

## Proline に富む内因性抗菌ペプチド PR-39 遺伝子を用いたシグナル伝達ブロックによる肝癌転移の遺伝子治療

藤本佳範・大竹孝明・鈴木康秋・田中浩二・生田克哉・  
齊藤浩之・大平基之・小野 稔・高後 裕\*

PR-39 はブタの小腸粘膜および白血球から精製された proline に富む内因性の抗菌ペプチドである。筆者らは、この PR-39 が proteoglycan 型接着分子である syndecan の発現を誘導するとともに、肝癌細胞の固有運動能を低下させ、細胞形態と actin 構造に変化を起こすことを明らかにした。また近年、PR-39 が白血球の p47<sup>phox</sup> の SH3 domain に結合し NADPH oxidase の活性を抑えるという報告や、PR-39 が SH3 domain を有するシグナル伝達分子である p130<sup>Cas</sup> に結合するという報告が出された。

そこで筆者らは、PR-39 のシグナル伝達における機能を明らかとするために、もっともよくシグナル伝達系が解明されている ras の系を用い、PR-39 が ras のシグナル伝達系をブロックし、細胞増殖を抑制するという新しい癌の治療法に有用な遺伝子である可能性を明らかにした。

### 内因性抗菌ペプチド PR-39

PR-39 はブタの創部滲出液より syndecan-1 の発現を誘導する新しい因子としてプロリンに富む 4.8 kDa のペプチドとして精製された。しかし、これはブタの小腸粘膜および白血球より内因性抗菌ペプチドとしてすでに精製されていた PR-39 と同一のものであった。内因性抗菌ペプチドは 1987 年 Zasloff らがアフリカツメガエルの皮膚粘膜より magainin を精製したのを契機に、その後多数

発見されている。ヒトにおいては defensin が白血球からクローニングされており、また、ヒト PR-39 類似遺伝子として FALL-39 が報告された。

PreproPR-39 の N 側には cathepsin L の inhibitor である cathelin との類似部位が存在するが、FALL-39 はその部位を有するのみで、C 側に存在するプロリンに富む maturePR-39 とは類似性をもたない。また、PR-39 は syndecan-1 の発現誘導の他にも白血球の p47<sup>phox</sup> の SH3 (ScRHomology 3) domain に結合し NADPH oxidase の活性を抑えるなど多機能を有している。

### PR-39 遺伝子導入による浸潤能と細胞形態の変化

PR-39 が syndecan-1 の発現を誘導し、さらに浸潤能を抑制することを遺伝子導入により検討した。PR-39 遺伝子を syndecan-1 の発現が低下して高い浸潤能をもつ細胞に導入すると、トランスフェクタントは syndecan-1 の発現誘導とともに 1 型コラーゲンに対して著しい浸潤能の低下および固有運動能の低下を示した。細胞形態は紡錘形からコンパクトな多角形へと変化し、actin の再構築も認めた。細胞形態の変化および固有運動能の低下は syndecan-1 トランスフェクタントには認められなかったので、PR-39 は syndecan-1 の発現誘導に加えて、さらなる機能を有していると考えられた。

\* 旭川医科大学第三内科学教室

### ras transformant への PR-39 の遺伝子導入

PR-39 の機能として白血球の p 47<sup>phox</sup> の SH 3 domain に結合し NADPH oxidase の活性を抑えるという報告や SH 3 domain を有しシグナル伝達系に重要な蛋白である p 130<sup>cas</sup> に結合し、影響を及ぼすという報告から、PR-39 遺伝子導入による肝癌細胞の actin 構造の変化は、細胞骨格に関与する SH 3 domain を有するある蛋白が標的となり、PR-39 の競合により signal 伝達が阻害されるためと想定した。そこでもっともよくシグナル伝達系が解明されている v-K-ras の transformant へ PR-39 遺伝子を導入し、ras transformant の生物学的変化について検討した。その結果 PR-39 transfectant では細胞の形態が変化し、細胞増殖能が低下していた。さらに、これらの細胞をヌードマウスに皮下移植すると 1 週後にはコントロールの ras transformant に比較して有意に腫瘍径が小さく、移植早期では tumorigenesis

が低下していた。また、PR-39 transfectant の MAPK 活性は低下していた。

### おわりに

肝細胞癌において転移抑制因子としての機能をもつ syndecan-1 の発現誘導因子である PR-39 は syndecan-1 の発現誘導に加えて actin の再構築を引き起こす。この機序についてはまだ明らかではないが、PR-39 の SH 3 domain への結合能が関与していると想定される。ras transformant に PR-39 遺伝子を導入すると細胞増殖能の低下とヌードマウス移植早期での腫瘍形成能の低下が認められた。これらの細胞の MAPK 活性が低下していたことより、今後、PR-39 は癌の転移を含めた進展阻止を目的としたシグナル伝達ブロックによる遺伝子治療に有用な遺伝子になると思われる。