

【背景】

アスベスト関連悪性腫瘍である悪性中皮腫は、手術、薬物療法や放射線治療などの治療効果が乏しく予後不良であるため、発癌機序の解明と新規治療法の開発が求められている。Wnt シグナルの β -カテニンを介した古典的経路の活性化は、大腸癌などの発癌への関与が示されているが、悪性中皮腫においては、 β -カテニンを介さない非古典的経路の関与が推測されている。非小細胞肺癌においては、 β -カテニン阻害と EGFR チロシキナーゼ阻害剤 (EGFR-TKI) 併用が抗腫瘍効果を増強し、EGFR-TKI 耐性克服に有用であることが報告されている。悪性中皮腫においては、EGFR タンパクが高発現しており、EGFR シグナルと Wnt シグナルの相互作用の関与が推測されているが、十分に解明されていない。

【目的】

悪性中皮腫における Wnt シグナル伝達遮断と EGFR シグナル抑制による抗腫瘍効果を検討することを目的とした。

【方法】

悪性中皮腫細胞として、 β -カテニン遺伝子発現を伴う悪性中皮腫細胞株 NCI-H2452 (H2452)、MSTO-211H (211H)、 β -カテニン遺伝子を欠失した NCI-H28 (H28) を用いた。悪性中皮腫細胞に Wnt シグナル伝達体 Dishevelled 3 (Dvl-3) の siRNA またはコントロール siRNA を導入した後、EGFR-TKI であるゲフィチニブまたはジメチルスルホキシドを投与し、タンパク発現変化、細胞増殖能、コロニー形成能および細胞周期について検討した。

【結果】

Dvl-3 siRNA による悪性中皮腫細胞の Dvl-3 発現抑制をウエスタンブロットにて確認した。Dvl-3 siRNA の細胞導入にて、211H と H28 の細胞増殖は、コントロール siRNA を導入した細胞と比較し抑制されたが、H2452 の細胞増殖は抑制されなかった。細胞増殖能は、5-10 μ M のゲフィチニブ暴露にていずれの細胞も増殖は抑制されなかったが、30 μ M では全ての細胞で増殖は抑制された。211H と H28 では、Dvl-3 siRNA とゲフィチニブを組み合わせることで、5 μ M 以上のゲフィチニブ併用で Dvl-3 siRNA 導入のみより細胞増殖抑制が増強され、H2452 では、10 μ M 以上のゲフィチニブの併用で細胞増殖抑制が増強された。コロニー形成能は、全ての細胞で Dvl-3 siRNA のみで抑制されたが、5 μ M のゲフィチニブを加えることでさらに抑制された。

フローサイトメトリーを用いた細胞周期解析では、Dvl-3 siRNA にて全ての細胞でコントロールと比較し G1 期の細胞割合が増えたが、ゲフィチニブ併用にて G1 期がさらに増加する傾向にあった。Wnt と EGFR シグナル伝達経路の接点である GSK3 β および不活性体であるリン酸化タンパク発現を検討したところ、Dvl-3 siRNA の細胞導入により、211H および H2452 ではリン酸化 GSK3 β の減少を認め、H28 では GSK3 β の全タンパクおよびリン酸化タンパクの減少を認めた。以上より、Wnt シグナル伝達経路 Dvl-3 発現抑制と EGFR-TKI の併用は、悪性中皮腫の細胞増殖とコロニー形成を相乗的に抑制し、細胞周期 G1 期の細胞割合を増加させることを明らかにした。

【考察】

Wnt シグナルおよび EGFR シグナルの両経路阻害による悪性中皮腫の抗腫瘍抑制に対する相乗効果は、どちらか一方のみでの阻害では、それを補う別経路が活性化される可能性がある。両シグナル経路を阻害することで、別経路の活性を誘発しにくくする機序が想定されるが、Wnt シグナルの β -カテニン依存古典的経路と非古典的経路では異なる可能性がある。悪性中皮腫における EGFR シグナルと 2 つの Wnt シグナル経路の関連については、さらなる検討が必要である。

【結論】

EGFR-TKI による EGFR シグナル阻害と Dvl-3 抑制による Wnt シグナル遮断は、悪性中皮腫の新規治療戦略になり得る。