

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

（総括・分担）研究報告書

HPV 持続感染機構の解析と複製阻害剤による感染排除に関する研究

分担研究者 中川俊介 帝京大学医学部 産婦人科教室 講師

研究要旨 子宮頸癌の発症およびその進展にHPVの癌蛋白による感染宿主であるヒトの癌抑制蛋白のユビキチン化を介する分解が深く関与している。HPVの持つE6癌蛋白はユビキチン化を介してp53を分解する。E6癌蛋白はそれ以外にも膜蛋白を含め、多くの癌抑制蛋白を同様の機構で分解する。ユビキチン化されたこれらの標的蛋白は最終的にプロテアソームにおいて分解を受ける。このプロテアソームの阻害剤を用いて、子宮頸癌由来の細胞株の増殖抑制を見いだした。このプロテアソーム阻害剤の子宮頸癌に対する抗腫瘍効果は、シスプラチンとの併用で、相乗効果を示し、またp53の発現回復を介するメカニズムで効果を示すことが明らかとなった。

A. 研究目的

HPVの持続感染陽性の子宮頸部上皮はHPVゲノムのうち、癌遺伝子であるE6遺伝子、E7遺伝子がひとのゲノムに組み込まれる。このことより、一旦HPVの癌遺伝子が組み込まれた子宮頸部の細胞では、これらの癌遺伝子が高発現することが知られている。E6癌蛋白はユビキチン化を介して癌抑制蛋白を分解する。プロテアソーム阻害剤によりこれらの蛋白の分解を抑制することにより子宮頸癌の増殖抑制効果がもたらさせるかを検討し、プロテアソーム阻害剤の他剤との併用効果の有無、またその子宮頸癌に対する抗腫瘍効果発揮のメカニズムの解明を目的とした。

B. 研究方法

我々は、プロテアソーム阻害剤であるMG132をナノミセルに内包化するシステムを東大工学部の片岡研と共

同で開発した。このまたMG132内包ミセルが腫瘍集積性を持つかを検討するために、ミセルを傾向ラベルし、傾向の腫瘍への集積性を検討した。HPV陽性のHeLa、Caski細胞とHPV陰性のC33細胞をヌードマウスの皮下に移植し、プロテアソーム阻害剤であるMG132とそれを内包したナノミセルの抗腫瘍能を検討した。また、同時にシスプラチン等の化学療法剤を併用することにより、相乗効果があるかも検討した。今年度は更に、シスプラチン等の化学療法剤をプロテアソーム阻害剤と併用し、*in vitro* および *in vivo* で相乗効果を検討した。また、p53に対するsiRNAを用いて、プロテアソーム阻害剤による子宮頸癌に対する抗腫瘍効果が、P53の発現回復を介するかを検討した。

（倫理面への配慮）

現在まで、患者に関わる実験や研究は

行っておらず、倫理面への配慮の必要性は無い。

C. 研究結果

プロテアソーム阻害剤である

bortezomibを子宮頸癌細胞に投与し、フローサイトメトリーにより解析したところ、bortezomibはシスプラチン、カルボプラチン、パクリタキセル等の化学療法剤を上回るアポトーシス誘導能を示した。また、bortezomibの子宮頸癌細胞に対するアポトーシス誘導能に関しては、シスプラチン、カルボプラチン、パクリタキセル等の化学療法剤との相乗効果を持つことが示された。また、これらの化学療法剤と併用する場合、bortezomibを先行投与する方が、より強いアポトーシス誘導能を有することが明らかとなった。子宮頸癌細胞に対するbortezomibの抗腫瘍効果発現のメカニズムを解明するために、その投与により発現が増強する遺伝子を検索したところ、癌抑制蛋白であるp53の下流遺伝子群に発現の増強を認めたが、p53そのものの発現の増強はRNAレベルでは認められなかった。P53をsiRNAによりノックダウンすることで、子宮頸癌細胞に対するbortezomibの抗腫瘍効果は消失することから、その抗腫瘍効果はp53の発現回復を介することが証明された。

D. 考察

bortezomibの子宮頸癌細胞に対するアポトーシス誘導能に関して、シスプラチン、カルボプラチン、パクリタ

キセル等の化学療法剤と相乗効果があることが示されたことから、実際の子宮頸癌患者に対するプロテアソーム阻害剤の投与にあたっては、これらの化学療法剤との併用が有効であり、投与順序としては、プロテアソーム阻害剤をシスプラチン、カルボプラチン、パクリタキセル等の化学療法剤よりも先行投与させた方がより効果的である可能性が示唆された。

今後は自主臨床試験を通して、再発、再燃を示した子宮頸癌患者に対して、bortezomib等のプロテアソームを臨床応用につなげる研究を進展させて行きたい。

E. 結論

bortezomibの子宮頸癌細胞に対するアポトーシス誘導能に関しては、シスプラチン、カルボプラチン、パクリタキセル等の化学療法剤との相乗効果を持つことが示された。その子宮頸癌に対する抗腫瘍効果は、p53の発現回復を介することが証明された。

F. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし