

総 説

難治性悪性腫瘍に対する TRAIL 分子による治療戦略

Strategy for Treatment of Intractable Malignant Tumors with TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) molecule

矢那瀬 紀子 水口 純一郎

Noriko YANASE, Junichiro MIZUGUCHI

東京医科大学免疫学講座
Department of Immunology, Tokyo Medical University

1. はじめに

悪性腫瘍に対して外科的治療、放射線療法、及び化学療法が用いられている。放射線/化学療法は DNA 複製を障害することにより、細胞増殖の抑制や細胞死を誘導し、腫瘍の増殖停止や退縮をもたらす。しかし、悪性腫瘍を根絶することは困難であり、これらの治療法に対する抵抗性の悪性腫瘍がしばしば出現する(難治性悪性腫瘍)。抵抗性の機序の一つとして p53 変異が知られており、腫瘍の半数以上の例で p53 変異が観察されている¹⁾。化学療法剤/放射線治療は分裂している細胞であれば、悪性腫瘍および非悪性腫瘍を問わず障害性を発揮するので、時には副作用があらわれ、死が早められる場合もある。それ故、腫瘍選択的且つ副反応の少ない生物製剤が検討されてきた。

その一つとして、腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor; TNF) を上げることができる。腫瘍壊死因子は、その名が示すように、細菌感染症に罹った患者の腫瘍が退縮したという報告に由来している。TNF 遺伝子は 1980 年代にクローニングされ、物質的な基盤が確立された。その後、Lymphotoxin (LT)- α 、LT- β 、CD40-ligand (CD40-L)、CD30-L、CD27-L、CD95(Fas)-L、4-1BB-L など TNF 類似の構造を持つ分子が明らかにされ、現在では TNF ファミリーと呼ばれている

(図 1)²⁾。1990 年中頃になるとヒトゲノムプロジェクトによってゲノム DNA 配列が解読され、データベースを基に Apo2/TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand)、BAFF、TWEAK (TNF-related weak inducer of apoptosis)などの遺伝子が発見され、現在 TNF ファミリーには 18 個のリガンドが存在している。

我々はヒト B リンフォーマ細胞株を用いて IFN- α の作用機序を検討している中で、アポトーシスの誘導には TRAIL/TRAIL-receptor (TRAIL-R) のオートクライン/パラクライン機構が関わっていること、さらに IFN- α と TRAIL は協同的に作用し、アポトーシスを誘導することを明らかにした³⁾。興味深いことに、Acute promyelocytic leukaemia (急性前骨髄性白血病) をレチノイン酸処理により分化誘導させると、TRAIL/TRAIL-R を介するオートクライン・パラクラインの機構によりアポトーシスが誘導されることが Altucci らによって示された⁴⁾。これらの研究により、TRAIL 単独あるいは TRAIL/化学療法剤・放射線治療併用への期待が高まった。

2. TRAIL/TRAIL-Rs の構造と機能

(1) TRAIL

TRAIL は TNF や CD95-L と同様に 3 量体で、細胞

2003 年 8 月 22 日受付、2003 年 9 月 9 日受理

キーワード：難治性悪性腫瘍、TRAIL 分子、化学療法、免疫療法、ガン治療

(別冊請求先：〒160-8402 東京都新宿区新宿 6-1-1 東京医科大学免疫学講座 矢那瀬紀子)

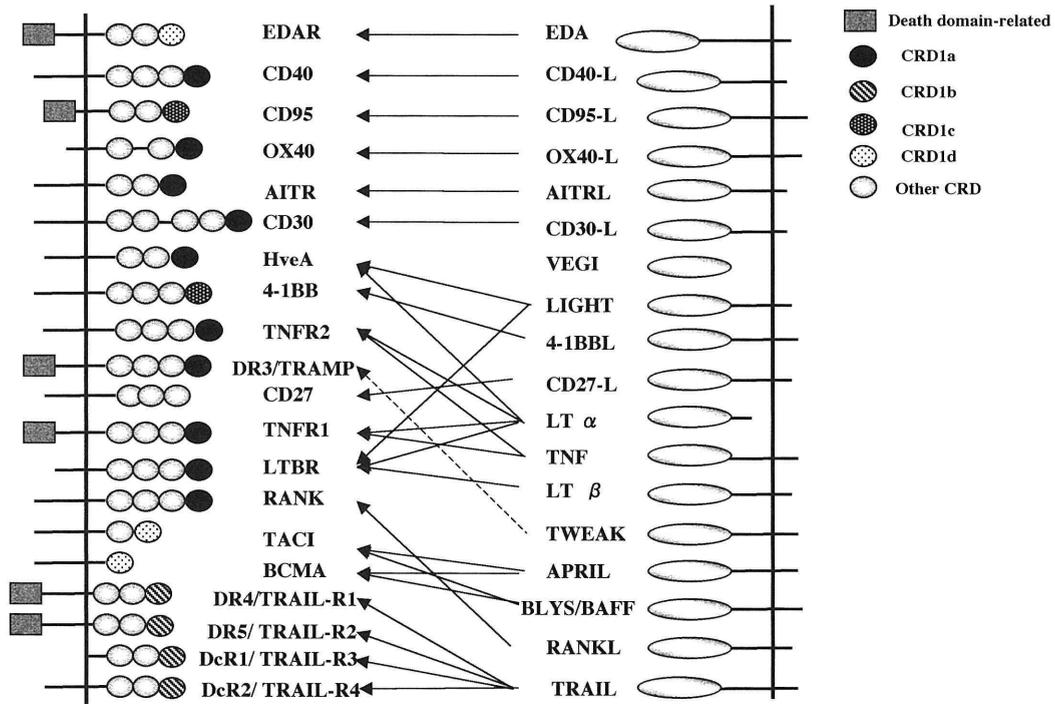


図1 TNF/TNFR スーパーファミリー

- AITR : activation-inducible TNF receptor
- AITRL : activation-inducible TNF receptor ligand
- APRIL : a proliferation-inducing ligand
- BCMA : B cell maturation antigen
- BLYS : B lymphocyte stimulator/BAFF
- CRD : cysteine-rich domain
- DcR : decoy receptor
- DR : death receptor
- EDA : ectodysplasin-A
- EDAR : ectodysplasin-A receptor
- HveA : herpes virus entry mediator A
- LT : lymphotoxin
- LTBR : LT bata receptor
- RANK : receptor activator of NF- κ B
- RANKL : receptor activator of NF- κ B ligand
- TACI : transmembrane activator and CAML-interactor
- TNF : tumor necrosis factor
- TNFR : TNF receptor
- TRAIL : TNF-related apoptosis-inducing ligand
- TRAMP : tyrosine-rich acidic matrix protein
- TWEAK : TNF- related weak inducer of apoptosis
- VEGI : vascular endothelial growth inhibitor

膜型或いは可溶性分子として存在しており、種々の悪性腫瘍やトランスフォームした細胞株に対してアポトーシスを誘導する。しかし、正常細胞に対しては影響を与えない^{5,6)}。TRAIL は CD4 陽性 T 細胞、NK 細胞、マクロファージ (M ϕ)、樹状突起細胞 (DC) 等の免疫系細胞に発現し、CD95-L, TNF, TWEAK 等と共に免疫系細胞の細胞障害活性を担っており、生体内では炎症や腫瘍の制御に関わっていると見なされている。実際、抗 TRAIL 抗体により TRAIL 機能を中和す

ると、自己反応性リンパ球が出現し、関節炎が発症した。また、肝臓内の NK 細胞には TRAIL が恒常的に発現しており、抗-TRAIL 抗体で中和すると肝臓への転移が亢進した。しかしながら、TRAIL 遺伝子を破壊した (ノックアウト、KO) マウスでは、明らかな腫瘍発生の異常が観察されなかった。以上より、TRAIL は腫瘍転移抑制因子として働いているが、癌抑制遺伝子として機能しているわけではないと結論できる。

TRAIL mRNA は免疫系を含む種々の細胞に発現

している。ウイルス感染 (Human Immunodeficiency Virus, Measles Virus, Adenovirus etc.)、PHA/ConA などのマイトゲン、タイプI/タイプIIインターフェロン等によって TRAIL 発現が増強されることより、ウイルス感染防御に重要な役割を果たしていると考えられる。つまり、ウイルス感染により産生された IFN- α/β は 2-5A 酵素を介してウイルスの増殖を押さえると共に、TRAIL 発現を亢進させることによりアポトーシスを誘導する。このような仕組みにより、生体内でのウイルス拡散を防いでいると推定される。以上の点を考慮すると、腫瘍に対する TRAIL のアポトーシス誘導作用は生物が進化の過程で獲得し

たウイルス感染細胞に対する防御機構を利用していることになる。

(2) TRAIL-Rs を介するアポトーシス誘導

TRAIL に対して数種類の受容体、すなわち TRAIL-Rs が存在している。TRAIL-R1/DR4 及び TRAIL-R2/DR5 は、TNF-R1、CD95、TRAMP (tyrosine-rich acidic matrix protein)、DR6 に見られるように、「Death domain」(死のドメイン) を持っている。この受容体を介したシグナルは Fas-associated death domain protein (FADD) に伝達され、受容体・FADD・カスパー 8 複合体 (Death-inducing signaling complex, DISC) が形成される。その結果、カス

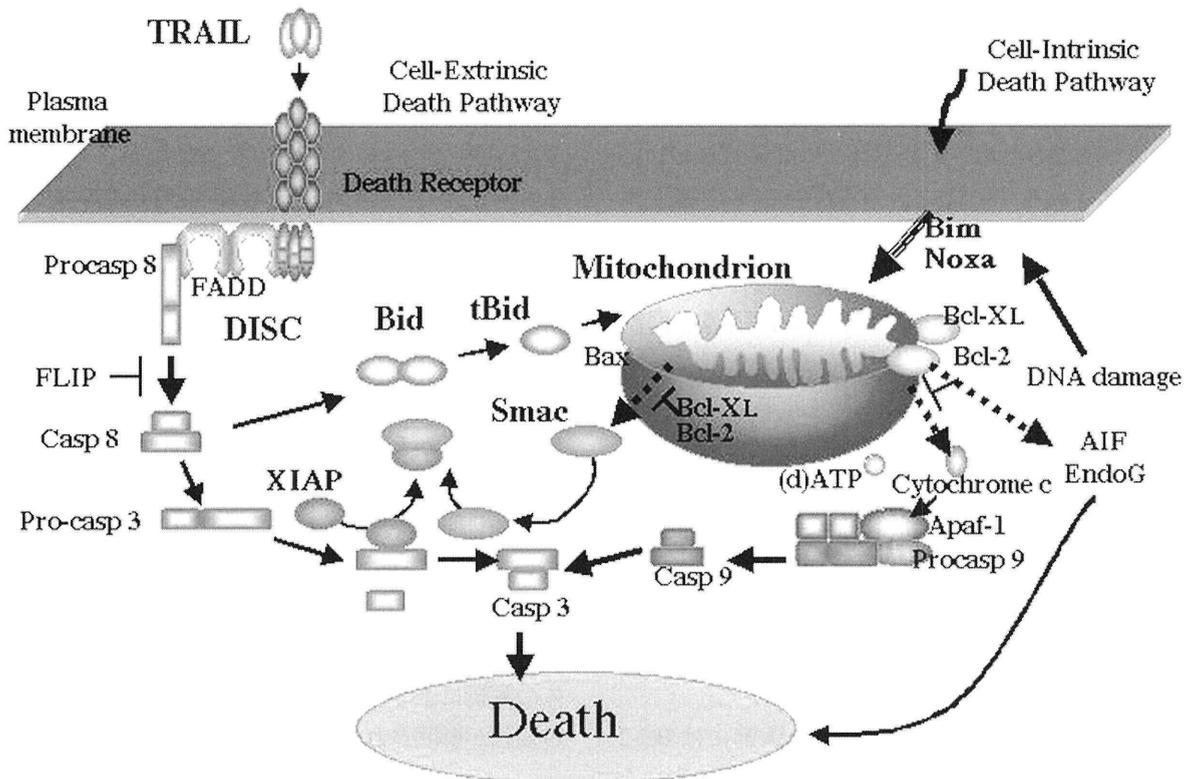


図2 TRAIL 誘導性アポトーシスのシグナル伝達経路

- AIF: apoptosis-inducing factor
- Apaf-1: apoptotic protease activating factor 1
- Bax: Bcl-2 associated X protein
- Bcl-2: Bcell lymphomal leukemia-2
- Bid: a BH3 domain-only death agonist protein
- Casp: caspase cystein proteases with aspartate specificity
- DISC: Death-inducing signaling complex
- EndoG: endonuclease G
- FADD: Fas associated death domain
- FLICE: FADD-like interleukin-1 β -converting enzyme
- FLIP: cellular FLICE-like inhibitory protein
- Noxa: Damage protein ,a proapoptotic BH3-containing protein
- Smac: second mitochondria-derived activator of caspase
- tBid: truncated a BH3 domain-only death agonist protein
- XIAP: X-linked inhibitors of apoptosis proteins

ペース 8 が活性化されアポトーシスに至る (図 2)⁷⁾。一方、TRAIL-R3/DcR1、TRAIL-R4/DcR2 は TRAIL と結合できるが、死のドメインを欠いているため、アポトーシスシグナルを細胞内に伝達できない。Osteoprotegerin (OPG, TRAIL-R5) と呼ばれる第 5 番目の受容体は可溶性タイプであり、骨代謝を調節している。TRAIL-R3/-R4/-R5 は TRAIL 誘導性アポトーシスに対して抑制的に作用すると考えられる故、疑似 (デコイ) 受容体と呼ばれている。

TRAIL 受容体が TRAIL によって強力に架橋されると、カスパー 8/10 が十分に活性化されることになり、ミトコンドリアでの増幅を必要としないで、アポトーシスに至る (I 型細胞)。一方、活性化シグナルが不十分であると、Bid 切断、Bax のミトコンドリア膜への移行が起こる。続いて、ミトコンドリアから cytochrome c が細胞質へ遊離し、カスパー 3 を中心とするエフェクターカスパーの活性化が起こり、アポトーシスが誘導される (II 型細胞)。つまり、TRAIL によって架橋される TRAIL-Rs の程度及びその結果産生されるカスパーの程度によって、2 つのタイプに分けることができる⁸⁻¹⁰⁾。

(3) TRAIL-Rs を介するアポトーシス誘導を抑制する因子

トランスフォームした細胞や悪性腫瘍細胞の中には、TRAIL 誘導性細胞死に対して抵抗性のもも存在している^{11,12)}。この機序として、デコイ受容体、c-FLIP, XIAP (X-linked inhibitors of apoptosis proteins), Bcl-2/Bcl-xL, NF- κ B などアポトーシスに対して抑制的に作用している分子の関与が想定されている。例えば、ある種の悪性腫瘍は c-FLIP を高発現し、TRAIL 非感受性である。

ミトコンドリアでのアポトーシスの調節には Bcl-2 ファミリー蛋白質が重要な役割を果たしている¹³⁾。このファミリーはアポトーシスを促進分子 (Bax, Bak)、アポトーシス抑制分子 (Bcl-2, Bcl-xL)、及び BH3 ドメイン蛋白質から構成されている。Bcl-2/Bcl-xL はミトコンドリア外膜に存在している。一方、Bax は正常状態では単量体で細胞質に存在しているが、アポトーシスシグナルを受け取るとミトコンドリアへ移行し、チャンネル形成を介してアポトーシス誘導に関わっていると推定されている。Bcl-xL/Bcl-2 は Bax とヘテロダイマーを形成し、そのバランスによってアポトーシス/生存が決定されるという Oltvai ら¹⁴⁾ の古典的な考え方が有名であるが、詳細については不明の点が多

い。

エフェクターカスパー活性化は XIAP によって抑制されるが、TRAIL はまた XIAP 機能をブロックする Smac/Diablo をミトコンドリアから放出することによって、結果としてカスパー 3 活性化を促している。

以上より、TRAIL によるアポトーシス促進シグナルとアポトーシス抑制分子の機能とのバランスによって、アポトーシスが決定されると推論できる。従って、これらの抑制分子のインヒビターと TRAIL の併用が効果的なアポトーシス誘導法として期待できる。

3. 難治性悪性腫瘍

(1) 難治性悪性腫瘍

Malignant glioblastoma multiforme (悪性多形性神経膠腫)、スキルス胃ガン、膵臓癌等は依然として治療成績が悪く、いわゆる難治性悪性腫瘍と呼ばれている。悪性度の指標として、転移・血管新生や薬剤/放射線耐性などを上げることができる。前者に関しては、浸潤・転移に関わっているメタロプロテアーゼ、血管新生因子について解析されており、これらのインヒビターを治療薬として使用する試みがなされている。薬剤耐性機構に関して、薬剤の作用機序が分子レベルでかなり明らかとなった結果、薬剤耐性には複数の分子が関わっていることが明らかとなってきた。悪性腫瘍の難治性は多数の因子によって決定されていると想像できるが、詳細については不明である。現在、個々の悪性腫瘍の特徴を明らかにするため、DNA マイクロアレーやプロテオーム解析が行われている。これらの解析により、個々の腫瘍の悪性度を特徴づけている要因が解明され、個別医療が可能となると期待され

表 1 シスプラチンの耐性機構

1	Drug Uptake (Decreased)/Efflux (Increased)-P-glycoprotein (<i>mdr</i> gene product)
2	Inactivation of Drug Sulfurcontaining Molecules (γ -glutamylcysteinylglycine, GSH)
3	Regulatory Proteins Deregulated Expression of Oncogenes (c-myc, H-ras, c-jun, c-fos etc) and Tumor Suppressor Gene (p53, Rb etc)
4	DNA repair Nucleotide Excision repair, Mismatch Repair, Recombinational Repair
5	Protein regulating Apoptosis Bcl-2 Family Proteins (Bcl-xL/Bcl-2, Bax/Bak/Bad etc)

ている。

(2) 薬剤耐性機構

臨床的に使用頻度が高く、かつ作用機序が精力的に解析されているシスプラチンを例として、薬剤耐性機序を説明する。表1に示されているように、薬剤の細胞内への取り込みの低下及び細胞外への排出の増大、癌遺伝子や癌抑制遺伝子などの調節性蛋白質 (c-myc, H-ras, c-jun, c-fos, p53, Rb など) の異常発現や機能異常、薬剤の不活性化、DNA 修復遺伝子、アポトーシス制御因子 (Bcl-xL, Bax) 等によってシスプラチン感受性が決定されている¹⁵⁾。

CDDP の細胞内への取り込みに関わる分子として 48 kDa 膜蛋白質が想定されており、耐性株ではこの蛋白質レベルが低い。P-glycoprotein (mdr 遺伝子産物) は薬剤の細胞外への排出によって多剤耐性因子として機能している。CDDP は GSH (γ -glutamylcysteinylglycine) と結合すると、ATP 依存性ポンプにより細胞外に排出される。CDDP の標的である DNA を損傷させると、DNA 修復酵素が活性化され、修復が図られる。修復作用が充分であると CDDP 耐性となり、欠損していると感受性となる。この修復状況が c-abl, ATM (ataxia telangiectasia mutated) を介して p53 に伝達される。p53 に加えて、c-Fos, c-Myc, c-Jun, c-Abl などの細胞内調節分子との関連性が報告されているが、紙面の都合で割愛する。

癌抑制因子として知られている p53 は細胞周期調節 (G1 期或いは G2/M 期停止)、DNA 修復、アポトーシス誘導などに関わっている。半数以上の悪性腫瘍で p53 変異が観察され、卵巣癌、リンフォーマ、肺癌などでは p53 変異と CDDP 抵抗性には相関があることが報告されている。例えば、非小細胞性肺癌 (non-small cell lung cancer) に野生型 p53 遺伝子を導入すると、CDDP に感受性となった¹⁶⁾。また、CDDP 抵抗性を示す卵巣癌では高率に p53 変異が認められた¹⁷⁾。しかしながら、精巣癌やある種の乳ガンや肺癌では必ずしも p53 変異と CDDP 感受性との間に相関性が認められない。以上より、p53 と薬剤耐性の関連性は悪性腫瘍により異なると結論できる。難治性悪性腫瘍は低酸素、低栄養、化学療法剤/放射線などのストレスに対して抵抗性を獲得したクローン由来であるということを考慮すると、薬剤耐性と p53 の関係は複数の癌遺伝子、癌抑制遺伝子、修復遺伝子などの背景で理解する必要がある。

CDDP は他の化学療法剤と同様にミトコンドリア

を介してアポトーシスを誘導する。CDDP 抵抗性とアポトーシス非感受性の間には相関性があることが複数の細胞株で示されている。我々は扁平上皮癌、骨肉腫、リンフォーマ細胞株を用いて Bcl-xL が多剤耐性因子として機能しているということを明らかにしてきた^{18,19)}。すなわち、口腔扁平上皮癌より多数の細胞株を樹立し、シスプラチンを含む複数の薬剤に対する感受性を調べたところ、2細胞株が多剤抵抗性を示した。これらの細胞では Bcl-xL レベルが感受性株に比べて高かった。そこで、アンチセンス法を用いて、Bcl-xL レベルを低下させたところ、薬剤感受性となった。逆に、感受性株に遺伝子導入法を用いて人為的に Bcl-xL レベルを高めたところ、薬剤抵抗性を獲得した²⁰⁾。以上より、Bcl-xL が抗癌剤抵抗性に関わっている因子であることが明らかとなった。一方、CDDP 抵抗性卵巣癌細胞ではアポトーシス促進因子である Bax- α の低下が認められ、Bax- α 導入により CDDP 感受性となることが報告されている。

以上より、薬剤耐性機構は薬剤感受性に関わっている複数の因子によって決定され、その機構は化学療法剤に共通のものと固有のものに分けられる。前者が障害されると多剤耐性となり、後者では選択的な薬剤耐性となる。この耐性機構を明らかにすることにより、薬剤耐性を克服する新たな戦略を立案することが可能となる。

4. 悪性腫瘍に対する応用

(1) TRAIL の併用療法

TRAIL 分子の悪性腫瘍に対する選択的な細胞死誘導作用により、悪性腫瘍に対する臨床応用への期待が高まった。しかし、あるタイプの悪性腫瘍は TRAIL に対して抵抗性を示した。TRAIL 抵抗性を規定している候補分子として、TRAIL-Rs, c-FLIP、カスパーズ 8、NF- κ , Akt, Bcl-2 ファミリー分子、XIAP などを上げることができる。そこで、TRAIL 感受性を高めるための併用法が検討され、表2に示されているように、化学療法剤 (CDDP, Actinomycin D, Doxorubicin etc.)、放射線、サイトカイン (IFN- α)、プロテアーゼ抑制剤 (Lactacistin) 化学療法剤/放射線などの併用が検討され、これらの製剤は TRAIL と相乗的に作用し、アポトーシスを誘導できることが示された。

骨肉腫細胞株 MG-63 は TRAIL に対して抵抗性であるが、CDDP 或いは doxorubicin で予め処理しておく、TRAIL 誘導性カスパーズ 8 活性化、ミトコンド

表2 TRAIL と併用法される薬剤

腫瘍細胞	抗腫瘍剤
Acute leukemia	Etoposide, Doxorubicin, Ara-C
AIDS-Kaposi Sarcoma	Actinomycin D
Bladder Cancer	Adriamycin
Breast Carcinoma	Doxorubicin, Ionizing Irradiation
Colon Carcinoma	Actinomycin D, Cisplatin, Cycloheximide
Erythroleukemia	Ionizing irradiation
Ewing's Sarcoma	Cisplatin, Doxorubicin ²¹⁾
Glioma	Cycloheximide Etoposide
Hepatocellular Carcinoma	Actinomycin D, Camptothecin
Lung Cancer	Retinoid
Lymphoma	IFN ³⁾
Melanoma	Actinomycin D
Multiple Myeloma	Cisplatin ²⁸⁾
Ovarian Cancer	Cisplatin, Doxorubicin
Pancreatic cancer	Actinomycin D
Promyelocytic Leukemia	Proteasome inhibitor
Prostate Cancer	Actinomycin D, Paclitaxel
Renal Cell Carcinoma	Topotecan
Squamous Cell carcinoma	Etoposide ²⁶⁾

リア膜電位低下、アポトーシスが増幅された²¹⁾。この併用療法の作用機序については未だ不明の部分が多いが、CDDPの標的の一つはc-FLIPであった。CDDPで処理するとc-FLIPの発現が低下し、この発現低下はプロテアソームインヒビターであるLactacistinによりブロックされたことより、プロテアソームによる分解が関わっていることが示された。実際、c-FLIPが高発現をされている悪性腫瘍が存在している。近年、c-FLIPはカスパー8抑制を介してアポトーシスを誘導を抑制するばかりでなく、ERK 或いは TRAF/NF- κ Bを介して細胞の増殖・分化に関わっていることが報告されている²²⁾。従って、受容体を介したシグナルはc-FLIPレベルによって、アポトーシス経路或いは細胞増殖経路に振り分けられるという仮説が成り立つことになる。

化学療法剤処理によりP53依存的或いは非依存的にTRAIL-R1/TRAIL-R2発現を増強させるとの報告もあるが^{23,24)}、我々が用いた化学療法剤の濃度ではこれらの発現増強は観察されなかった。濃度を含めたさらなる検討が必要であろう。また、IFN- γ 処理によりカスパー8発現が増強し、TRAIL感受性となった。遺伝子のメチル化によりカスパー8発現が低下している脳腫瘍ではTRAILに対して抵抗性を示すが、メチル化を抑制することによりTRAIL感受性を回復し

た²⁵⁾。

Bcl-xL/Bcl-2はアポトーシス抑制因子として作用し、高発現している悪性腫瘍では多剤に対して抵抗性を示す。CDDPを含む化学療法剤はミトコンドリアに作用し、アポトーシスを誘導するするタイプのものが多い。一方、TRAILは細胞膜受容体レベルで作用し、その一部はミトコンドリアで増幅される。そこで、Bcl-xL高発現多剤耐性細胞株に対するCDDP/TRAIL併用療法を試みた。Bcl-xL高発現扁平上皮癌細胞株ではTRAILに抵抗性を示したが、Etoposide前処理により感受性となった²⁶⁾。

以上より、TRAILと化学療法剤/放射線併用により効果的に悪性腫瘍の増殖を抑制できることが明らかとなった。TRAIL処理を行う方法として、TRAIL蛋白質を用いる方法或いはTRAIL遺伝子を導入する方法が考えられる。

(2) TRAILレトロウィルス/化学療法剤併用療法

目的遺伝子を患者の細胞に導入するし病気を治すという遺伝子治療の実現に向けて、標的分子の探索と共に、遺伝子導入効率や遺伝子発現を調節する仕組みを検討することが重要である。遺伝子導入法として、高い導入効率を容易に得ることができるウィルスベクターが広く用いられている²⁷⁾。我々はTRAIL遺伝子とEGFP遺伝子をIRESで連結した形でレトロ

Retroviral Vector



pMX

図 3A Retroviral Vector
LTR : long terminal repeat
IRES : internal ribosome entry site
EGFP : enhanced green fluorescent protein

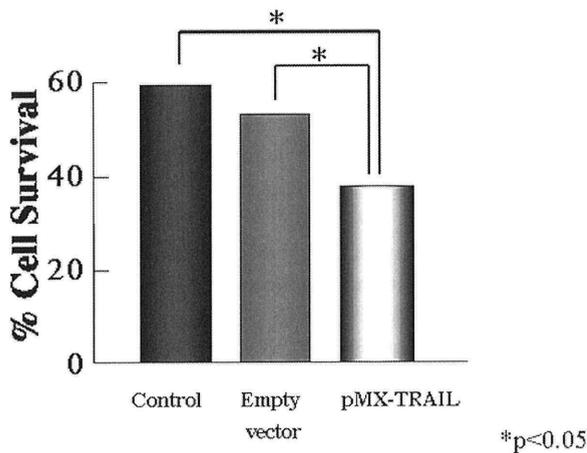


図 3B TRAIL レトロウイルス/化学療法剤の併用効果
あらかじめ $10 \mu\text{M}$ の CDDP (cis-diamminedichloroplatinum) で 24 時間前に処理した RPMI-8226 細胞を TRAIL 遺伝子含有するレトロウイルスを腫瘍細胞に感染させ、48 時間培養後に細胞生存率を WST-8 アッセイで測定した。
* $p < 0.05$

ウイルスベクターに挿入し、パッケージ細胞に導入し、TRAIL/EGFP レトロウイルスを作成した (図 3A)。蛍光を発する EGFP を指標として、導入効率・遺伝子発現レベルを検討したところ、高発現が得られていることが確認された。TRAIL レトロウイルスは TRAIL 感受性である RPMI-8226 骨髄腫細胞株に対して細胞死を誘導したが、TRAIL 抵抗性である MG-63 骨肉腫に対しては影響を与えなかった。また、TRAIL レトロウイルスによって誘導される細胞死は抗-TRAIL 抗体によってブロックされることより、このウイルスベクターは蛋白質発現を介して機能していることが示された。両細胞株共に CDDP で前処理すると、TRAIL レトロウイルスに対してさらに感受

性となった (図 3B)²⁸⁾。さらに、TRAIL/CDDP 併用は Bcl-xL 高発現細胞株に対しても効果的であった。

5. 今後の展望

種々の生物製剤が抗腫瘍薬として試みられてきたが、有効性と副作用の差が少なく臨床応用されている例は限られている。TNF や CD95-L の臨床応用が期待されていたが、副作用の出現によってトライアルは失敗に終わっている。一方、TRAIL 分子は正常細胞に対して明らかな障害をもたらすことなく、悪性腫瘍に対して選択的にアポトーシスを誘導すること、TRAIL と種々の製剤の併用により悪性腫瘍細胞に対して相乗的なアポトーシスが誘導されること、さらに薬剤濃度を減少させることによる副作用の軽減が期待できることなどにより、臨床応用への期待が高まっている。TRAIL 分子の in vivo 投与により肝臓障害がもたらされたとの報告もあるが、その後の解析によりタグ付加による TRAIL 多量化によるものであることが示され、これまでのところは単量体 TRAIL による明らかな有害事象は報告されていない。臨床応用に向けて、化学療法剤を含む製剤と TRAIL の有効濃度、投与方法、投与期間などの検討を行い、有効性と副作用のウィンドーを広げる試みが必要であろう。

レトロウイルスを用いた TRAIL 導入法が in vitro では有効に機能するというを紹介したが、臨床応用される場合に最も重視されなければならない問題は有効性と共に安全性である。今回使用した組み換えレトロウイルスベクターは複製不能な増殖力のないウイルスであるが、安全性確保に向けてさらなる改善が必要であろう。また、宿主染色体へのランダムな挿入により、腫瘍形成を促すことがあるとの可能性

を指摘されており、慎重な対処が必要である。しかし、これらの負の側面は benefits とのバランスによって判断されるべきであり、基礎的な実験や臨床研究の積み重ねにより、これらの問題が科学的に解決され、遺伝子治療の可能性が広がっていくことを期待している。

謝 辞

これらの研究は、口腔外科学講座 (千葉教授)、整形外科科学講座 (今給黎教授、堀田助手、鈴木助手、小山助手) 第二内科 (山科教授、大島助手) との共同実験であり、この場を借りて御礼申しあげます。また、実験遂行における教室員の協力にも感謝します。

Reference

- 1) Hainaut P, Soussi T, Shomer B, Hollstein M, Greenblatt M, Hovig E, Harris CC, Montesano R: Database of p53 gene somatic mutations in human tumors and cell lines: updated compilation and future prospects. *Nucleic Acids Res* **25**: 151-157, 1997
- 2) Locksley RM, Killeen N, Lenado MJ: The TNF and TNF receptor superfamilies: Integrating mammalian biology. *Cell* **104**: 487-501, 2001
- 3) Oshima K, Ibukiyama C, Yamashina A, Yanase N, Mizuguchi J: Involvement of TRAIL/TRAIL-R interaction in IFN- α -induced apoptosis of Daudi B lymphoma cells. *Cytokine* **14**: 193-201, 2001
- 4) Altucci L, Rossin A, Raffelsbrger W, Reitmair A, Chomienne C, Gronemeyer H: Retinoid acid-induced apoptosis in leukemia cells is mediated by paracrine action of tumor-selective death ligand TRAIL. *Nat Med* **7**: 680-686, 2001
- 5) Griffith TS, Lynch DH: TRAIL: a molecule with multiple receptors and control mechanisms. *Curr Opin Immunol* **10**: 559-563, 1998
- 6) Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, Leung S, Lawrence DA, Marsters SA, Blackie C, Chang L, McMurtry AE, Hebert A, DeForge L, Koumenis IL, Lewis D, Harris L, Bussiere J, Koeppen H, Shahrokhi Z, Schwall RH: Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J Clin Invest* **104**: 155-162, 1999
- 7) Daniel PT, Wieder T, Sturm I, Schulze-Osthoff K: The kiss of death: promises and failures of death receptors and ligands in cancer therapy. *Leukemia* **15**: 1022-1032, 2001
- 8) Scaffidi C, Fulda S, Srinivasan A, Friesen C, Li F, Tomaselli KJ, Debatin KM, Krammer PH, Peter ME: Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways. *EMBO J* **17**: 1675-1687, 1998
- 9) Hersey P, Zhang XD: How melanoma cells evade TRAIL-induced apoptosis. *Nature Reviews Cancer* **1**: 142-150, 2001
- 10) Walczak H, Bouchon A, Stahl H, Krammer PH: Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand retains its apoptosis-inducing capacity on Bcl-2- or Bcl-xL-overexpressing chemotherapy-resistant tumor cells. *Cancer Res* **60**: 3051-3057, 2000
- 11) Ng CP, Zisman A, Bonavida B: Synergy is achieved by complementation with Apo2L/TRAIL and actinomycin D in Apo2L/TRAIL-mediated apoptosis of prostate cancer cells: role of XIAP in resistance. *Prostate* **53**: 286-299, 2002
- 12) Hinz S, Trauzold A, Boenicke L, Sandberg C, Beckmann S, Bayer E, Walczak H, Kalthoff H, Ungefroren H: Bcl-XL protects pancreatic adenocarcinoma cells against CD95- and TRAIL-receptor-mediated apoptosis. *Oncogene* **19**: 5477-5486, 2000
- 13) Reed JC: Bcl-2 family proteins. *Oncogene* **17**: 3225-3236, 1998
- 14) Oltvai ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ: Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* **74**: 609-619, 1993
- 15) Brabec V, Kasparkova J: Molecular aspects of resistance to antitumor platinum drugs. *Drug Resistance Updates* **5**: 147-161, 2002
- 16) Osaki S, Nakanishi Y, Takayama K, Pei XH, Ueno H, Hara N: Alteration of drug chemosensitivity caused by the adenovirus-mediated transfer of the wild-type p53 gene in human lung cancer cells. *Cancer Gene Ther* **7**: 300-307, 2000
- 17) Kigawa J, Sato S, Shimada M, Takahashi M, Itamochi H, Kanamori Y, Terakawa N: p53 gene status and chemosensitivity in ovarian cancer. *Hum Cell* **14**: 165-171, 2001
- 18) Noutomi T, Chiba H, Ito M, Toyota H, Mizuguchi J: Bcl-xL confers multi-drug resistance in several squamous cell carcinoma cell lines. *Oral Oncol* **38**: 41-48, 2002
- 19) 鈴木秀和、堀田隆人、今給黎篤弘、矢那瀬紀子、水口純一郎: TRAIL 遺伝子導入レトロウィルスベクターによる抗腫瘍作用。日整会誌 **76**: S907, 2002
- 20) Itoh M, Noutomi T, Chiba H, Mizuguchi J: Bcl-xL antisense treatment sensitizes Bcl-xL-overexpressing squamous cell carcinoma cells to carboplatin. *Oral Oncol* **38**: 752-756, 2002
- 21) Hotta T, Suzuki H, Nagai S, Imakiire A, Takada E, Itoh M, Mizuguchi J: Chemotherapeutic agents sensitize sarcoma cell lines to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced caspase-8 activation, apoptosis and loss of mitochondrial membrane potential. *J Orthop Res* **21**: 949-957, 2003
- 22) Kataoka T, Budd RC, Holler N, Thome M, Mar-

- tinon F, Irmeler M, Burns K, Hahne M, Kennedy N, Kovacsovics M, Tschopp J: The caspase-8 inhibitor FLIP promotes activation of NF-kappaB and Erk signaling pathways. *Curr Biol* **10**: 640-648, 2000
- 23) Sheikh MS, Burns TF, Huang Y, Wu GS, Amundson S, Brooks KS, Fornace AJ Jr, el-Deiry WS: p53-dependent and -independent regulation of the death receptor KILLER/DR5 gene expression in response to genotoxic stress and tumor necrosis factor alpha. *Cancer Res* **58**: 1593-1598, 1998
- 24) Nagane M, Pan G, Weddle JJ, Dixit VM, Cavenee WK, Huang HJ: Increased death receptor 5 expression by chemotherapeutic agents in human gliomas causes synergistic cytotoxicity with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vitro and in vivo. *Cancer Res* **60**: 847-853, 2000
- 25) Grotzer MA, Eggert A, Zuzak TJ, Janss AJ, Marwaha S, Wiewrodt BR, Ikegaki N, Brodeur GM, Phillips PC: Resistance to TRAIL-induced apoptosis in primitive neuroectodermal brain tumor cells correlates with a loss of caspase-8 expression. *Oncogene* **19**: 4604-4610, 2000
- 26) Itoh M, Noutomi T, Toyota H, Mizuguchi J: Etoposide-mediated sensitization of squamous cell carcinoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced loss in mitochondrial membrane potential. *Oral Oncology* **39**: 269-276, 2003
- 27) Verma IM, Somia N: Gene therapy—promises, problems and prospects. *Nature* **389**: 239-242, 1997
- 28) Suzuki H, Hotta T, Koyama T, Komagata M, Imakiire A, Yanase N, Yoshimoto T, Mizuguchi J: Retrovirus-mediated transduction of TRAIL and chemotherapeutic agents co-operatively induce apoptotic cell death in both sarcoma and myeloma cells. *Anticancer Res* **23**: 3247-3253, 2003