

に1人と報告されている。日本人における頻度は100万人に1人であり、これから500人に1人がキャリアであると計算される。遺伝形式は常染色体劣性である。メラニン様またはリポフスチン様顆粒の肝細胞内沈着、黒色肝、BSP (sulfobromophthalein) の軽度停滞および再上昇、尿中のコプロポルフィリンアイソマー I 分画の顕著な増加がこの疾病に特徴的な臨床所見である。以上の臨床所見はいずれも、Dubin-Johnson 症候群では直接ビリルビンや他の有機アニオンの胆管への排泄が障害されていることを示している。すなわち、BSP は肝で抱合を受けたあと、この疾病の患者では胆管への排泄が障害されているので、血中へ移行し、このために遅延性に上昇が認められると解釈できる。また、コプロポルフィリンの2つの異性体のうち“Ⅰ”は主に胆汁中に、“Ⅱ”は尿中に排泄されるが、患者では“Ⅰ”の排泄経路が胆汁から尿へと変化するために尿中のアイソマー I 分画が上昇すると解釈できる。

## 2.2 Dubin-Johnson 症候群における *MRP2/cMOAT* 遺伝子変異の同定

① *MRP2/cMOAT* 遺伝子は肝臓の胆管側膜に特異的に発現していること (図7)、② *cMOAT* に近縁の *MRP* (図2) はグルタチオンおよびグルクロン酸抱合体を排出すること、③ ビリルビンはグルクロン酸抱合をうけて肝臓より排出されるが、その排出障害がDubin-Johnson 症候群の原因であると考えられていることより、*MRP2/cMOAT* 遺伝子がDubin-Johnson 症候群の責任遺伝子であると想定され、患者で変異を同定することが試みられた。その結果、6家系7人の患者から4種類の変異が同定され、*MRP2/cMOAT* 遺伝子がDubin-Johnson 症候群の責任遺伝子であることが明らかになった (図7)。現在までに明らかにされたDubin-Johnson 症候群の患者の*MRP2*の変異について図8にまとめた<sup>23), 35), 36)</sup>。

2302 (C → T) 変異は768番目のアルギニンがトリプトファンに変異したミスセンス変異で、7人中4人に見られた。この部位はABCファミリー遺伝子の間でよく保存されたATP結合領域のCモチーフ (active transport family signature と呼ばれる) に相当し、機能上重要であることが推察される。4145 (A → G) 変異はC端ATP結合領域の1,382番目グルタミンからアルギニンへのミスセンス変異で、同一の変異が嚢胞性繊維症の*CFTR* 遺伝子に見られることから、この変異が*MRP2/cMOAT* の機能を障害していることが予測され

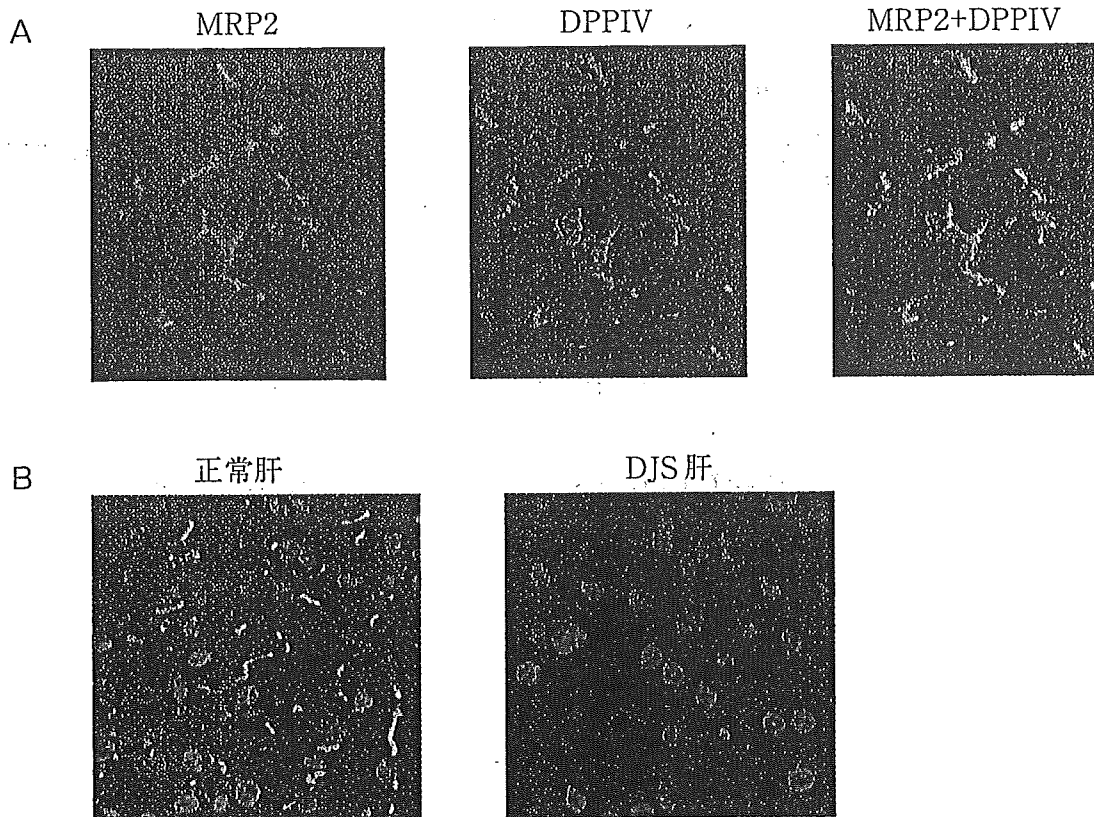


図7 正常肝での MRP2 の発現と Dubin-Johnson 症候群患者での欠損

(A)正常肝における MRP2/cMOAT 蛋白質の細胞内局在, 抗 MRP2 抗体 (緑色) と胆管側膜のマーカであるジペプチジル・ペプチダーゼに対する抗体 (DPPIV, 赤色) を用いた, 共焦点レーザー顕微鏡による間接免疫染色像を示す. MRP2+DPPIV は両者の合成像を示し, 緑色と赤色の合成による黄色を呈していることより, 両者の局在が一致することがわかる.

(B)Dubin-Johnson 症候群患者 (DJS) の肝. 左の正常肝に見られる緑色の MRP2 の発現が見られない.

る. 2つのスプライス部位変異 1815+2 (T → A) と 2439+2 (T → C) については, cDNA の解析から, 変異によりそれぞれエクソン 13 と 18 がスキップすることを明らかにされている. さらに家系の解析から, 変異の分離と発症が完全に一致することが示され, *MRP2/cMOAT* 遺伝子が Dubin-Johnson 症候群の責任遺伝子であることを遺伝学的に証明することができた. 興味深いことに, 同定されたすべての変異は ATP 結合領域とその近傍に集中している (図 8). PGY1/MDR1 の膜貫通ドメインの変異は基質特異性を変化させるが, トランスポート活性そのものは残ること, CFTR の場合も変異の 80% は ATP 結合領域に検出されいずれも重篤な症状を呈することなどからも, *MRP2/cMOAT* においても ATP 結合領域が生理機能に必須であり, 膜貫通ドメインは基質特異性

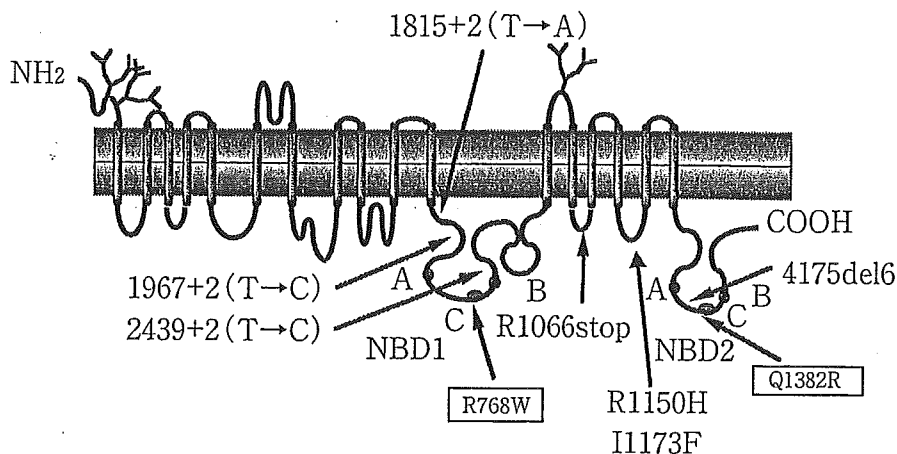
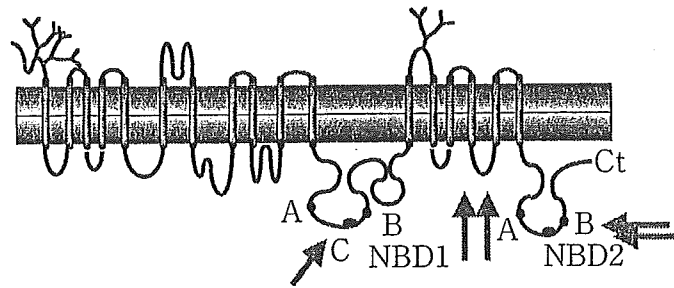


図8 Dubin-Johnson 症候群における *MRP2/cMOAT* 遺伝子の変異部位

に参与している可能性が考えられる。ただし、人工的な変異導入による解析から、グルタチオンメチルフルオレセインの排出には膜貫通領域6のK324、膜貫通領域9のK483、膜貫通領域16のR1210、膜貫通領域17のR1257が基質輸送に必須であること、膜貫通領域16のR1230がサイクロスポリンAの結合に必須であることが報告されており、膜貫通ドメインにも機能に必須な領域が存在することは間違いないであろう<sup>37)</sup>。他グループからの報告も合わせ、現在7種類の変異が同定されている(図8)。

### 2.3 *MRP2/cMOAT* 遺伝子変異と病態

*MRP2/cMOAT* 遺伝子変異と病態との関連が最近明らかにされつつある。患者の肝臓についての免疫染色や mRNA の解析から、変異により cMOAT 蛋白質や *MRP2/cMOAT* mRNA が不安定になると推察されている。R768W 変異により cMOAT 蛋白質は合成後の修飾、成熟過程が進行できないことから、このアルギニンが *MRP2/cMOAT* 成熟蛋白質の形成と三次元構造を維持するために必須の領域であることが示唆された。一方、最近明らかにされたサルモネラ HIS P 蛋白質の X 線構造解析の結果を cMOAT 蛋白質にあてはめると、Q1382R 変異はちょうど ATP 分子の g 位と相互作用することが予測されている位置に相当する。このことから Q1382R 変異により *MRP2/cMOAT* 蛋白質の加水分解能が低下していることが推測され、実際にバナジン酸を用いた vanadate induced nucleotide trapping assay により、Q1382R 変異体では加水分解活性の上昇が観察されないことが示された(図9, 10)<sup>38)</sup>。



D/J 変異	部位	成熟	輸送活性
R768W	NBD1 C モチーフ	欠損	
R1150H	MSD3	OK	欠損
I1173F	MSD3	欠損	
Q1382R	NBD2C モチーフ	OK	欠損 (ATP の加水分解)
4175del6	NBD2C モチーフ	欠損	

図 9 Dubin-Johnson 症候群の変異と機能障害の病因

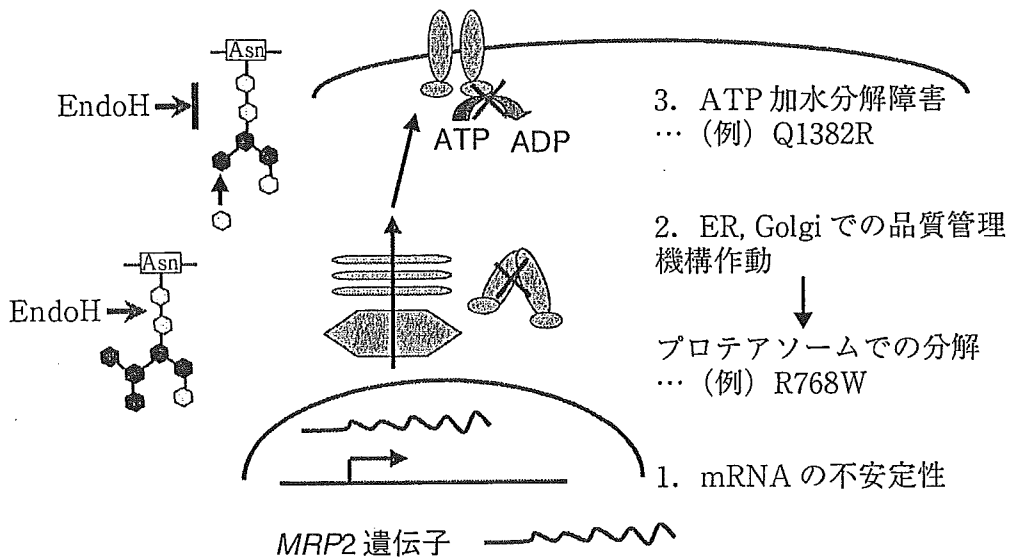


図 10 MRP2 遺伝子変異と機能障害

前述のように、Dubin-Johnson 症候群では血中の抱合型ビリルビン量が増加しているわけであるが、抱合は肝細胞内で行われていると考えられる。すなわち、Dubin-Johnson 症候群では cMOAT 蛋白質の機能欠損により、抱合型ビリルビンが胆管側に排出されずに血中（類洞側，図 6）に逆輸送されると考えられるので、抱合型ビリルビンを類洞側に輸送するトランスポーターが想定される。抱合型ビリルビンを基質にできること，類洞側に局在すること，胆汁うっ

滞により発現亢進されることなどから、MRP サブファミリーの MRP3 がこの輸送を担っていると考えられる<sup>39)</sup>。

患者家族の遺伝子解析の結果から、もう一つ重要な点が推測される。すなわち、片方のアレルのみが変異したヘテロ接合型を示す場合には、ビリルビン値は正常であるが、尿中コプロポルフィリン I 分画の中度の増加が認められる(表 2)。このことは、基質によっては片方のアレルの変異のみで排出に影響を及ぼしうることを示唆している。この結果は、*MRP2/cMOAT* 遺伝子が薬物への感受性の個人差や体内動態に関与しうる因子として、今後さらに解明されるべきであることを示している。

### 3. 胆汁酸の腸肝循環と MRP3

#### 3.1 腸肝循環

腸肝循環は、胆汁酸およびコレステロールの生体内恒常性の維持において重要な役割を担っている。腸管腔内に存在する胆汁酸は、腸管細胞の腸管腔側に発現している胆汁酸輸送体 (ileal bile acid transporter) によって腸管細胞内に取り込まれることが報告されているが、取り込まれた腸管細胞内の胆汁酸がいかんして細胞の基底側膜を介し血中へと排泄され、循環するかについては、詳細は不明である。腸管細胞の基底側膜には、ABC トランスポーターの一つである MRP3 蛋白質が発現しており、胆汁酸を基質として細胞内から細胞外へと輸送する機能を有しているとの報告がなされている。MRP3 が腸管細胞内の胆汁酸によりその発現を誘導され、胆汁酸を循環血中へと排出する役割を通して腸肝循環に関与していると考えられている。ここでは、MRP3 の胆汁酸に対する発現応答と転写制御について概説する。

#### 3.2 胆汁酸における MRP3 遺伝子の発現調節

胆汁酸は肝細胞においてコレステロールから合成され、肝細胞から胆管を経て腸管腔内へ排泄され、その 90% 以上が腸管上皮を通して再吸収され、門脈血を経て肝臓へと戻る。この腸肝循環は胆汁酸およびコレステロールの生体内恒常性の維持に重要な役割を担っている<sup>40)~44)</sup>。肝臓における胆汁酸合成系では、胆汁酸は自身のコレステロールからの生合成を負に制御している。胆汁酸合成

経路における律速酵素である CYP7A1 は、胆汁酸と特異的に結合する核内レセプターであるファルネソイド X レセプター (FXR) を介した転写レベルでの発現制御を受けている<sup>45), 46)</sup>。また, CYP7A1 遺伝子の転写は, 胆汁酸と結合した FXR により発現調節を受ける核内レセプター small heterodimer partner (SHP) と  $\alpha$ -1 fetoprotein transcription factor (FTF) によっても負に制御されている<sup>47)</sup>。

胆汁酸の吸収/排泄系では, 肝臓および腸に発現している数種のトランスポーターが胆汁酸輸送によって腸肝循環に関与している。肝細胞の基底側膜に発現しているトランスポーター NTCP により, 門脈血中の胆汁酸は肝細胞内に取り込まれ, 胆管側膜に発現しているトランスポーター BSEP によって, 細胞内胆汁酸は胆管内へと排泄される。MRP2 は, 肝細胞の胆管側膜に発現しており, 胆汁酸の胆管内への排泄に関与している。一方, 腸管では, 腸管腔内の胆汁酸は腸管上皮細胞の腸管腔側に発現している IBAT (ileal bile acid transporter) によって腸管上皮細胞内へと再吸収される。再吸収された細胞内胆汁酸は, FXR と結合し, 細胞質に存在し, 胆汁酸の細胞内輸送に働くとされている ileal bile acid-binding protein (IBABP) の遺伝子発現を亢進させることが明らかにされてきた<sup>48)</sup>。しかし, 腸管細胞内の胆汁酸が, いかにして細胞の基

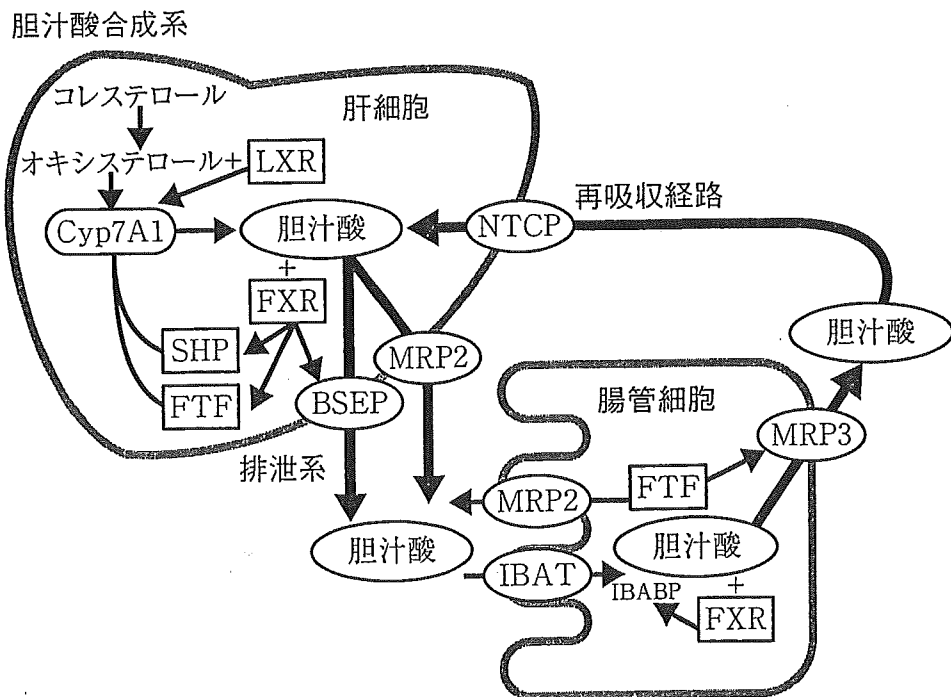


図 11 胆汁酸の腸肝循環における MRP3 の予想される役割

底側膜を介して血中へと排泄されるのかについては、詳細は不明である。

MRP3 が胆汁酸や  $17\beta$ -エストラジオール、および数種類の抗がん剤を基質として輸送することが報告されている。MRP1 と MDR1 が肝細胞において高発現しているのに対し、腸管細胞においては MRP1, MDR1, および BSEP の発現は非常に低いか、ほとんど発現していない。一方、MRP3 の発現は、ヒトおよびラットの腸管細胞の基底側膜に発現しており、このことは MRP3 が腸における有機アニオンの輸送に関与することを示唆している。MRP3 は胆汁酸を基質とすること、および腸管細胞の基底側膜に発現していることから、MRP3 が胆汁酸を腸管細胞内から循環血流へと輸送し、胆汁酸の細胞内蓄積を防ぐ役割を担うとともに、胆汁酸の腸肝循環に関与することが予想される。さらに、胆汁酸により、腸管上皮細胞の管腔側膜に発現する IBAT の発現が誘導される。最近、腸管細胞において MRP3 mRNA 発現が胆汁酸に応答して上昇することが観察され MRP3 プロモーター上の FTF 認識配列を含む領域がその制御に重要であることが示された。MRP3 の発現が胆汁酸によって転写レベルで正の制御を受け、腸管からの胆汁酸排泄において腸肝循環に関与し、胆汁酸の生体内恒常性維持を担うことが示唆された (図 11)<sup>49)</sup>。

### 3.3 FTF ( $\alpha$ -1 fetoprotein transcription factor)

ヒト大腸細胞株に胆汁酸の一つであるケノデオキシコール酸を処理すると、MRP3 mRNA の発現が上昇する。プロモーター上の翻訳開始点より上流 -229 bp から -138 bp の領域に胆汁酸応答領域があり、同領域には、核内オーファンレセプターの一つであり、肝臓において胆汁酸生合成系の律速酵素の発現制御を担うとされている転写因子 FTF ( $\alpha$ -1 fetoprotein transcription factor) の認識配列が存在していた。これは、FTF が肝における胆汁酸合成制御に関わる一方、腸管での胆汁酸に対する MRP3 発現の制御に関わることを示し、また胆汁酸に対して MRP3 の発現が亢進し、胆汁酸を腸管から血中へ排泄することで、胆汁酸の腸肝循環に関与する可能性が示唆された。

FTF はオーファンレセプターの一つである Ftz-F1 ファミリーの構成員であり、肝臓、膵臓、および腸管において発現が認められ、肝細胞内では胆汁酸生合成系の制御に関わることを報告されている。胆汁酸合成経路における律速酵素である *CYP7A1* 遺伝子の胆汁酸による負の制御は、胆汁酸と結合した胆汁酸

レセプターである FXR によって発現が誘導される核内レセプター small heterodimer partner (SHP) と FTF とが *CYP7A1* 遺伝子の転写に作用することによってなされている。さらに、FTF は同じく胆汁酸合成経路における律速酵素である  $12\alpha$  水酸化酵素遺伝子の発現をも制御することが明らかにされた。これらのことから、FTF が胆汁酸およびコレステロール代謝の恒常性維持において重要な役割を担っていることがわかる<sup>50)~52)</sup>。

### 3.4 核内レセプターと胆汁酸代謝制御

近年、胆汁酸およびコレステロールの代謝の制御に、いくつかの核内レセプターが関与することが明らかになった。オキシステロールを処理したマクロファージにおいて、核内レセプターである LXR を介した、コレステロールおよびリン脂質の輸送体 ABCA1 の発現の著明な上昇が認められている。核内レセプター LXR および FXR が RXR とヘテロダイマーを形成し、*ABCA1* と *CYP7A1* 遺伝子の発現を制御し、コレステロールの生体内恒常性維持に関与していることを報告している<sup>53)</sup>。肝細胞において、胆汁酸は自身の合成に対して負の制御を行うこと、胆汁酸の腸肝循環を阻害するとコレステロールおよび胆汁酸の合成が亢進すること、FTF を含む核内レセプターがその制御に関与することは、胆汁酸によって誘導される *MRP3* 転写制御が FTF を介して行われている可能性を支持するものと思われる。近年、肝細胞における FTF 発現が胆汁酸により活性化した FXR によって誘導され、標的遺伝子の発現制御をしていることが報告された<sup>54)</sup>。腸管細胞における FTF 遺伝子の胆汁酸による発現変化も、肝細胞と同様の制御を受けているかもしれない。

### 文 献

- 1) 内海 健, 和田守正, 桑野信彦: 血液・免疫・腫瘍, 3, 117 (1998).
- 2) W. T. Beck: *Biochem. Pharmacol.*, 36, 2879 (1987).
- 3) A. Sparreboom, R. Danesi, Y. Ando, J. Chan & W. D. Figg: *Drug Resist. Updat.*, 6, 71 (2003).
- 4) M. Dean: "The Human ATP-binding Cassette (ABC) Transporter Super Family", NCBI Monographs, National Library of Medicine, Bethesda, MD, USA (2002).
- 5) M. F. Fromm: *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54, 1295 (2002).
- 6) J. H. Lin & M. Yamazaki: *Clin. Pharmacokinet.*, 42, 59 (2003).
- 7) A. H. Schinkel, U. Mayer, E. Wagenaar, C. A. Mol, L. van Deemter, J. J. Smit, M. A. van der Valk, A. C. Voordouw, H. Spits, O. van Tellingen, J. M. Zijlmans, W. E. Fibbe



- & P. Borst : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 4028 (1997).
- 8) J. W. Jonker, M. Buitelaar, E. Wagenaar, M. A. Van Der Valk, G. L. Scheffer, R. J. Scheper, T. Plosch, F. Kuipers, R. P. Elferink, H. Rosing, J. H. Beijnen & A. H. Schinkel : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 15649 (2002).
  - 9) P. Borst, R. Evers, M. Kool & J. Wijnholds : *J. Natl. Cancer Inst.*, **92**, 1295 (2000).
  - 10) M. M. Gottesman, T. Fojo & S. E. Bates : *Nature Rev. Cancer*, **2**, 48 (2002).
  - 11) C. J. Chen, J. E. Chin, K. Ueda, D. P. Clark, I. Pastan, M. M. Gottesman & I. B. Roninson : *Cell*, **47**, 381 (1986).
  - 12) S. V. Ambudkar, S. Dey, C. A. Hrycyna, M. Ramachandra, I. Pastan & M. M. Gottesman : *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **39**, 361 (1999).
  - 13) J. H. Schellens, M. M. Malingre, C. M. Kruijtzter, H. A. Bardelmeijer, O. van Tellingen, A. H. Schinkel & J. H. Beijnen : *Eur. J. Pharm. Sci.*, **12**, 103 (2000).
  - 14) P. M. Chaudhary & I. B. Roninson : *Cell*, **66**, 85 (1991).
  - 15) S. P. Cole, G. Bhardwaj, J. H. Gerlach, J. E. Mackie, C. E. Grant, K.C. Almquist, A.J. Stewart, E. U. Kurz, A. M. Duncan & R. G. Deeley : *Science*, **258**, 1650 (1992).
  - 16) S. P. Cole & R. G. Deeley : *Bioessays*, **20**, 931 (1998).
  - 17) J. Wijnholds, R. Evers, M. R. van Leusden, C. A. Mol, G. J. Zaman, U. Mayer, J. H. Beijnen, M. van der Valk, P. Krimpenfort & P. Borst : *Nature Med.*, **3**, 1275 (1997).
  - 18) J. Wijnholds, E. C. deLange, G. L. Scheffer, D. J. van den Berg, C. A. Mol, M. van der Valk, A. H. Schinkel, R. J. Scheper, D. D. Breimer & P. Borst : *J. Clin. Invest.*, **105**, 279 (2000).
  - 19) D. W. Loe, R. G. Deeley & S. P. Cole : *Eur. J. Cancer*, **32A**, 945 (1996).
  - 20) K. Taniguchi, M. Wada, K. Kohno, T. Nakamura, T. Kawabe, M. Kawakami, K. Kagotani, K. Okumura, S. Akiyama & M. Kuwano : *Cancer Res.*, **56**, 4124 (1996).
  - 21) C. C. Paulusma, P. J. Bosma, G. J. Zaman, C. T. Bakker, M. Otter, G. L. Scheffer, R.J. Scheper, P. Borst & R.P. Oude Elferink : *Science*, **271**, 1126 (1996).
  - 22) T. Kawabe, Z. S. Chen, M. Wada, T. Uchiumi, M. Ono, S. Akiyama & M. Kuwano : *FEBS Lett.*, **456**, 327 (1999).
  - 23) M. Wada, S. Toh, K. Taniguchi, T. Nakamura, T. Uchiumi, K. Kohno, I. Yoshida, A. Kimura, S. Sakisaka, Y. Adachi & M. Kuwano : *Hum. Mol. Genet.*, **7**, 203 (1998).
  - 24) T. Uchiumi, E. Hinoshita, S. Haga, T. Nakamura, T. Tanaka, S. Toh, M. Furukawa, T. Kawabe, M. Wada, K. Kagotani, K. Okumura, K. Kohno, S. Akiyama & M. Kuwano : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **252**, 103 (1998).
  - 25) S. Haga, E. Hinoshita, K. Ikezaki, M. Fukui, G.L. Scheffer, T. Uchiumi & M. Kuwano : *Jpn. J. Cancer Res.*, **92**, 211 (2001).
  - 26) S. E. Bates, R. Robey, K. Miyake, K. Rao, D. D. Ross & T. Litman : *J. Bioenerg. Biomembr.*, **33**, 503 (2001).
  - 27) J. D. Allen & A. H. Schinkel : *Mol. Cancer Ther.*, **1**, 427 (2002).
  - 28) J. D. Allen, R. F. Brinkhuis, L. van Deemter, J. Wijnholds & A. H. Schinkel : *Cancer Res.*, **60**, 5761 (2000).
  - 29) S. Childs, R. L. Yeh, D. Hui & V. Ling : *Cancer Res.*, **58**, 4160 (1998).
  - 30) J. M. de Vree, E. Jacquemin, E. Sturm, D. Cresteil, P. J. Bosma, J. Aten, J. F. Deleuze, M. Desrochers, M. Burdelski, O. Bernard, R.P. Oude Elferink & M. Hadchouel : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 282 (1998).
  - 31) A. van Helvoort, A. J. Smith, H. Sprong, I. Fritzsche, A. H. Schinkel, P. Borst & G.

- van Meer : *Cell*, 87, 507 (1996).
- 32) Y. Tada, M. Wada, T. Migita, J. Nagayama, E. Hinoshita, Y. Mochida, Y. Maehara, M. Tsuneyoshi, M. Kuwano & S. Naito : *Int. J. Cancer*, 98, 630 (2002).
  - 33) M. Kuwano, T. Uchiumi, H. Hayakawa, M. Ono, M. Wada, H. Izumi & K. Kohno : *Cancer Sci.*, 94, 9 (2003).
  - 34) E. Hinoshita, K. Taguchi, A. Inokuchi, T. Uchiumi, N. Kinukawa, M. Shimada, M. Tsuneyoshi, K. Sugimachi & M. Kuwano : *J. Hepatol.*, 35, 765 (2001).
  - 35) S. Toh, M. Wada, T. Uchiumi, M. Inokuchi, Y. Makino, Y. Horie, Y. Adachi, S. Saki-saka & M. Kuwano : *Am. J. Hum. Genet.*, 64, 739 (1999).
  - 36) H. Tsujii, J. Konig, D. Rost, B. Stockel, U. Leuschner & D. Keppler : *Gastroenterology*, 117, 653 (1999).
  - 37) S. Ryu, T. Kawabe, S. Nada & A. Yamaguchi : *J. Biol. Chem.*, 275, 39617 (2000).
  - 38) K. Hashimoto, T. Uchiumi, T. Konno, T. Ebihara, T. Nakamura, M. Wada, S. Saki-saka, F. Maniwa, T. Amachi, K. Ueda & M. Kuwano : *Hepatology*, 36, 1236 (2002).
  - 39) P. Borst, R. Evers, M. Kool & J. Wijnholds : *Biochim. Biophys. Acta*, 1461, 347 (1999).
  - 40) T. Gerloff, B. Stieger, B. Hagenbuch, J. Madon, L. Landmann, J. Roth, A.F. Hofmann & P. J. Meier : *J. Biol. Chem.*, 273, 10046 (1998).
  - 41) D.W. Russell & K.D. Setchell : *Biochemistry*, 31, 4737 (1992).
  - 42) A. Chawla, E. Saez & R.M. Evans : *Cell*, 103, 1 (2000).
  - 43) C. J. Sinal, M. Tohkin, M. Miyata, J. M. Ward, G. Lambert, & F. J. Gonzalez : *Cell*, 102, 731 (2000).
  - 44) R. J. Bahar & A. Stolz : *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 28, 27 (1999).
  - 45) M. Makishima, A. Y. Okamoto, J. J. Repa, H. Tu, R. M. Learned, A. Luk, M. V. Hull, K. D. Lustig, D. J. Mangelsdorf & B. Shan : *Science*, 284, 1362 (1999).
  - 46) D. J. Parks, S. G. Blanchard, R. K. Bledsoe, G. Chandra, T. G. Consler, S. A. Kliewer, J. B. Stimmel, T. M. Willson, A. M. Zavacki, D. D. Moore & J. M. Lehmann : *Science*, 284, 1365 (1999).
  - 47) M. Nitta, S. Ku, C. Brown, A. Y. Okamoto & B. Shan : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 6660 (1999).
  - 48) A. L. Craddock, M. W. Love, R. W. Daniel, L. C. Kirby, H. C. Walters, M. H. Wong & P. A. Dawson : *Am. J. Physiol.*, 274, G157 (1998).
  - 49) A. Inokuchi, E. Hinoshita, Y. Iwamoto, K. Kohno, M. Kuwano & T. Uchiumi : *J. Biol. Chem.*, 276, 46822 (2001).
  - 50) T. T. Lu, M. Makishima, J. J. Repa, K. Schoonjans, T.A. Kerr, J. Auwerx & D. J. Mangelsdorf : *Mol. Cell*, 6, 507 (2000).
  - 51) B. Goodwin, S. A. Jones, R. R. Price, M. A. Watson, D. D. McKee, L. B. Moore, C. Gallardi, J. G. Wilson, M. C. Lewis, M. E. Roth, P. R. Maloney, T. M. Willson & S. A. Kliewer : *Mol. Cell*, 6, 517 (2000).
  - 52) A. del Castillo-Olivares & G. Gil : *Nucleic Acids Res.*, 28, 3587 (2000).
  - 53) A. Venkateswaran, B. A. Laffitte, S. B. Joseph, P. A. Mak, D. C. Wilpitz, P. A. Edwards & P. Tontonoz : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 12097 (2000).
  - 54) W. Chen, E. Owsley, Y. Yang, D. Stroup & J. Y. Chiang : *J. Lipid Res.*, 42, 1402 (2001).

## 分子標的療法

### 4) がん血管新生を標的とする薬剤

がん血管新生の機序についてFolkman博士らをはじめとして多くの研究者の努力によって明らかにされてきた<sup>1)</sup>。さらに、近年リンパ管新生機序の研究についてもAlitalo博士やAchen博士らを中心に飛躍的に進んできている<sup>2)</sup>。がんの浸潤や転移の治療戦略を進めていくうえで血管新生だけでなくリンパ管新生の機序を把握し、がんの間質を特徴づける分子的背景を考慮していくことはきわめて大切である。血管新生は血管内皮の前駆細胞の単離と血管構築や動静脈の分化・発生などが最近のトピックスである。がんで誘導される血管新生は、がんから産生される血管新生因子だけでなく、間質に浸潤してきた炎症細胞をはじめとした各種細胞から産生される因子によって制御されている。がんにおける血管新生はがんの増大やがん細胞の浸潤や転移のみならず、がん化(トランスフォーメーション)の過程にも関与していると考えられている。したがって、がん血管新生を標的とした治療薬の開発研究は大きな期待とともに進められてきた<sup>3)~5)</sup>。表1に血管新生を標的とするいくつかの薬剤を列挙している。そのなかから最近注目されるいくつかの薬剤について述べる。がん血管新生を標的とする薬剤の開発はがん細胞自身でなく、がんの間質に誘導される新生血管に標的をしばっていることが特徴である。すなわち新生血管の内皮細胞だけでなく、がんの間質を構成する細胞外マトリックスや炎症や免疫応答で浸潤してくるさまざまなタイプの細胞を標的とするわけである。

#### (1) VEGFを標的とする薬剤

VEGFはそのレセプターを介して血管新生のみならずリンパ管新生へ関与している。そのなかでVEGFに対する抗体Avastinが2003年の進行性の大腸がんの効果

を示したというアメリカ臨床腫瘍学会(ASCO)での発表は注目に値する。2004年のASCOでも大腸がん以外にほかのがんに対しての臨床応用が始まっていることが報告された。HurvitzらのASCOでの発表は、VEGFに対するヒト型抗体薬ベバジズマブBevacizumab(Avastin™)とIrinotecan, 5FUとLeucovorin(IFL)との併用で5カ月近い延命効果を示した。VEGFの抗体が血管新生阻害を介して治療効果を示す可能性は血管新生阻害剤の開発にたずさわる研究者たちにも勇気を与えている。今後、血管新生やリンパ管新生と関連するVEGFファミリーは重要な分子標的となる可能性を示唆している。

#### (2) シクロオキシゲナーゼを標的とする薬剤

Virchow博士は、約150年前にがんと炎症についてはじめて言及した。がんにおける間質反応は、血管新生を含む炎症反応のひとつとしてとらえることもできる。がんの間質に浸潤してくる細胞のなかでマクロファージが近年注目されている。マクロファージのがんにおける浸潤は多くのがんでの予後と密接に関連している(表2)<sup>6)7)</sup>。さらに、炎症性サイトカインによって誘導される血管新生にはマクロファージやがん細胞などから産生される血管新生因子のみならずシクロオキシゲナーゼ(COX)によって産生されるプロスタノイドが関与していることが示唆されている。近年がんの血管新生と深く関連するマクロファージを腫瘍関連マクロファージ(TAM)とよんでいる。がん細胞だけでなく、TAMをはじめとする血管新生に関連する間質細胞の出現や機能をおさえることも重要なアプローチと考えられる<sup>8)~10)</sup>。

COXはアラキドン酸カスケードにおける重要な律速酵素であり、COX1とCOX2の二つが知られている。COX1は正常細胞でも普遍的に発現しているが、COX2は炎症性サイトカイン、その他の外的刺激によって誘

表1 臨床試験が進められている血管新生を阻害する分子標的薬剤

薬剤	薬剤タイプ	分子標的	機序
PTK787	低分子	VEGF-R1/2/3 <sup>a)</sup>	チロシンキナーゼ
SU6668	低分子	VEGF-R2	チロシンキナーゼ
		PDGF-R $\beta$	
SU11248	低分子	VEGF-R2	チロシンキナーゼ
		PDGF-R $\beta$	
AZD6474	低分子	VEGF-R2	チロシンキナーゼ
AZD2171	低分子	VEGF-R3	チロシンキナーゼ
CEP-7055	低分子	VEGF-R1/2/3	チロシンキナーゼ
CP-547,662	低分子	VEGF-R2	チロシンキナーゼ
786034	低分子	VEGF-R2	チロシンキナーゼ
IMC-1C11	抗体	VEGF-R2	拮抗作用
Angiozyme	リボザイム	VEGF-R1	mRAN切断
Avastin	抗体	VEGF	拮抗作用
VEGF-Trap	可溶性VEGF-R	VEGF	拮抗作用
Vitaxin	抗体	$\alpha_v\beta_3$ -Integrin	拮抗作用
EMD121974	抗体低分子	$\alpha_v\beta_3$ -integrin	拮抗作用

a) VEGF-R1/2/3 : VEGFレセプター1型, 2型, 3型 (Marmé, D. : J. Cancer Res. Clin. Oncol. 129; 607-620, 2003)より引用・改変

表2 マクロファージ浸潤とがんの予後

予後との関連	がん
良好な予後 :	胃がん, 前立腺がん
悪い予後 :	乳がん, 前立腺がん, 子宮がん, 肺がん 膀胱がん, グリオーマ, メラノーマ
無関係 :	卵巣がん

導されることが特徴である。炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ ) によって誘導される血管新生をCOX2阻害剤が特異的に阻害することが報告されている (図1A)。IL-1 $\beta$ による血管新生にCOX2が関与するモデルを図1Bに示している<sup>11)</sup>。

COX2阻害薬の臨床応用は慢性炎症性疾患が主な対象疾病である。しかし悪性腫瘍の中でCOX2発現が顕著ながんが存在することやプロスタノイドに血管新生効果を認めることから、COX2阻害薬のがん治療への応用も大切な今後の研究課題である。

### (3) 分子標的薬剤と血管新生の阻害作用

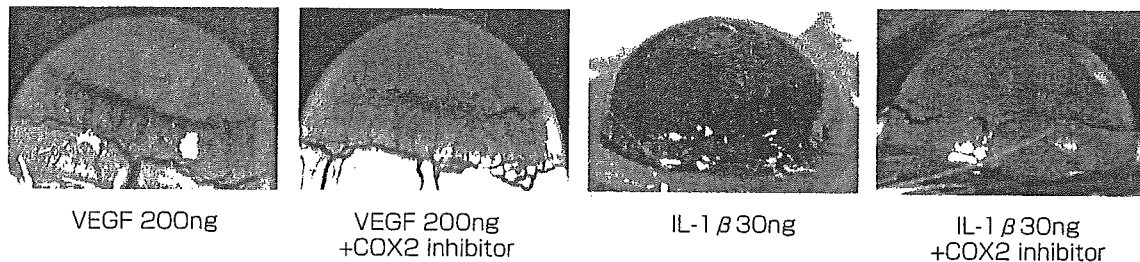
最近の大きなトピックスはEGFレセプターを標的とするイレッサ (ゲフィチニブ), HER2を標的とするハーセプチン, Bcr-Ablを標的とするイマニチブ (グリベック) やCD20を標的とするリツキシマブ (リツキサン) などの分子標的薬剤の登場である<sup>12) 13)</sup>。EGFレセ

プターを標的とするゲフィチニブに血管新生阻害作用があることが報告されている (図2)。その機序として、がん細胞や間質細胞においてEGFやTGF $\alpha$ によって誘導されるVEGF, IL-8やプロテアーゼなどの血管新生因子の生産亢進を阻害することのほかに、内皮に発現するEGFレセプターを介した血管新生シグナルそのものに対する阻害も関与していることが報告されている<sup>14) 15)</sup>。その他の分子標的薬剤についてもがんとその間質におけるネットワークにおいて血管新生のシグナルに影響を与えて直接的また間接的ながんの血管新生に影響を与える可能性も十分期待される。

### (4) 血管新生阻害薬開発のこれから

肺がん, 前立腺がん, 大腸がんなどを対象に血管新生阻害薬の臨床試験が進められている (表1)<sup>16)</sup>。これまでMMP阻害薬をはじめ、VEGF受容体阻害薬やフマジリン誘導体, インテグリンやVEGF抗体, 血管新生阻害ペプチド (アンジオスタチンやエンドスタチン) など多くの血管新生阻害薬の前臨床および臨床試験が行われた。期待に反して臨床効果のある血管新生阻害薬の効果はなかった。しかし、VEGF抗体の場合にみられるように、がんの間質の応答を把握することによってがんの血管新生の機序からみた新しい分子標的の登場と有効な血管新生の阻害薬の開発への努力に大きな期待をしたい<sup>8)</sup>。

(A) IL-1 $\beta$ は血管新生を維持し, COX2の阻害剤で抑制される



(B) 炎症性サイトカインIL-1 $\beta$ によって誘導される血管新生とCOX2と血管新生因子の発現

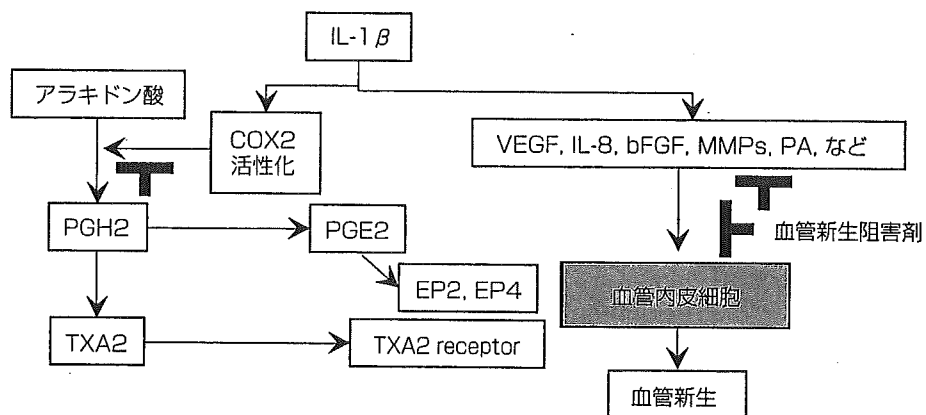
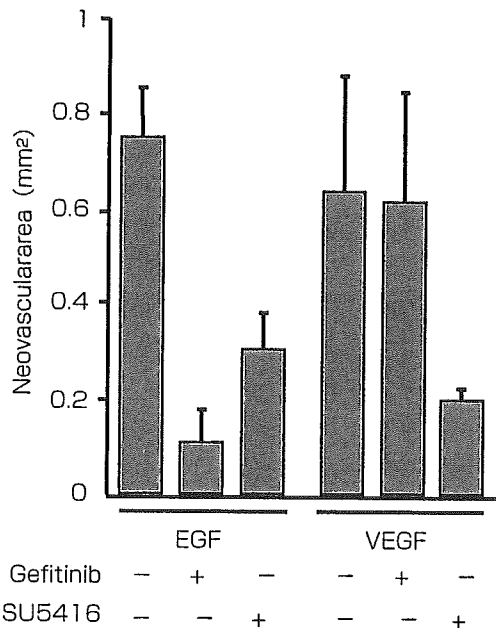
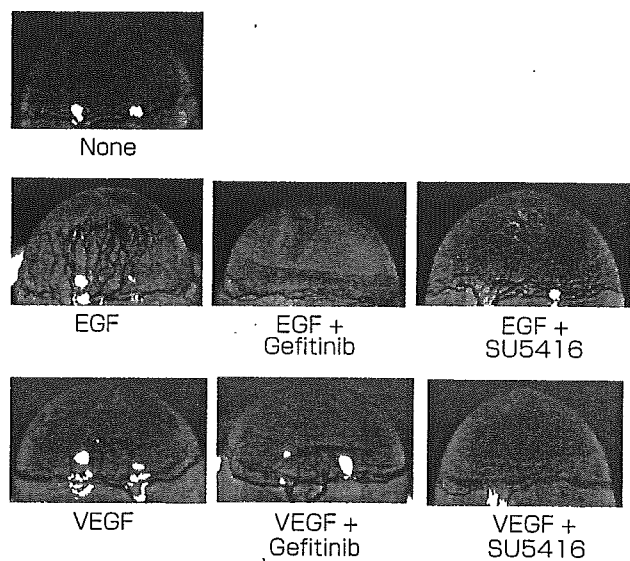


図1 炎症性サイトカインによる血管新生とCOX2の関与

Corneal micropocket assay in mice



SU5416 : VEGFR (KDR / Flk-1) チロシンキナーゼ阻害剤

図2 in vivoにおいて gefitinibは, マウス角膜法でのEGF誘導による血管新生を抑制したが VEGF誘導による血管新生は抑制しなかった.

- 1) Hanahan D, Folkman J : Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 86 : 353-364, 1996.
- 2) Baldwin ME, Stacker SA, Achen MG : Molecular control of lymphangiogenesis. *Bioessays* 24 : 1030-1040, 2002.
- 3) 小野真弓, 桑野信彦 : 抗血管新生と療法の現状. 血管新生研究の新しい展開 (佐藤靖史編). 医学のあゆみ (別冊) : 817-823, 2002.
- 4) 三島麻衣, 丸山祐一郎, 桑野隆史, ほか : 消化器がんの分子標的治療 : 59-72, 2004.
- 5) 藤井輝彦, 山名秀明, 桑野信彦 : 血管新生阻害薬. 胃がんの治療 19 : 980-987, 2004.
- 6) Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, et al : Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res* 56 : 4625-4629, 1996.
- 7) Toi M, Ueno T, Matsumoto H, et al : Significance of thymidine phosphorylase as a marker of protumor monocytes in breast cancer. *Clin Cancer Res* 5 : 1131-1137, 1999.
- 8) Kuwano M, Basaki Y, Kuwano T, et al : The critical role of Inflammatory cell infiltration in tumor angiogenesis-a target for antitumor drug development? *Progress in Angiogenesis Research*, N. Y. in press, Nova Science Publishers, Inc., 2005.
- 9) Coussens LM, Werb Z : Inflammation and cancer. *Nature* 420 : 860-867, 2002.
- 10) Pollard JW : Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nat Rev Cancer* 4 : 71-78, 2004.
- 11) Kuwano T, Nakao S, Yamamoto H, et al : Cyclooxygenase 2 is a key enzyme for inflammatory cytokine-induced angiogenesis. *FASEB J* 18 : 300-310, 2004.
- 12) 桑野信彦, 藤井輝彦, 小野真弓, ほか : 分子標的治療の現状と将来への展望. *日本臨牀* : 1211-1215, 2004.
- 13) 桑野信彦, 小野真弓, 内海 健, ほか : がんの分子標的治療法. *Medico* : 125-130, 2002.
- 14) Hirata A, Ogawa S, Kometani T, et al : ZD1839 (Iressa) induces antiangiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res* 62 : 2554-2560, 2002.
- 15) Hirata A, Uehara H, Izumi K, et al : Direct inhibition of EGF receptor activation in vascular endothelial cells by gefitinib ('Iressa', ZD1839). *Cancer Science* 95 : 1-5, 2004.
- 16) Marmé D : The impact of anti-angiogenic agents on cancer therapy. *J Cancer Res Clin* 129 : 607-620, 2003.

*The Authors*

久留米大学 桑野 信彦  
九州大学大学院 小野 真弓

## 6. 分子標的治療

桑野 信彦<sup>\*1</sup> 細井 文仁<sup>\*2</sup>  
 大家 真治<sup>\*2</sup> 小野 眞弓<sup>\*3</sup>

### ▶▶▶ はじめに

癌分子標的剤は新しい治療薬開発のコンセプトを基盤にして登場し、癌治療戦略を魅力的にしている。癌における分子標的治療薬のなかには臨床応用が進められているものから、現在その有用性の基礎研究や臨床試験が進行中のものまである。癌の悪性形質の獲得へ関与することが期待される分子標的を探索するために、癌のシグナル伝達系、細胞周期、細胞死、浸潤、転移、血管/リンパ管新生や免疫応答などに関する分子生物学的研究が進められてきた。分子標的の探索研究のなかで、期待する分子が確かに癌に特異性が高く、その機能を発現しているか否かを明らかにし、創薬の標的となるか否かを絞っていくために多くの分子生物学技術の進歩と導入は極めて有用である<sup>1)2)</sup>。現在臨床応用されている代表的な分子標的薬剤を表16に示している。

### ▶▶▶ I. 臨床応用されている分子標的薬剤

1. リンパ腫に対するモノクローナル薬剤ーリツキシマブ Rituximab (Rituxan)  
 Rituximab は、B細胞の膜表層のCD20抗原に結合するモノクローナル抗体として開発さ

表 16 臨床応用されている分子標的薬剤

薬品名 (商品名)	標的	適用癌種
ゲフィチニブ (イレッサ)	EGFレセプター	手術不能または再発非小細胞肺癌
イマチニブ (グリベック)	Bcr - Abl	慢性骨髄性白血病/Gastrointestinal stromatumor (GIST)
リツキシマブ (リツキサン)	CD20	低悪性度または濾胞性B細胞性非ホジキンリンパ腫
トラスツズマブ (ハーセプチン)	ErbB2/HER2	転移性乳癌
ベパンツマブ (アバスタン)	VEGF	進行性大腸 直腸癌 肺癌、膵癌、腎癌など

久留米大学先端癌治療研究センター \*1 教授, 所長 \*2 九州大学コラボレーションII  
 \*3 九州大学大学院医学研究院医化学講座 講師 / 久留米大学先端癌治療研究センター 客員教授

れた。CD20 抗原に依存する B-細胞由来リンパ腫細胞の増殖はこの抗体によって特異的に阻害され、さらに *in vitro* 系で補体依存性の細胞毒性や細胞死を誘導することが知られている。再発また治療抵抗性低分化濾胞性 CD20 陽性 B-細胞非ホジキンリンパ腫に臨床試験が行われた。その結果、6%CR を含む 50%の患者に効果があることが報告された。

## 2. 白血病や消化器間質腫瘍 (GIST) に対する低分子化合物— Imatinib (Glivec)

Imatinib は、最初フィラデルフィア抗体陽性の慢性骨髄性白血病の癌遺伝子 Bcr - Abl のチロシンキナーゼを標的として開発された。従来の抗癌剤やインターフェロン $\alpha$  が使用された場合の白血病患者の 2 ヶ月前後の平均生存期間に較べて著明な延命効果が報告された。

Imatinib が、Bcr-Abl のチロシンキナーゼだけでなく GIST の原因遺伝子 Kit などにも親和性を示すことから、GIST の治療薬として使用されるようになった。他方、この薬剤の治療の過程で白血病で耐性の出現が報告され、Bcr - Abl のキナーゼドメインの突然変異が発見された。また、GIST においても白血病のドメインと相同性領域の Val654Ala のミスセンス変異が耐性を示すことが知られてきた。Imatinib に較べてさらに、キナーゼドメインに対する親和性ははるかに上昇した薬剤の開発が進められている。

## 3. EGF レセプター (EGFR) ファミリーを標的とした分子標的薬剤

### 1) 乳癌を対象としたモノクローナル抗体—ハーセプチン (Herceptin)

EGFR ファミリーは 4 つ知られており、ヒト腫瘍においてもしばしば発現が上昇している。EGFR の発現上昇は、ヒト肺癌や前立腺癌 (40 ~ 80%)、胃癌 (30 ~ 70%)、乳癌 (14 ~ 91%)、大腸癌 (25 ~ 77%)、膵癌 (30 ~ 50%)、卵巣癌 (35 ~ 70%) で、報告されている。各レセプターに対する分子標的薬剤の開発が世界で活発に進められている (図 49)。Herceptin は、EGFR ファミリーの 1 つ HER2 を標的として開発された抗体薬剤である。HER2

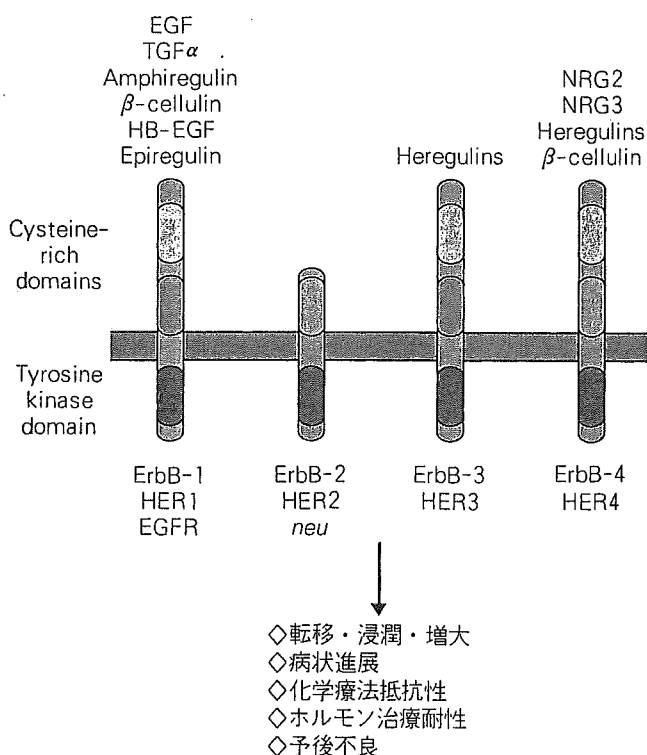


図 49 EGF リガンドと EGFR のファミリーと癌悪性形質の獲得



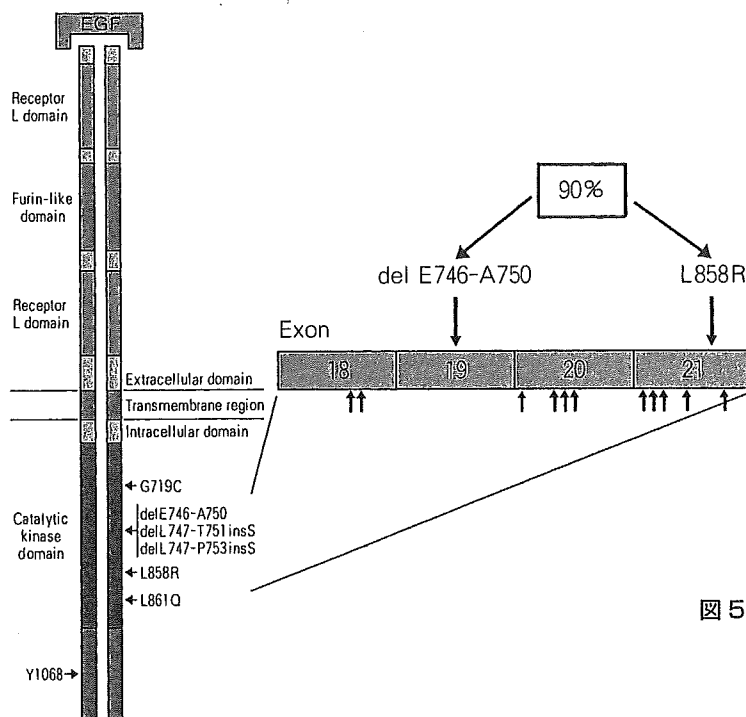


図 50 ヒト肺癌(NSCLC)における癌部位での Gefitinib 治療感受性を示す EGFR のチロシンキナーゼ・ドメインの突然変異

過剰発現の転移性乳癌患者に、パクリタキセルとの併用で臨床試験が開始された。免疫細胞を介した抗体依存性細胞障害や HER2 の増殖シグナルに対する阻害などが Herceptin の抗腫瘍効果であると考えられている。12 万人以上の HER2 過剰発現乳癌患者に対する臨床試験の結果、1998 年に許可された。この臨床試験において重要なことは、免疫染色法や *in situ* ハイブリダーゼーション (FISH) で HER2 の発現レベルや発現様式を各患者で検索したことであった。パクリタキセルなどの化学療法剤単独使用 (18.4 ヶ月) に比べて有意な平均生存期間の延長 (22.1 ヶ月) や効果の上昇が報告された。

## 2) 肺癌を対象とした低分子化合物ー Gefitinib (Iressa)

Gefitinib は、多くの癌で発現が上昇している EGFR/HER1 に対する分子標的薬剤である。Gefitinib の非小細胞性肺癌 (NSCLC) に対する臨床試験の結果、治療効果があることが Fu-kuoka らによって報告された<sup>3)</sup>。間質性肺炎が 2～3% に発症することも報告された。Gefitinib の治療効果が欧米人に比べ日本人を含むアジア人に、男性より女性に、扁平上皮癌に比べ腺癌に、喫煙者に比べ非喫煙者により高い治療効果を示すことも知られていたが、その理由ははっきりしなかった。2004 年になって NSCLC の癌部位に生じている突然変異が薬剤効果と密接に関連することが報告された<sup>4)5)</sup>。その後発表された多くの報告などから、EGFR のキナーゼ・ドメインに生じた突然変異のうち、Gefitinib に応答性が高い癌においてエクソン 19 の欠失変異 (delE746 - A750) とエクソン 21 のミスセンス変異 (L858R) が約 90% を占めることが明らかにされた (図 50)。この突然変異の頻度は、女性や腺癌に高いことも明らかにされた。これらの変異 EGFR をもつ肺癌細胞では、細胞増殖や細胞死のシグナルが EGF/TGF $\alpha$  - EGFR に緊密に関連しているために、Gefitinib に感受性が高いモデルが提示されている<sup>6)</sup>。

他方、肺癌細胞においても HER2 の過剰発現が報告されている。筆者らは、HER2/HER3 のヘテロダイマーに PI3 キナーゼ p85 $\alpha$  が結合し、HER2 のシグナル伝達系が活性化し、Ge-

fitinib に感受性になる実験結果を報告している<sup>7)</sup>。HER2 過剰発現細胞において、Akt シグナルが活性化し Gefitinib の標的となっていることが考えられる。EGFR に突然変異が検出されないで薬剤感受性を示す NSCLC において、この機序が関与しているか否かはこれからの課題である。

#### 4. がんの間質応答である血管新生を標的とした VEGF 抗体—モノクローナル抗体 Avastin (Bevacizumab)

血管新生を標的とした分子標的薬剤の開発は、ここ 10 年近く大きな期待をよせられてきた(表 17)<sup>8)–10)</sup>。マトリックスメタロプロテナーゼ(MMP)は、癌の細胞外基質 E-カドヘリンなどの細胞・細胞接着や細胞・細胞外基質などの分解をはじめ、細胞の浸潤や運動を亢進させたり血管新生を促進させる働きなどが知られていた。それゆえ、マリマスタットなどの MMP 阻害剤の登場に、われわれは大きな期待をよせた。その臨床試験は、しかし筋

表 17 臨床試験が進められている血管新生阻害性作用のある分子標的薬剤

薬剤	薬剤タイプ	分子標的	機序
PTK787	低分子	VEGF-R1/2/3 <sup>a)</sup>	チロシンキナーゼ
SU6668	低分子	VEGF-R2 PDGF-R $\beta$	チロシンキナーゼ
SU11248	低分子	VEGF-R2 PDGF-R $\beta$	チロシンキナーゼ
AZD6474	低分子	VEGF-R2	チロシンキナーゼ
AZD2171	低分子	VEGF-R3	チロシンキナーゼ
CEP-7055	低分子	VEGF-R1/2/3	チロシンキナーゼ
CP-547,632	低分子	VEGF-R2	チロシンキナーゼ
786034	低分子	VEGF-R2	チロシンキナーゼ
IMC-1C11	抗体	VEGF-R2	拮抗作用
Angiozyme	リボザイム	VEGF-R1	mRNA 切断
Avastin	抗体	VEGF	拮抗作用
VEGF-Trap	可溶性 VEGF-R	VEGF	拮抗作用
Vitaxin	抗体	$\alpha$ -V $\beta$ 3-integrin	拮抗作用
EMD121974	低分子	$\alpha$ -V $\beta$ 3-integrin	拮抗作用

<sup>a)</sup> : VEGF-R1/2/3 : VEGF 受容体 1 型, 2 型, 3 型

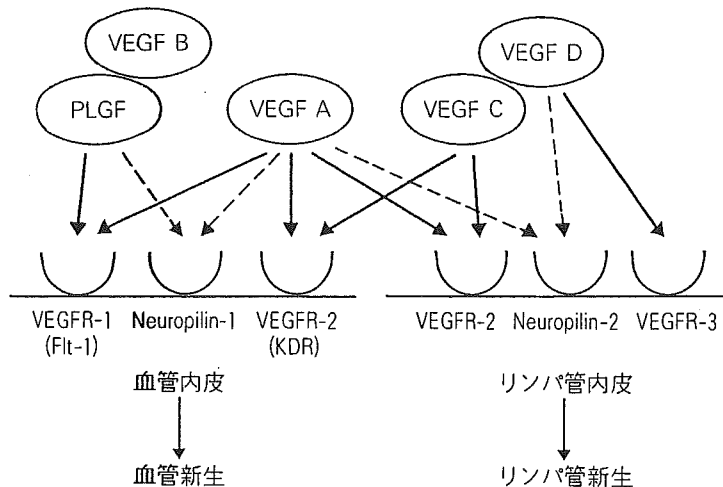


図 51 血管新生とリンパ管新生に関する VEGF とそのレセプターファミリー

肉痛や関節痛の出現もあったり明らかな臨床効果がみられないままであった。他方、VEGFRの阻害剤についても多大の期待がかけられた。VEGFは、血管新生促進因子のなかで最も強力な因子である(図51)。VEGF/VEGFRシグナルを阻害することにより、実験モデル系では見事な血管新生や癌転移・増大の阻害効果を示した。しかし、このシグナル阻害剤のヒトへの応用の効果は必ずしも期待されるようなものではなかった。血管新生は本当に癌治療戦略に有用なのであろうかという疑問も生じてきた。

2003年の米国臨床腫瘍学会でのAvastinの臨床試験の報告は、抗血管新生による癌治療戦略を勇気づけるのに十分なものだった。Avastinは、VEGFに対するリコンビナントヒト型モノクローナル抗体として開発された。VEGFは代表的な血管新生の促進因子であり、癌血管新生に重要な役割を果たしている。この開発はゼネンティック社のFerrara博士らの努力に負う所が大き<sup>11)</sup>。Avastinは、5-FU、イリノテカンとの化学療法剤との併用で転移性大腸また直腸癌に2004年に承認された。平均寿命において、化学療法剤単独群に比べて有意に5ヵ月(p<0.001)の生存期間延長と臨床効果の上昇が報告された。現在、数多くの癌に対して臨床試験が開始されており、その効果が期待されている。

## ▶▶▶ II. 臨床応用へ向けて期待したい分子標的薬剤

現在、数多くの癌に関連する分子標的が見いだされ、薬剤開発の努力が続けられている。いくつかの標的にスポットをあてる。

### 1. 炎症応答の鍵を握る分子標的シクロオキシゲナーゼ2(COX2)とNF- $\kappa$ B-COX2阻害剤とプロテアソーム阻害剤

炎症と癌の関連は、Virchow博士以来長い間論議されてきている。そのなかで癌の間質における炎症反応は、とくに癌の悪性形質の獲得に大切であり、近年浸潤細胞の機能や癌細胞と間質との応答の仕組みがはっきりなるに従って、分子標的としての可能性をさぐる研究が進んできている。

抗炎症作用や鎮痛作用を示すCOX阻害剤は臨床で頻繁に使用されている。癌の発症や悪性化に関与するCOXとくにCOX2は、癌治療戦略の標的として研究が進んできている<sup>12)</sup>。実験モデル系では、大腸癌発症モデル系でCOX2阻害剤が有意に阻害することなどが報告され、ヒト家族性大腸腺腫の発癌予防剤としても注目されている<sup>13)</sup>。他方、アラキドン酸カスケード産物PGE2やTXA2が血管新生を誘導することも知られており、抗血管新生作用を介して癌治療への貢献を期待したい。

NF- $\kappa$ Bは、炎症性サイトカインによって誘導される重要な転写因子であるとともに、抗アポトーシス因子としても知られている(図52)。最近、大腸癌発症実験モデル系でIKK $\beta$ の欠失変異マウスを用いてNF- $\kappa$ Bに代表される炎症応答が、癌の発症に極めて重要な役割を果たしていることがKarin博士らのグループから報告されている<sup>14)</sup>。NF- $\kappa$ Bが多くのヒト癌で活発になっており、非ステロイド系抗炎症剤、免疫抑制剤、プロテアソーム阻害剤等がNF- $\kappa$ Bを介した癌を抑制するのではないかと期待されている<sup>15)</sup>。

とくに、プロテアソーム阻害剤であるPS-341(Bortezomib, 商品名VELCADE)は、臨床試験を行った最初のプロテアソーム阻害剤である(図52)。2003年5月に米国FDAより

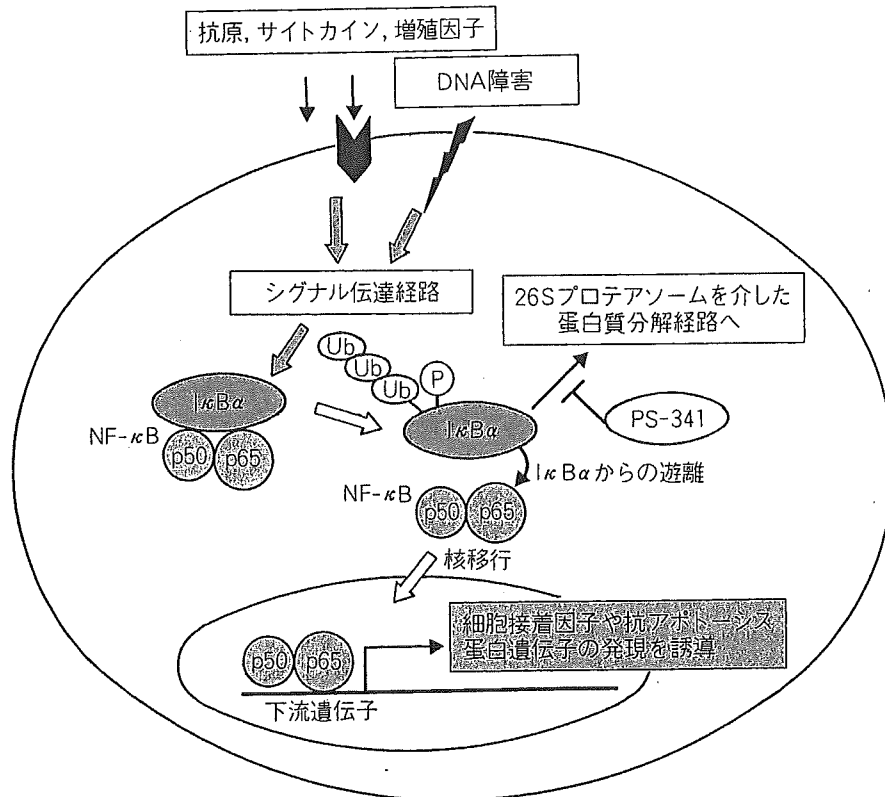


図 52 NF- $\kappa$ B 活性化経路

抗原, サイトカイン, 増殖因子および UV などの刺激やストレスにより, NF- $\kappa$ B は細胞内シグナル伝達経路を介して活性化され, 細胞接着因子や抗アポトーシス蛋白質の遺伝子の発現が誘導される. プロテアソーム阻害剤 PS-341 は I $\kappa$ B $\alpha$  のプロテアソームによる分解を抑制することで, NF- $\kappa$ B の核移行および NF- $\kappa$ B 下流遺伝子の発現を間接的に抑制する.

少なくとも 2 種類以上の治療を受け, 治療後も進行性を示す多発性骨髄腫を対象疾患として第 3 相試験が行われている<sup>16)</sup>. 本邦においても 2004 年 5 月より第 1 相試験が開始された. 多発性骨髄腫を初め, さまざまな癌種に対して効果が期待される分子標的薬である.

## 2. ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤

クロマチンは, 4 種類のコアヒストン (H2A, H2B, H3, H4) から成るヒストンオクタマーに, 146 塩基対の DNA が巻きついたヌクレオソーム粒子から構成されている. ヒストンの N 末端は翻訳後の化学修飾を受け, クロマチン構造が変化し遺伝子発現を調節する. そのなかで, 転写制御にかかわるヒストン N 末端のアセチル化は, ヒストンアセチル化酵素とヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) とにより調節されている. 急性骨髄性白血病にみられる染色体転座によってもたらされる PML-RAR $\alpha$  や AML1-ETO などの融合蛋白質が, HDAC を含むコリプレッサー複合体をリクルートしてきて分化関連遺伝子の転写を抑制し, 癌の進展を誘発する. 現在, HDAC 阻害剤として数種類の化合物が開発されている. 各化合物は nM ~  $\mu$ M の濃度で HDAC の酵素活性を阻害し, p21 の発現誘導と細胞周期の停止で抗腫瘍効果をもたらすと言われている<sup>17)</sup>. HDAC 阻害剤の臨床試験が行われているが, その結果を期待したい.