む複数のキナーゼを標的とする阻害薬として、イマチニブ、ゲフィチニブ、ソラフェニブ、スニチニブなどがある。

血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)ファミリーは脈管の発生から新生、また病的な脈管新生に関与している。血管新生はVEGF-AによりVEGF受容体-1(VEGFR-1)やVEGF受容体-2(VEGFR-2)が活性化され引き起こされる。一方、リンパ管新生は主にVEGF-CによりVEGF受容体-3(VEGFR-3)の活性化により惹起される。VEGF-Aは癌など多くの病的血管新生に関与し、病態を増悪させる。VEGF-Cは強力なリンパ管新生因子であり、正常組織では大腸、乳管、前立腺、甲状腺、卵巣、心筋および骨格筋で発現が認められている。しかしながら、乳癌を含む様々な悪性腫瘍においては、腫瘍細胞自身がVEGF-Cを過剰に発現している⁵⁾。乳癌患者において、VEGF-Cの過剰発現と予後不良やリンパ節転移には強い相関

Masa-Aki Shibata: Laboratory of Anatomy and Histopathology, Faculty of Health Science, Osaka Health Science University 大阪保健医療大学保健医療学部 解剖・病理組織研究グループ

0047-1852/12/¥60/頁/JCOPY

が示されている⁶⁾。また、実験動物を用いた研究においても、VEGF-Cの過剰発現がリンパ節転移に対して促進的に作用することが報告されている⁷⁾。これらの事実は、VEGF-Cが転移阻止に対する治療的戦略のターゲットになりうることを示唆している。

著者らは乳癌の転移抑制に焦点を絞り、マウスの乳癌高転移性モデルを用いて、腫瘍内の血管新生やリンパ管新生を標的として遺伝子治療の基礎研究を行ってきた。それらの一部をここに紹介する。なお、著者らが研究に用いているマウス乳癌モデルは、p53変異を有し、ヒト乳癌と極めて類似した転移スペクトラムを示す。

1 脈管新生の抑制遺伝子 endostatin と自殺遺伝子を用いた癌遺伝子治療

1) Endostatin の背景

1997年、endostatinは血管内皮腫の産物として分離され、collagen XVIIIのC末端の断片であった²⁾。腫瘍細胞が分泌するelastaseやcathepsin Lにより腫瘍内血管の基底膜成分の一つであるcollagen XVIIIが切断され、20kDaのendostatinとして血流に入り、腫瘍以外の組織・器官での血管新生を抑えるという極めてselfishな振る舞いを癌細胞はする。外科的に原発巣を切除すると転移巣が大きくなるという現象は、一つにはendostatinが起因するだろうと考えられている。現在までに多くの研究でendostatinが原発巣の腫瘍増殖を効果的に抑制することが報告されており^{2,3)}、その作用機序はVEGF-Aがその受容体であるVEGFR-2に結合するのをendostatinが阻止し⁸⁾、その結果として、血管内皮細胞の増殖、migration、血管形成などに必須なシグナル経路を阻害して血管新生抑制をもたらすことが報告されている²⁾。最近ではendostatinには血管新生抑制のみならず、リンパ管新生も抑制することが報告されている^{9,10)}。

2) Endostatin 遺伝子治療の結果⁴⁾

BJMC3879乳癌細胞を樹立した同系のBALB/cマウス雌に移植し、週1回の割合で腫瘍内にベクターを注入し、直ちにgene electrotransferを

行い、実験終了の8週まで実施した。その結果、腫瘍体積やリンパ節・肺への転移において、有意な抑制が観察された。血管内皮のマーカであるCD31の免疫組織学的染色により、腫瘍組織内の微小血管を定量的に解析した結果、有意な減少をみた。更にリンパ管内皮のマーカであるpodoplaninの免疫組織学的染色を行い、病理組織学的に検索した結果、腫瘍リンパ管内に癌細胞の浸潤を観察し、その数を定量的に解析した結果、有意な抑制をみた。また、DNA合成(BrdU標識率)の有意な抑制ならびにアポトーシス細胞(TUNEL染色)の有意な増加が観察された。

3) 自殺遺伝子との複合治療⁴⁾

自殺遺伝子(HSVtk/GCV)単独群でも同様に抗腫瘍効果ならびに抗転移作用は観察されたが、endostatinとの複合治療では特に抗腫瘍効果の増強作用はみられなかった。

2 脈管新生を標的とした small interfering RNA (siRNA) を用いた乳癌遺伝子治療

1) siRNA の背景

RNA干渉(RNA interference)は1998年に線虫で報告された現象で¹¹⁾、21-23塩基の二本鎖RNA(siRNA)により、その配列特異的にmRNAが分解され、その結果として目的遺伝子の発現が抑制される。その後、様々な生物で種を超えて保存されていることが示され、生物共通の遺伝子発現の制御システムであることがわかった。2000年代になると、siRNAを用いて、目的とする標的遺伝子の機能を比較的簡単に抑制させることが可能となり、遺伝子解析のツールとして一般的に用いられるようになった。また、最近では合成siRNAが治療薬として有用であろうことが示されており、遺伝子配列から治療薬合成が可能であるという期待感を高めている。本研究では、リンパ行性転移の阻止を狙ってVEGF-Cに対するsiRNA発現ベクターを、血行性転移の抑制を狙ってVEGF-Aに対するsiRNA発現ベクターを用いた。また、更に強い転移抑

IX

制効果を生み出す方策として、この両者の siRNA 発現ベクターを複合して治療実験を行った。

2) VEGF-C・VEGF-A に対する siRNA を用いた遺伝子治療の結果¹²⁾

BJMC3879 乳癌細胞を BALB/c マウス雌に移植し、週 1 回、腫瘍内にベクターを gene electrotransfer し (Control, siVEGF-C, siVEGF-A ベクターおよび両者の複合)、実験終了の 8 週まで実施した。その結果、腫瘍体積では、すべての治療群 (siVEGF-C, siVEGF-A および複合治療群) で抑制が観察された。リンパ節転移では、すべての治療群で有意な抑制が観察されたが、肺転移では複合治療群においてのみ有意な抑制が示された。腫瘍組織に対して、podoplanin 免疫組織学的染色を行い、癌細胞のリンパ管侵襲の数を解析した結果、すべての治療群でその数は有意に抑制されていた。また、腫瘍内の微小血管密度 (CD31 免疫組織学的染色) もすべての治療群で有意な抑制を示した。

3 内因性の可溶性 VEGF 受容体 2 型 (esVEGFR-2) を用いた乳癌遺伝子治療

1) esVEGFR-2 の背景

2009 年、米国ケンタッキー大学の Ambati らのグループは、角膜にリンパ管が生じてこない機構を突き止めた¹³⁾。すなわち、胎生期の角膜では VEGFR-2 の splicing variant である可溶性 VEGFR-2 (esVEGFR-2) が発現し、VEGF-C の作用を選択的に阻害することにより、リンパ管の発生を阻止する¹⁰⁾。癌のリンパ行性転移にはリンパ管新生が大きな役割を演じており、そのうちでもリンパ管新生因子の VEGF-C はリンパ節転移に対して促進的に作用することが報告されている。そこで、VEGF-C の選択的阻害作用をもつ esVEGFR-2 が、高転移性マウス乳癌モデルに対して、転移を抑制するか否かを Ambati らとともに検討した¹⁰⁾。

2) esVEGFR-2 を用いた遺伝子治療の結果¹⁰⁾

ルシフェラーゼ遺伝子でマーキングしたマウス移植乳癌細胞 (BJMC3879Luc2) に対して、週

1 回の割合で腫瘍内に esVEGFR-2 発現ベクター (pesVEGFR-2) あるいは対照群として空のベクター (pVec) を注入し、直ちに gene electrotransfer を行い、6 週経過後に全生存動物を屠殺剖検した。その結果、経時的な腫瘍体積は pesVEGFR-2 群で有意な抑制が観察された。実験終了時の発光によるバイオイメージング解析では、転移の拡がりも有意に抑制され、病理組織学的にもリンパ節転移の個数は、有意な抑制が示された。血管内皮のマーカーである CD34 およびリンパ管内皮のマーカーである LYVE-1 を二重免疫蛍光染色し、2 つの染色像を重ね合わせて、CD34⁺/LYVE-1⁻を血管として、CD34⁻/LYVE-1⁺をリンパ管として、それぞれの腫瘍内密度を算定した。その結果、pesVEGFR-2 群は腫瘍内の血管には影響を与えず、リンパ管の数のみが有意に減少していた。癌細胞による腫瘍内のリンパ管侵襲の数では、有意な減少が観察された。また、腫瘍細胞のアポトーシスの数には変化を与えなかったが、DNA 合成では有意な抑制が示された。これは、VEGF-C にはリンパ管内皮のみならず腫瘍細胞に対しても増殖作用を発揮するため、esVEGFR-2 による VEGF-C の阻害作用が DNA 合成の抑制につながったものと推察される。

ま と め

腫瘍サイズとリンパ節転移との間には正の相関があり、予後因子として極めて重要である。つまり、腫瘍サイズを低下させることは、リンパ節転移の抑制につながり、極めて臨床的意義が高いと考えられる。事実、今回紹介した各実験においても、対照群と比較して、治療群の腫瘍体積は抑制されており、リンパ節転移は有意な減少を示していた。しかしながら、endostatin と HSVtk/GCV との複合治療において、両遺伝子複合による加算的・相乗的効果は示されなかった。HSVtk 遺伝子のバスタンダー効果には T 細胞免疫系が重要であることが示唆されており、今後、免疫系増強の工夫が必要と考えられる。

VEGF-C および VEGF-A を標的とした siRNA

発現ベクターとこれら両者の複合治療は乳癌のリンパ節転移を強く抑制しえた。VEGF-CおよびVEGF-Aに対する単一のsiRNA治療では肺転移に対する十分な抑制効果は発揮できなかったが、これら両者の複合治療では有意な効果がみられた。VEGF-CおよびVEGF-Aともに血管内皮とリンパ管内皮に作用を示すことが明らかとなってきたことから¹⁴⁾、複合治療により加算的な効果が発揮されたものと考えられた。

新規の splicing variant として同定された esVEGFR-2 はリンパ節転移を有意に抑制した。本遺伝子が血管新生に影響を与えず、リンパ管新生のみを抑制した事実は hypovascularity に起因する副作用を懸念する場合の有効性を示唆している。また、esVEGFR-2 は癌治療だけではなく、リンパ管形成異常などにも治療効果が期待されると考えられた。

おわりに

脈管新生を標的とした遺伝子治療は、実験的にはリンパ節転移を抑制することができたが、臨床への応用では遺伝子導入法やその安全性、目的組織への遺伝子のデリバリーなど解決すべき問題は山積している。最近、PI3キナーゼ (PI3K) の下流で制御されている Akt というセリン/スレオニンキナーゼに注目が集まっており、

本分子が活性化(リン酸化)されると脈管新生のほか、細胞増殖、細胞生存(抗アポトーシス)、細胞周期などの癌の進展にかかわる変化を引き起こすことが知られている。癌治療薬の新たなターゲットとして Akt を脱リン酸化する創薬の開発が進められている。そんな中、著者らは東南アジア原産の果実であるマンゴスチンの果皮から抽出された α -mangostin に Akt リン酸化の抑制作用や血管新生抑制作用を見だし、マウスの転移乳癌モデルで転移抑制作用を観察した¹⁵⁾。 α -mangostin は免疫活性化作用、抗酸化作用、アロマターゼ抑制作用など極めて多様な効果をもたらすことから、これらの加算的あるいは相乗的作用の結果といえるかもしれない。

1991年に米国の NIH (国立衛生研究所) に National Center for Complementary and Alternative Medicine (補完代替医療センター) が設立され、米国での補完代替医療に対する関心は高い。我が国においても evidence-based medicine として要件を満たしているものについては補完代替医療として積極的に取り入れていってほしいと願う。

謝辞 本研究は、文科省科学研究費基盤 C(2) (課題番号 15591368, 17591360 および 21591682) の助成により実施された。

文 献

- 1) Folkman J: Angiogenesis-dependent diseases. *Semin Oncol* **28**: 536-542, 2001.
- 2) O'Reilly MS, et al: Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* **88**: 277-285, 1997.
- 3) Folkman J: Antiangiogenic gene therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**: 9064-9066, 1998.
- 4) Shibata MA, et al: Electrogenic therapy using endostatin, with or without suicide gene therapy, suppresses murine mammary tumor growth and metastasis. *Cancer Gene Ther* **14**: 268-278, 2007.
- 5) Salven P, et al: Vascular endothelial growth factors VEGF-B and VEGF-C are expressed in human tumors. *Am J Pathol* **153**: 103-108, 1998.
- 6) Nakamura Y, et al: Lymph vessel density correlates with nodal status, VEGF-C expression, and prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **91**: 125-132, 2005.
- 7) Skobe M, et al: Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis. *Nat Med* **7**: 192-198, 2001.
- 8) Kim YM, et al: Endostatin blocks vascular endothelial growth factor-mediated signaling via direct interaction with KDR/Flk-1. *J Biol Chem* **277**: 27872-27879, 2002.
- 9) Brideau G, et al: Endostatin overexpression inhibits lymphangiogenesis and lymph node metastasis in mice. *Cancer Res* **67**: 11528-11535, 2007.

- 10) Shibata MA, et al: The endogenous soluble VEGF receptor-2 isoform suppresses lymph node metastasis in a mouse immunocompetent mammary cancer model. *BMC Med* **8**: 69, 2010.
- 11) Fire A, et al: Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **391**: 806-811, 1998.
- 12) Shibata MA, et al: Combination therapy with short interfering RNA vectors against VEGF-C and VEGF-A suppresses lymph node and lung metastasis in a mouse immunocompetent mammary cancer model. *Cancer Gene Ther* **15**: 776-786, 2008.
- 13) Albuquerque RJ, et al: Alternatively spliced vascular endothelial growth factor receptor-2 is an essential endogenous inhibitor of lymphatic vessel growth. *Nat Med* **15**: 1023-1030, 2009.
- 14) Hirakawa S, et al: VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *J Exp Med* **201**: 1089-1099, 2005.
- 15) Shibata MA, et al: α -Mangostin extracted from the pericarp of the mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn) reduces tumor growth and lymph node metastasis in an immunocompetent xenograft model of metastatic mammary cancer carrying a p53 mutation. *BMC Med* **9**: 69, 2011.



