



Title	Hepatic Gene Expression of NK4, an HGF-antagonist/Angiogenesis Inhibitor, Suppresses Liver Metastasis and Invasive Growth of Colon Cancer in Mice
Author(s)	文, 錦華
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45220
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 ^フ文 ^{キン}錦 ^カ華

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 8 4 6 8 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 16 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科生体制御医学専攻

学 位 論 文 名 Hepatic Gene Expression of NK4, an HGF-antagonist/Angiogenesis Inhibitor, Suppresses Liver Metastasis and Invasive Growth of Colon Cancer in Mice
(NK4 遺伝子発現によるマウス大腸癌細胞の肝転移ならびに浸潤性成長の阻害)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 中村 敏一

(副査)

教 授 青 笹 克 之 教 授 門 田 守 人

論 文 内 容 の 要 旨

〈目的〉

HGF (hepatocyte growth factor) は癌-間質相互作用のメディエーターとして様々な癌の浸潤・転移を強力に促すことが知られている。これに基づき NK4 は当初 HGF ならびに c-Met/HGF レセプターを介した癌の浸潤・転移を阻止すべく HGF アンタゴニストとして見出された分子であり、N 末端ヘアピンドメインならびに 4 個のクリングルドメインからなる HGF の分子内断片に相当する。その後、NK4 は HGF アンタゴニスト作用とは独立に血管新生阻害作用をも有する 2 機能性分子であることが明らかにされ、生物活性の上からも強い制癌分子となることが期待される。本研究は大腸癌肝転移モデルを用いて、NK4 遺伝子治療の制癌作用を明らかにすることを目的とした。

〈方法ならびに成績〉

肝転移をきたす大腸癌細胞として MC-38 マウス大腸癌細胞を用いた。MC-38 細胞に対する HGF の作用を調べた結果、HGF は MC-38 細胞の増殖・アポトーシスには無効である一方、MC-38 細胞における c-Met/HGF レセプターのチロシンリン酸化を誘導するとともに in vitro 基底膜浸潤を強力に促進した。これに対して、NK4 はこれら HGF によって誘導される c-Met レセプターのチロシンリン酸化ならびに癌細胞浸潤をほぼ完全に阻害した。

次に NK4 遺伝子の生体内発現を行うため、ヒト NK4 遺伝子発現用プラスミドを hydrodynamics 法によってマウス尾静脈から投与した。その結果、投与 1 日後をピークとして肝臓において高い NK4 発現が認められるとともに、血中 NK4 レベルは 2 週間後においても 8 ng/ml に維持された。そこで、hydrodynamics 法によりプラスミドを投与 1 日後、MC-38 マウス大腸癌細胞を脾臓内に移植し、3 週間後に肝転移、肝組織内での浸潤性成長を解析した。Empty プラスミドを投与したコントロールのマウスにおいては、多数の肝転移結節が観察されたのに対して、肝転移結節数は NK4 遺伝子発現によってコントロールの 26.6% に抑制された。また、肝転移巣のサイズ (成長) は NK4 遺伝子発現によって 15.6% に強く抑制された。このとき腫瘍組織内の血管を解析した結果、腫瘍血管密度は NK4 遺伝子発現によってコントロールの 43.8% に阻害されるとともに、癌細胞のアポトーシスは 2.0 倍に増加していた。したがっ

て、NK4 は腫瘍血管新生阻害を介して肝臓での転移腫瘍の成長を抑制したと考えられる。一方、肝転移巣を含め HGF の発現を免疫組織染色によって調べた結果、癌細胞においては HGF の発現は認められないものの、肝類洞に沿う肝非実質細胞において強い発現が認められた。このとき、コントロールのマウスではとりわけ転移巣辺縁部で c-Met/HGF レセプターの *in situ* チロシンリン酸化と一致して活発な癌細胞浸潤が認められたことから、HGF をメディエーターとする癌-間質相互作用を介して癌細胞が活発に浸潤していることが示唆された。実際に、c-Met の *in situ* チロシンリン酸化ならびに癌細胞浸潤は NK4 遺伝子発現により強力に阻害された。さらに、マウスの生存率に対する NK4 遺伝子発現の影響を調べた結果、NK4 発現プラスミドの投与容量に応じて大腸癌を移植したマウスの延命効果が認められた。

〈総括〉

NK4 は大腸癌細胞の肝臓への colony 形成、それに続く転移先での血管新生に依存した転移巣の成長、さらに肝組織内での浸潤を強力に阻害し、これらを介して延命作用を発揮することを明らかにした。したがって、NK4 は血管新生阻害、ならびに HGF antagonist の二つの生物活性を介して強力な制癌作用を示したと考えられる。大腸癌はとりわけ欧米では major cancer の一つであり、その大半は肝臓に転移した癌によって命を落とす。したがって、NK4 遺伝子治療法は大腸癌の肝転移ならびに浸潤性成長を阻害する有効な制癌法になることが期待される。

論文審査の結果の要旨

NK4 は HGF アンタゴニスト作用ならびに血管新生阻害作用を有する 2 機能性分子として申請者の教室で発見された分子である。本論文ではマウス大腸癌細胞の肝転移モデルを用いて、ハイドロダイナミクス法による NK4 遺伝子治療によって大腸癌細胞の肝転移、腫瘍血管新生に依存した転移巣の浸潤性成長が強く抑制され、これによってマウスの延命がもたらされることが初めて明らかにされた。本論文は naked プラスミドを使用した NK4 遺伝子治療の制癌作用を初めて示すとともに、NK4 による大腸癌の肝転移・浸潤性成長の抑制が NK4 のもつ 2 機能性によることを綿密かつ的確な実験手法を使用して明確に示した点で高く評価できる論文である。また、とりわけ欧米では大腸癌は主要な癌であり大腸癌の患者の多くは肝転移によって死亡する。本論文は NK4 が大腸癌の肝転移ならびに転移巣の浸潤性成長を同時に阻止する制癌法として有用であることを示し、新しい癌治療法の確立につながる研究成果である点も高く評価できる。以上、本論文は博士（医学）の学位授与に値するものである。