

Table 4 P糖蛋白質の発現上昇と YB-1 の核内局在が相関するヒトのがん

発表者	ヒトがんの種類
Bargou ら (1997)	乳がん
Saji ら (2003)	乳がん
Kamura ら (2003)	卵巣がん
Oda ら (1998)	骨肉腫
Oda ら (2003)	滑膜肉腫

他方, Bargou らが最初に YB-1 の核内局在が P 糖蛋白質の発現と極めて高い相関を示すことを乳がん患者で報告した¹⁵⁾。以来, 卵巣がん, 骨肉腫, 乳がん, 滑膜肉腫などで, YB-1 の核内局在と P 糖蛋白質発現が相関することが発表されている (Table 4)。もちろん, YB-1 の活性化が MDR1 遺伝子の発現を正に制御するという基礎研究が臨床データと直接関連しているか否かは明らかではない。しかし, YB-1 の核内局在と P 糖蛋白質の 2 つの分子標的を検討することは, がん患者の予後やがん治療の効果とも相関する臨床データも蓄積されつつあり, 各々のがんの悪性形質に関連する分子標的として YB-1 の核内局在の有無は重要な診断マーカーになることを期待している^{13,14)}。

他方, もう 1 つ P 糖蛋白質が関与する臨床多剤耐性に, MDR1 遺伝子のプロモーター領域の CpG サイトのメチル化の有無が重要な鍵を握っていることが明らかになってきた (Fig. 3)。その最初の研究のきっかけは, ヒトがん細胞から vincristine 耐性として単離した多剤耐性細胞株 KB/VJ300 に関する解析結果からであった¹⁶⁾。KB/VJ300 細胞では, P 糖蛋白質/MDR1 遺伝子が秋山伸一博士らが colchicine 耐性で単離した遺伝子増幅型の多剤耐性株とは異なり, 全く増幅はみられないが MDR1 mRNA のレベルは同じくらい著明に上昇していた。そのメカニズムについてははっきりしたのは, 単離してから実に 10 年近く経過してからであった。MDR1 プロモーター領域の -100 bp 付近の CpG メチル化が消失していることが判明した¹⁷⁾。

次に, KB/VJ300 細胞における MDR1 遺伝子発現上昇に MDR1 プロモーター上の CpG のメチル化の有無が重要であるという知見を, “臨床多剤耐性の獲得” と関連するか否かについて研究をスタートさせた⁶⁾。我々は, 白血病患者について名古屋市大の上田龍三博士らのグループと, 膀胱がん患者について九州大学の内藤誠二博士らのグループと各々の共同研究を進めた。その結果, 急性骨髄性白血病患者においても

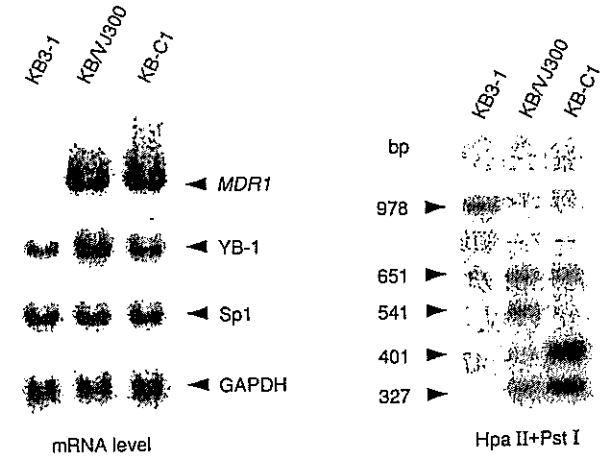
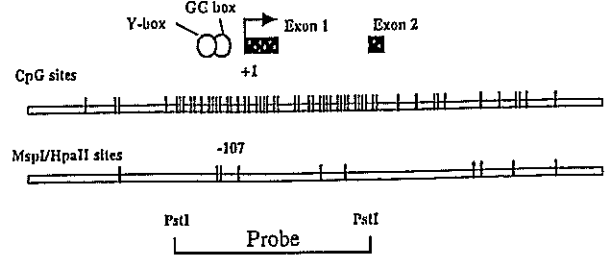
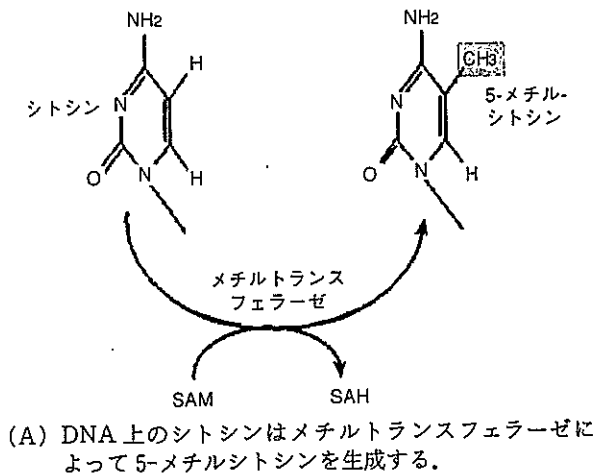
膀胱がん患者においても, MDR1 プロモーター領域の CpG サイトの脱メチル化のレベルと MDR1 遺伝子の発現レベルが極めて有意な相関を示すことが観察された^{18,19)}。膀胱がん患者において, 治療経過に伴ってフォローした結果, 初発時には MDR1 遺伝子プロモーターはメチル化を受けていることが多く, 化学療法によって寛解のあと再発へ至る過程で脱メチル化が起こり MDR1 遺伝子の発現が亢進されることが示唆された (Fig. 3)。

以上, P 糖蛋白質の発現の亢進がみられるがん患者において, YB-1 の核内移行や MDR1 プロモーター上の CpG サイトの脱メチル化が誘導されていることから, “多剤耐性” 獲得の新しい分子診断への道が開かれるのではないかと考えられる。

3. MRP1 と多剤耐性

多剤耐性細胞株で, P 糖蛋白質/MDR1 遺伝子の過剰発現によって多剤耐性形質を獲得している例はしばしばみられる。しかし, MDR1 遺伝子の発現上昇がみられないで多剤耐性を獲得している細胞株もみられ, William Beck 博士はこれらの多剤耐性に atypical MDR (非定型多剤耐性) と呼び, DNA トポイソメラーゼやその他のトランスポーターの存在を示唆した^{3,20,21)}。その結果, MDR1 とは異なる新しい多剤耐性に関連する遺伝子として MRP1 が同定されたことになった。MRP1 遺伝子はヒト染色体 16p13.1 上に位置し, 胎盤, 精巣, 心肺, 卵巣, 単核球などの正常組織に発現している^{5,6)} (Table 3)。

P 糖蛋白質が疎水性または負の荷電をもたない両親媒性の薬剤を基質にするのに対して, MRP サブファミリーは負の荷電をもつ両親媒性薬剤に親和性が高いことが明らかにされている。また, MRP サブファミリーの間でも基質特異性は異なっており, MRP1 と MRP2 はグルタチオン抱合体やグルクロン酸抱合体を, MRP3 はグルクロン酸抱合体や硫酸抱合体を, MRP4 や MRP5 のヌクレオチドの誘導体をよい基質とすることがわかってきた^{5,6,20)}。一方, MRP1 の基質認識機構についてはほとんどわかっていない。そこで, 抗がん剤および有機アニオンを基質にするがその特異性が異なるヒト多剤耐性蛋白質 MRP1 と MRP2 に注目し, この基質特異性の決定機構を明らかにするため MRP1 と MRP2 との間でキメラ蛋白質を作製し, 基質輸送の特異性を担うドメインの特定を試みた。その結果, MRP1 のロイコトリエン C4 (LTC4) に対する親和性は MRP2 より 10 倍高いが, MRP2



(B) MDR1のプロモーター領域のCpGサイトを示している。ヒトがん細胞KB3-1由来の多剤耐性株KB/VJ300とKB-C1は、MDR1遺伝子発現が上昇している。メチル化を特異的に認識する制限酵素Hpa IIで両多剤耐性株のMDR1プロモーター領域や親株KB3-1と異なり切断されていることから、低メチル化になっていることを示している。

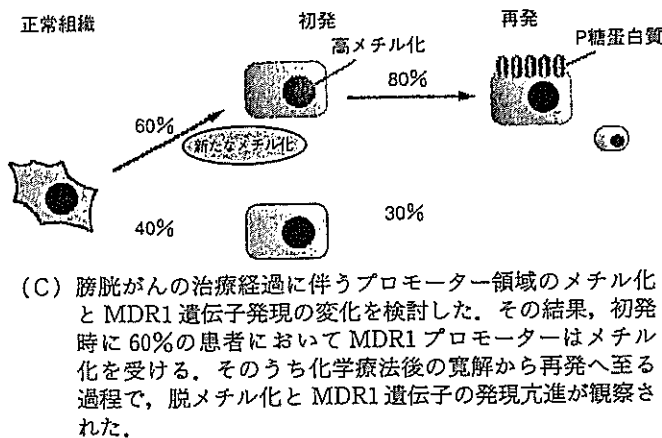


Fig. 3 DNAメチル化とMDR1遺伝子の発現制御
真核細胞では転写因子によるトランス制御とともに遺伝子のプロモーター領域のCpGメチルによる制御が重要な役割を担っている。

のN末端846アミノ酸をMRP1に置換したキメラではMRP1とほぼ同じ親和性を示した。このことから、MRP1の1-846アミノ酸がMRP1型の高い親和性によるLTC4輸送に重要な領域と考えられた。一方、N末端116アミノ酸をMRP1に置換したキメラではMRP2の約5倍高い親和性を示し、さらにMRP1の領域を長くするにつれ徐々に親和性は上昇した。これは、MRP1のN末端の116アミノ酸、すなわちN末端から1,2および3番目の膜貫通セグメントがLTC4に高い親和性を示すために必要な領域であり、加えて116番目から846番目のアミノ酸にも、LTC4に親和性を示す領域が存在することを示唆する。さらに、etoposideに対する相対的耐性度はMRP1が16.5、MRP2が2.2であったが、MRP2と比較して、N末端116および480アミノ酸をそれぞれMRP1のN末端の116アミノ酸および239番目から480番目のアミノ酸(膜貫通セグメント6~9)がetoposide耐性に

重要な役割を果たすことが示唆された²²⁾。
MRP1は白血病、食道がん、肺がん(NSCLC)、神経芽腫などで発現が上昇していることが報告されて以来²³⁾、その他のがんでも発現上昇が報告されている(Table 3)。小児の神経芽腫では、N-mycの遺伝子増幅が化学療法抵抗性の指標となっているが、この遺伝子増幅を伴う症例ではMRP1のmRNAレベルが有意に高い。さらに、N-mycの遺伝子増幅とは関係なくMRP1のmRNAレベルが強い予後因子となるとの報告もされている。その他のMRPファミリーについても、腫瘍における発現様式や予後との相関などについてはようやく解析が始まったばかりである。最近、ヒトの卵巣がんにおいてMRP1の高発現やMRP1とMRP3の共発現が予後に強く影響することが報告されている²⁴⁾。さらに、乳がんにおいてMDR1以外にもMRP1がBCRPやボルト蛋白LRPなどとともにその高発現が生存率に影響することが報告され

Table 5 MDR1 遺伝子の SNP 頻度の人種差

MDR1 exon/intron	塩基置換	アミノ酸置換	アレル頻度			
			Hoffmeyer, 2000		Tanabe, 2001	
exon1b	T-129C	Noncoding			T (0.92)	C (0.08)
exon12	C1236T	wobble	C (0.76)	T (0.24)	C (0.65)	T (0.35)
exon21	G2677T	Ala893Ser	G (0.36)	T (0.64)	G (0.37)	T (0.42)
	G2677A	Ala893Thr				A (0.22)
exon26	C3435T	Ile1145Ile	C (0.50)	T (0.50)	C (0.51)	T (0.49)

ている²⁵⁾。

MDR1 に比べ MRP1 のがんでの発現上昇の分子的背景については、はっきりしていないところが多い。転写レベルでの制御に関して、MRP1 のコアプロモーター領域にはいくつかの GC box が存在し、転写因子 Sp1 が MRP1 の発現を制御していることが示されている。その後の解析から、転写開始点より -511~-477 に AP-1 結合領域をもつ抗酸化応答領域 (ARE) が見い出された。その領域はエンハンパーとして働き、MRP1 が過剰発現している多剤耐性株では親株に比べ ARE が結合する核内因子は約 3 倍増加していることがゲルシフト法で示された。その因子は cJUN と同定されている²⁶⁾。薬剤によって MRP1 発現誘導に関するいくつかの報告があるが、分子レベルの解析はほとんど手をつけられていない。MRP1 の発現誘導についても、 β -acetylaminofluorene で誘導される。多くの腫瘍で MRP1 が発現していることから、がんの悪性化の機構に MRP の発現が示唆されている。Sullivan ら²⁷⁾により、MRP1 の発現が変異 p53 によって増加することが前立腺がん細胞で示された。ABC トランスポーターのプロモーター領域は複雑な制御を受けている。しかし、明らかな p53 結合領域がないことから、転写制御因子との分子会合を介した間接的な作用によるものと考えられる。

4. MDR1 や MRP1 と遺伝子多型

MDR1 や MRP1 は抗がん剤耐性に関与するとともに、薬物感受性の個人差や体内動態に関与する重要な因子の 1 つと考えられる。したがって、その発現量や活性に影響を及ぼす遺伝子多型を検索することが、薬物応答性の個人差を考えるうえで必要になってくる。しかし、MDR1 や MRP1 の遺伝子多型や薬物応答性との相関に関する研究は、ようやく始まったばかりである。

MDR1 遺伝子について、Hoffmeyer らがはじめて包括的な遺伝子多型の検索結果を報告した²⁸⁾。コアプ

ロモーター、エクソンおよび周辺イントロンにつき検索した結果、17 個の 1 塩基置換 (single nucleotide polymorphism: SNP) を同定した (Table 5)。さらに、健常人の十二指腸生検材料を用いた解析を進め、アレル頻度の高い C3435T について P 糖蛋白質の発現レベルおよび P 糖蛋白質の基質である digoxin の血中濃度と相関することを報告している。C3435T については報告が相次ぎ、胎盤の P 糖蛋白質発現レベルと相関する傾向はあるものの統計的有意差はない、末梢の CD56⁺NK 細胞でローダミン 123 の排出活性と相関する、cyclosporin の体内動態や拒絶反応の有無との相関はないなどが報告されている。C3435T はアミノ酸置換を伴わない塩基置換なので、P 糖蛋白質の発現レベルや薬物の体内動態へどのように関与するのかわかり不明である。C3435T の C のアレル頻度が白人や黄色人種では 35~60% であるのに対し、黒人では 75~85% と高いことも薬物療法の至適量を決めるうえで考慮すべきことである。Table 5 に、アレル頻度の高い MDR1 遺伝子の SNP につき、白人と日本人でのアレル頻度を比較した。また、発現量と SNP の相関についても人種差があるようである。最近、日本人においては C3435T ではなく、プロモーター領域の SNP が発現レベルに相関することを我々は見い出している²⁹⁾。他のトランスポーターの SNP についても、ゲノムデータベースに多数登録が始まっているが、発現レベルや臨床パラメータとの関連については今後の課題である。

薬物排出トランスポーターは、さまざまな薬物で発現誘導や阻害がみられることが報告されている。すでに述べたように、P 糖蛋白質は rifampicin、薬草のセイヨウオトギリソウや抗がん剤で、MRP2 は cyclic AMP, dexamethasone, rifampicin, tamoxifen, cisplatin, 2-acetylaminofluorene, cycloheximide などで発現誘導が、またリポ多糖やサイトカインで発現の低下が観察されている。なかでも、抗がん剤などによる P 糖蛋白質の発現誘導には Y-box 結合

蛋白質が、また rifampicin や paclitaxel による発現誘導についてはオーファンレセプター-SXP の関与が示され、発現誘導機構が分子レベルで明らかにできる段階に入った。したがって、このような薬剤や環境因子が薬物排出トランスポーターの発現レベルに関与することは明らかである。他方、大腸がんや肝がん患者の非がん部について、免疫染色および RT-PCR により解析した我々の結果から、P 糖蛋白質/MDR1 などの ABC トランスポーターの発現量に個人差が存在することがわかってきた。この場合、患者は一定の術前環境に置かれるので、薬剤使用の有無などによって発現の個人差が生じるとは考えにくい。やはり、遺伝子多型から生じる個人差があるはずである。また、すでに述べたように MDR1 遺伝子の場合、プロモーター領域の CpG のメチル化により発現は負に制御されることが明らかになっているので、構成的発現量の個人差を規定している因子としてエピジェネティックな因子も考慮する必要がある。今後、転写因子、コアクティベーターやサイトカインなどの内在性誘導因子を含めたトランス作用因子の遺伝子多型も検討することが必要となるであろう。

5. おわりに

1) P 糖蛋白質は多剤耐性を担う代表的な ABC トランスポーターである。P 糖蛋白質ががんの悪性形質である多剤耐性の獲得に関与することはほぼ明らかにされた。正常組織では発現がないか少ない場合、その細胞由来のがん悪性化に伴って発現亢進がみられる分子的背景（たとえば YB-1 やメチル化）を同時に検討していくことは、各々のがんの特徴を具体的に把握するうえで大切である。

2) P 糖蛋白質だけでなく、その他の ABC トランスポーターが各々のヒトがんで発現上昇がみられる場合も多い^{19,24)}。それぞれの ABC トランスポーターがそれぞれのがんで多剤耐性の鍵を握っているかを明らかにすることが、今後の課題である。

3) P 糖蛋白質をはじめとして、ABC トランスポーターが多剤耐性の獲得に関与しているとすれば、その耐性克服についての戦略を提示していくこと、および多剤耐性がんの出現を減少させる治療プロトコルや治療法を考案することは必須の課題である。とくにそれぞれの抗がん剤がそれぞれの ABC トランスポーターを誘導しやすいか否かを、*in vitro* や *in vivo* 系でその分子的背景も含めて明らかにすることは重要である。

以上、多剤耐性に関する ABC トランスポーターについても、さまざまな問題がいまだ未解決のままである。しかし、多剤耐性に関する基礎研究で得られた知見やシナリオを、がん患者の多剤耐性や個別化治療へ結びつける可能性をたえず検討していく努力が今後ますます大切である。そこから、新しい耐性克服の戦略が誕生してくると確信している。

文 献

- 1) 秋山伸一. 抗がん剤のはたらき-課題と展望-. 共立出版, 1991.
- 2) 河野公俊, 桑野信彦. 多剤耐性遺伝子 MDR1 の発現制御. 癌と化学療法 1980; 17: 1975-81.
- 3) 和田守正, 長谷川周二, 河野公俊, 桑野信彦. 多剤耐性. 癌と化学療法 1994; 21: 936-44.
- 4) 桑野信彦, 内海健, 和田守正, 河野公俊. ABC トランスポーター. *Cancer Frontier* 1999; 1: 46-52.
- 5) 和田守正, 内海健, 桑野信彦. ABC トランスポーター: 構造と機能研究の新展開. *生化学* 2001; 73: 537-46.
- 6) Kuwano M, Uchiyama T, Hayakawa H, Ono M, Wada M, Izumi H, Kohno K. The basic and clinical implications of ABC transporters, Y-box-binding protein-1 (YB-1) and angiogenesis-related factors in human malignancies. *Cancer Sci* 2003; 94: 9-14.
- 7) Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nature Review Cancer* 2002; 2: 48-58.
- 8) Alvarez M, Paull K, Monks A, Hose C, Lee JS, Weinstein J, Grever M, Bates S, Fojo T. Generation of a drug resistance profile by quantitation of MDR-1/P-glycoprotein in the cell lines of the National Cancer Institute Anti-cancer Drug Screen. *J Clin Invest* 1995; 95: 2205-14.
- 9) Schinkel AH, Smit JJ, Van Tellingen O, Beijnen JH, Wagenaar E, Van Deetmen EC, Riele HP, Berns AJM, Borst P. Disruption of the mouse *mdr1a* P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell* 1994; 77: 491-502.
- 10) Mickisch G, Merlino G, Galski H, Gottesman M, Pastan I. Transgenic mice that express the human multidrug resistance gene in bone marrow enable a rapid identification of agents that reverse drug resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 547-51.
- 11) Torigoe K, Harada T, Kusaba H, et al. Localization of 67 exons on a YAC contig spanning 1.5 Mb around the multidrug resistance gene region of human chromosome 7q21.1. *Genomics* 1998; 49: 14-22.
- 12) Kohno K, Sato S, Takano H, Matsuo K, Kuwano M. The direct activation of human multidrug resistance gene (MDR1) by anticancer agents. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 165: 1415-21.
- 13) 河野公俊, 和泉弘人, 桑野信彦. 転写因子 YB-1 の核内局在と癌の薬剤耐性. *Cancer Frontier* 2001; 3: 68-73.
- 14) Kohno K, Izumi H, Uchiyama T, Ashizuka M, Kuwano M. The pleiotropic functions of the Y-box-binding protein, YB-1. *Bioessays* 2003; 25: 691-8.
- 15) Bargou RC, Jurchott K, Wagener C, et al. Nuclear localization and increased levels of transcription factor YB-1 in

- primary human breast cancers are associated with intrinsic MDR1 gene expression. *Nat Med* 1997 ; 3 : 447-50.
- 16) Kohno K, Kikuchi J, Sato S, Takano H, Saburi Y, Asoh K, Kuwano M. Vincristine-resistant human cancer KB cell line and increased expression of multidrug-resistance gene. *Jpn J Cancer Res* 1988 ; 79 : 1238-46.
- 17) Kusaba H, Nakayama M, Harada T, Nomoto M, Kohno K, Kuwano M, Wada M. Associated of 5'CpG demethylation and altered chromatin structure in the promoter region with transcriptional activation of the multidrug resistance 1 gene in human cancer cells. *Eur J Biochem* 1999 ; 262 : 924-32.
- 18) Nakayama M, Wada M, Harada T, Nagayama J, Kusaba H, Ohshima K, Kozuru M, Komatsu H, Ueda R, Kuwano M. Hypomethylation status of CpG sites at the promoter region and overexpression of the human MDR1 gene in acute myeloid leukemias. *Blood* 1998 ; 92 : 4296-307.
- 19) Tada Y, Wada M, Kuroiwa K, Kinukawa N, Harada T, Nagayama J, Nakagawa M, Naito S, Kuwano M. MDR1 gene overexpression and altered degree of methylation at the promoter region in bladder cancer during chemotherapeutic treatment. *Clin Cancer Res* 2000 ; 6 : 4618-27.
- 20) Loe DW, Deely RG, Cole SP. Biology of the multidrug resistance-associated protein, MRP. *Eur J Cancer* 1996 ; 32 : 945-57.
- 21) Kuwano M, Toh S, Uchiyumi T, Takano H, Kohno K, Wada M. Multidrug resistance-associated protein subfamily transporters and drug resistance. *Anticancer Drug Des* 1999 ; 14 : 123-31.
- 22) Konno T, Ebihara T, Hisaeda K, Uchiyumi T, Nakamura T, Shirakusa T, Kuwano M, Wada M. Identification of domains participating in the substrate specificity and subcellular localization of the multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 22908-17.
- 23) Nooter K, Westerman AM, Flens MJ, et al. Expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) gene in human cancers. *Clin Cancer Res* 1995 ; 1 : 1301-10.
- 24) Ohishi Y, Oda Y, Uchiyumi T, Kobayashi H, Hirakawa T, Miyamoto S, Kinukawa N, Nakano H, Kuwano M, Tsuneyoshi M. ATP-binding cassette superfamily transporter gene expression in human primary ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002 ; 8 : 3767-75.
- 25) Berger H, Foekens JA, Look MP, Meijer-van Gelder ME, Klijn JGM, Wiemer C, Stoter G, Nooter K. RNA expression of breast cancer resistance protein, lung resistance-related protein, multidrug resistance-associated proteins 1 and 2, and multidrug resistance gene 1 in breast cancer : correlation with chemotherapeutic response. *Clin Cancer Res* 2003 ; 9 : 827-36.
- 26) Kurz EU, Cole SPC, Deeley RG. Identification of DNA-protein interactions in the 5'flanking and 5'untranslated regions of the human multidrug resistance protein (MRP1) gene : evolution of a putative antioxidant response element/AP-1 binding site. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 ; 285 : 981-90.
- 27) Sullivan GF, Yang J-M, Vassil A, Yang J, Bash-Babula J, Hait WN. Regulation of expression of the multidrug resistance protein MRP1 by p53 in human prostate cancer cells. *J Clin Invest* 2000 ; 105 : 1261-7.
- 28) Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene : multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 3473-8.
- 29) Taniguchi S, Mochida Y, Uchiyumi, et al. Genetic polymorphism at the 5'regulatory region of multidrug resistance 1 (MDR1) and its association with interindividual variation of expression level in colon. *Molec Cancer Therapeut* 2003 ; 2 : 1351-9.

8. その他の治療

(1) 血管新生阻害薬

藤井 輝彦* 山名 秀明*
桑野 信彦*

<Key point>

はじめに

血管新生

血管新生とは微小血管の血管内皮細胞が刺激に反応して新しい血管網を形成する現象である。血管新生は組織の代謝を維持し、生体の機能的恒常性を保持するために不可欠であり、血管内皮細胞の重要な特性の一つである。血管新生は悪性腫瘍が増大するためにも重要であり、癌や間質から生産される血管新生促進因子によって内皮細胞が活性化され、血管構築のための分子群の発現が上昇し血管新生が誘導される。血管新生は、悪性腫瘍が増大するだけでなく、癌細胞の浸潤・転移、あるいは前癌状態から悪性癌への形質転換などとも深く関与している。

促進因子
抑制因子

血管新生は促進因子と抑制因子のバランスによって制御されており、関連する多くの因子が報告されている。促進因子も抑制因子も癌細胞をはじめとして血管内皮細胞、線維芽細胞、マクロファージ、その他の血球細胞などの間質細胞からも産生される。正常の組織では抑制因子の発現が促進因子の発現より亢進しているため血管新生

Key words : 血管新生, 促進因子, 抑制因子, 胃癌, 血管新生阻害薬

Angiogenesis Inhibitor for Gastric Cancer

Teruhiko Fujii/Hideaki Yamana/Michihiko Kuwano

*久留米大学先端癌治療研究センター (分子外科) (〒 830-0011 福岡県久留米市旭町 67)

表 1 胃癌における血管新生の調節因子

促進因子	抑制因子
VEGF	Thrombospondin-1
MMP	PTEN
IL-8	TGF- β ^{a)}
VCAM-1	PF-4
Angiopoietin-2	TIMP
uPA	PAI-1
COX-2	
Neuropilin-1	
Erythropoietin	
iNOS	

^{a)}: 促進作用と抑制作用の報告がある。

胃癌

は抑制されている。他方、腫瘍では促進因子の亢進により血管新生抑制因子とのアンバランスが起こっていると考えられる。胃癌においても血管新生の調節因子が報告されている(表1)。さまざまな癌で、血管新生(微小血管密度)が多いか少ないかは癌の転移や予後と深く関連することが報告されている¹⁾。胃癌においても、血管新生関連因子の発現が転移や浸潤などの悪性形質の獲得に関与することが知られている。表2にそれらの臨床的意義を列記した。

血管新生阻害薬

以下に、おもな血管新生に関連する因子と胃癌を中心とした血管新生との関係を解説し、血管新生阻害薬の臨床応用への可能性を述べる。

1) Vascular endothelial growth factor (VEGF)

VEGFは分子量34~45 kDaの代表的な血管新生因子である。血管内皮細胞に特異的な増殖因子として下垂体の濾胞細胞から単離された。平滑筋細胞、マクロファージ、肝細胞などの正常細胞で産生されるほか、胃癌細胞からも産生される。

VEGFが胃癌の新生血管に強く関与することも報告されている^{2),3)}。実際、動物モデルを用いた検討では、VEGFを抑制することにより抗腫瘍効果が得られている。すなわち、抗VEGF抗体により胆癌ヌードマウスの腫瘍増殖や肝転移は抑制され、微小血管密度は減少し、アポトーシスは増加した⁴⁾。また、VEGF受容体のアンチセンス療法はヌードマウスの腹膜播種を抑制することから⁵⁾、強い新生血管作用を有するVEGFを抑制することにより原発巣に対する

表 2 胃癌におけるおもな血管新生調節因子とその臨床的意義

因子	臨床的意義	報告
VEGF	VEGF-C は独立した予後因子である	Duff ら (2003)
	VEGF-A はリンパ節転移と相関	Yu ら (2003)
	早期未分化癌で VEGF-C, -D はリンパ節転位と相関	Ishikawa ら (2003)
	血清中の VEGF 濃度は胃癌患者で高く, 予後因子である	Karayiannakis ら (2002)
MMP	MMP-7 は腹膜播種に関与している	Yonemura ら (2000)
	MMP-2 は深達度, リンパ節転移, 遠隔転移と相関	Monig ら (2001)
	血清中の MMP-9 濃度は胃癌患者で高く, リンパ節転移などと相関	Torii ら (1997)
IL-8	IL-8 は深達度, 脈管侵襲と相関しており予後因子である	Kido ら (2001)
PTEN	PTEN と予後は相関	Lee ら (2003)
	進行癌やリンパ節転移例は PTEN の発現が減弱している	Yang ら (2003)
VCAM-1	血清中の VCAM-1 濃度が高い患者の予後は不良である	Velikova ら (1997)
	血清中の VCAM-1 濃度は深達度, リンパ節転移, 遠隔転移と相関	Alexiou ら (2003)
Angiopoietin-2 (Ang-2)	Ang-2 は癌組織に多く発現し, リンパ節転移と相関	Lee ら (2001)
	Ang-2 を発現している胃癌症例は進行癌が多く, 予後不良	Etoh ら (2001)
TGF- β	Smad 4 発現を伴った TGF- β 陽性例は予後良好である	Xiangming ら (2001)
	血清中の TGF- β 濃度はリンパ節転移, 予後と相関	Saito ら (2000)
	TGF- β の発現は深達度, リンパ節転移と相関 TGF- β 発現は独立した予後因子である	Maehara ら (1999) Nakamura ら (1998)
COX-2	COX-2 の発現とリンパ節転移, stage が相関	Xue ら (2003)
	COX-2 の発現とリンパ節転移, 予後が相関	Costa ら (2002)
	COX-2 の発現は癌組織に強く, 深達度と相関	Ohno ら (2001)

治療効果のみならず, 腹膜播種にも有効と考えられる。VEGF とそのファミリー蛋白は, VEGF 受容体 (VEGF-R 1/2/3 など) を介して血管新生だけでなくリンパ管新生にも関与しており, 血管新生阻害薬開発の有用な標的である (表 3 参照)。

II) Matrix metalloproteinase (MMP)

MMPは細胞外マトリックスを分解する酵素であり、ヒト腫瘍において活性が高いことが知られている。MMPを阻害することにより腫瘍の組織への浸潤、多臓器への転移および腫瘍血管新生を抑制することができると考えられる。MMPの阻害薬であるMarimastat[®]はSCIDマウスを用いた胃癌腹膜播種モデルにおいて、腫瘍新生血管を抑制することにより腹膜播種を抑制した⁶⁾。

III) Interleukin-8 (IL-8)

IL-8はC-X-Cファミリーに属する α -ケモカインの一つで、分子量8 kDaのポリペプチドである。おもにマクロファージから分泌されるほか、線維芽細胞や血管内皮細胞からも分泌される。好中球やリンパ球の遊走を増加させる作用のほか、腫瘍の血管新生に関与していることが報告されている。IL-8遺伝子を導入した胃癌細胞をヌードマウスの胃壁に移植すると、その増殖速度は速くなり、血管新生も増加した⁷⁾。IL-8もまた胃癌における強い血管新生因子の一つと考えられる。

IV) Thrombospondin-1 (TSP-1)

TSPは血小板に含有される分子量45 kDaの糖蛋白質で、癌細胞やマクロファージ、その他の細胞より産生されており、細胞外マトリックスに存在している。TSP-1のC末端の140 kDa断片はTSP-1の受容体と考えられているCD36への結合を抑制したり、basic fibroblast growth factor (bFGF)の細胞外マトリックスへの結合を抑制し、血管新生を抑制する。TSP-1を強く発現している胃癌症例では発現が弱い症例に比べ微小血管数が明らかに多く、TSP-1は胃癌の新生血管に重要な役割を果たしていると考えられる⁸⁾。

V) Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)

VCAM-1はイムノグロブリンスーパーファミリーを形成する接着因子の一つである。VCAM-1は、血管内皮細胞のほかに平滑筋細

胞, 線維芽細胞, マクロファージ, 樹状細胞, 神経細胞などで発現し, サイトカイン刺激に伴う血管内皮細胞と白血球の接着と血管新生へ関与している. 胃癌における VCAM-1 の発現は, 進行癌に頻度が高く, リンパ節転移と相関しており, 血管新生に強く関与している. また, 血清中の VCAM-1 の濃度と癌組織における VCAM-1 発現も相関が認められた⁹⁾.

VI) Angiopoietin-2 (Ang-2)

Ang-2 は血管内皮細胞表面に発現する新規のチロシンキナーゼ遺伝子であり, Tie のリガンドとして同定された. Ang は Ang-1 と Ang-2 が同定されており, Ang-2 は Ang-1 の働きを阻害して, VEGF など各種因子の内皮細胞へのアクセスを促して血管新生や再構築を促進する. Ang-2 を発現している胃癌症例は進行癌が多く, 予後不良である. また, Ang-2 遺伝子を導入した胃癌細胞をヌードマウスの胃壁に移植すると血管の密度が上昇したことから, Ang-2 の胃癌の血管新生への関与が示唆された¹⁰⁾.

VII) Transforming growth factor- β (TGF- β)

TGF- β は癌細胞周辺の正常細胞からの生産が亢進しており, 細胞外マトリックスの増加や血管新生の促進, また免疫能の低下などに関与している. TGF- β を発現している胃癌患者では, 癌の深達度や進行度と VEGF 発現に有意に相関が認められ, TGF- β 陽性症例では予後不良であったと報告されている¹¹⁾. 一方, Smad 4 発現を伴った TGF- β 陽性例は予後良好であるとの報告もあり¹²⁾, 統一した見解は未だ得られていない.

VIII) Urokinase-type plasminogen activator (uPA)

uPA はセリンプロテイナーゼに属する PA の一つで, プラスミノゲンをプラスミンに変換する. 胃癌において uPA の発現は微小血管密度と相関しており, 予後因子の一つであることが報告されている¹³⁾.

IX PTEN

PI 3 キナーゼの反応産物は Akt/PKB の PH ドメインに結合して活性化し生存シグナルを伝えるが、PTEN に変異を認めたり発現が減少すると PI (3, 4, 5) P 3 が増加して Akt/PKB が活性化してくる。Zheng らは、PTEN 発現の減少は微小血管密度と逆相関しており、胃癌の血管新生に PTEN が重要な役割を果たしていることを報告している¹⁴⁾。

X Cyclooxygenase-2 (COX-2)

COX はアラキドン酸からプロスタグランジン H₂を誘導する。とくに、誘導型の COX-2 は腫瘍の増大と深いつながりがあることが報告されている。胃癌患者において COX-2 発現と微小血管密度は相関しており、COX-2 を発現している患者ではリンパ節転移陽性率が高率であった¹⁵⁾。また、胃癌において COX-2 と VEGF の関係も検討されており、COX-2 発現と微小血管密度および VEGF の発現には関連性がみられた。COX-2 を過剰発現させると VEGF の発現が上昇することから、胃癌において COX-2 と VEGF は血管新生のネットワークを形成していると考えられる¹⁶⁾。

おわりに

1972 年、Folkman は、悪性腫瘍への新生血管による血液供給を標的として癌を治療する“血管新生療法”の概念を提唱した。血管新生阻害薬は腫瘍の増殖を抑制するだけでなく、浸潤や転移さらに、発癌を抑制する可能性があり、多大の注目を集めている。

肺癌、前立腺癌、大腸癌などでさかんに臨床試験が行われているが、現在、臨床試験が進められている血管新生阻害薬のおもなものを表 3 に示す¹⁷⁾。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。大きな期待に反して臨床効果のある血管新生阻害薬の報告はなかった。しかし、最近、アメリカ臨床腫瘍学会（ASCO, 2003 年 6 月）において、進行性大腸癌患者に対して従来のイリノテカン/5-フルオロウラシル/ロイコ

表 3 臨床試験が進められている血管新生阻害性の分子標的薬剤

薬 剤	薬剤タイプ	分子標的	機 序
PTK 787	低分子	VEGF-R 1/2/3 ^{a)}	チロシンキナーゼ
SU 6668	低分子	VEGF-R 2 PDGF-R β	チロシンキナーゼ
SU 11248	低分子	VEGF-R 2 PDGF-R β	チロシンキナーゼ
AZD 6474	低分子	VEGF-R 2	チロシンキナーゼ
AZD 2171	低分子	VEGF-R 3	チロシンキナーゼ
CEP-7055	低分子	VEGF-R 1/2/3	チロシンキナーゼ
CP-547. 632	低分子	VEGF-R 2	チロシンキナーゼ
786034	低分子	VEGF-R 2	チロシンキナーゼ
IMC-1 C 11	抗体	VEGF-R 2	拮抗作用
Angiozyme	リボザイム	VEGF-R 1	mRAN 切断
Avastin	抗体	VEGF	拮抗作用
VEGF-Trap	可溶型 VEGF-R	VEGF	拮抗作用
Vitaxin	抗体	$\alpha_v\beta_3$ -integrin	拮抗作用
EMD 121974	低分子	$\alpha_v\beta_3$ -integrin	拮抗作用

^{a)} : VEGF-R 1/2/3 ; VEGF 受容体 1 型, 2 型, 3 型

(Marm , D. : J. Cancer Res. Clin. Oncol. 129 ; 607-620, 2003¹⁷⁾より引用・改変)

ボリン治療に比べて VEGF 抗体薬剤 (AvastinTM) を併用することにより有意な生存率の改善が観察され、多大な注目をあびている。臨床試験における血管新生阻害薬の有効性を示した初めての報告である。胃癌では未だ効果のある血管新生阻害薬の報告はみられていない。大腸癌のように、VEGF 抗体や IL-8 抗体などを用いて血管新生を阻害することにより胃癌に対する有効な血管新生阻害療法が確立されることを期待したい。

謝辞：本稿をまとめるにあたり、九州大学医学研究院小野真弓博士のご教示と、原稿をまとめていただいた久留米大学先端癌治療研究センター津留崎智子氏に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 小野真弓, 桑野信彦 : 血管新生とがん. 生化学 70 ; 1159-1170, 1998
- 2) Maehara, Y., Kabashima, A., Koga, T., et al. : Vascular invasion and potential for tumor angiogenesis and metastasis in gastric carcinoma. Surgery 128 ; 408-416, 2000
- 3) Saito, H., Tujitani, S., Ikeguchi, M., et al. : Neoangiogenesis and relationship to nuclear p 53 accumulation and vascular endothelial growth factor expression in advanced gastric carcinoma. Oncology 57 ; 164-172, 1999
- 4) Kamiya, K., Konno, H., Tanaka, T., et al. :

- Antitumor effect on human gastric cancer and induction of apoptosis by vascular endothelial growth factor neutralizing antibody. *Jpn. J. Cancer Res.* 90 ; 794-800, 1999
- 5) Kamiyama, M., Ichikawa, Y., Ishikawa, T., et al. : VEGF receptor antisense therapy inhibits angiogenesis and peritoneal dissemination of human gastric cancer in nude mice. *Cancer Gene. Ther.* 9 ; 197-201, 2002
 - 6) Wada, N., Otani, Y., Kubota, T., et al. : Reduced angiogenesis in peritoneal dissemination of gastric cancer through gelatinase inhibition. *Clin. Exp. Metastasis* 20 ; 431-435, 2003
 - 7) Kitadai, Y., Takahashi, Y., Haruma, K., et al. : Transfection of interleukin-8 increases angiogenesis and tumorigenesis of human gastric carcinoma cells in nude mice. *Br. J. Cancer* 81 ; 647-653, 1999
 - 8) Zhang, J., Ito, R., Oue, N., et al. : Expression of thrombospondin-1 is correlated with microvessel density in gastric carcinoma. *Virchows. Arch.* 442 ; 563-568, 2003
 - 9) Ding, Y. B., Chen, G. Y., Xia, J. G., et al. : Association of VCAM-1 overexpression with oncogenesis, tumor angiogenesis and metastasis of gastric carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 9 ; 1409-1414, 2003
 - 10) Etoh, T., Inoue, H., Tanaka, S., et al. : Angiopoietin-2 is related to tumor angiogenesis in gastric carcinoma : possible in vivo regulation via induction of proteases. *Cancer Res.* 61 ; 2145-2153, 2001
 - 11) Saito, H., Tsujitani, S., Oka, S., et al. : The expression of transforming growth factor- β 1 is significantly correlated with the expression of vascular endothelial growth factor and poor prognosis of patients with advanced gastric carcinoma. *Cancer* 86 ; 1455-1462, 1999
 - 12) Xiangming, C., Natsugoe, S., Takao, S., et al. : Preserved Smad 4 expression in the transforming growth factor β signaling pathway is a favorable prognostic factor in patients with advanced gastric cancer. *Clin. Cancer Res.* 7 ; 277-282, 2001
 - 13) Kaneko, T., Konno, H., Baba, M., et al. : Urokinase-type plasminogen activator expression correlates with tumor angiogenesis and poor outcome in gastric cancer. *Cancer Sci.* 94 ; 43-49, 2003
 - 14) Zheng, H. C., Li, Y. L., Sun, J. M., et al. : Growth, invasion, metastasis, differentiation, angiogenesis and apoptosis of gastric cancer regulated by expression of PTEN encoding products. *World J. Gastroenterol.* 9 ; 1662-1666, 2003
 - 15) Li, H. X., Chang, X. M. and Song, Z. J. : Correlation between expression of cyclooxygenase-2 and angiogenesis in human gastric adenocarcinoma. *World J. Gastroenterol.* 9 ; 674-677, 2003
 - 16) Leung, W. K., To, K. F., Go, M. Y., et al. : Cyclooxygenase-2 upregulates vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in human gastric carcinoma. *Int. J. Oncol.* 23 ; 1317-1322, 2003
 - 17) Marmé, D. : The impact of anti-angiogenic agents on cancer therapy. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 129 ; 607-620, 2003

序 文

分子標的治療の現状と将来への展望

桑野信彦¹ 藤井輝彦¹ 小野真弓² 和泉弘人³ 河野公俊³

Molecular targeting drugs—present status and future development

¹Michihiko Kuwano, ¹Teruhiko Fujii, ²Mayumi Ono,

³Hiroto Izumi, ³Kimitoshi Kohno

¹Research Center for Innovative Cancer Therapy, Kurume University

²Department of Medical Biochemistry, Graduate School of Medical Sciences,

Kyushu University ³Department of Molecular Biology,

University of Occupational and Environmental Health

Abstract

Development of molecular targeting drugs is a recent highlight in cancer therapeutic field. One can look for 'drugable' target(s) from many molecular targets specific in malignant characteristics of human cancers. Drugs targeting various malignancy-linked molecules such as EGF receptor and its family proteins. Bcr-abl, CD20, Ras and others are now approved or under clinical trials against cancer patients. These molecular targeting drugs will provide a novel and useful therapeutic strategy, but, at the same time, we have many problems to overcome. We should continue our further efforts to answer following problems: ① How therapeutic efficacy of molecular targeting drugs could be determined in patients in evidence-based manner? ; ② What is promising molecular target for development of drug? ; ③ How combination therapy of molecular targeting drug with other cytotoxic drugs should be designed?

Key words: molecular targets, molecular targeting drugs, EGF receptor family, tyrosine kinase inhibitors, tumor angiogenesis

はじめに

がんの分子標的治療薬の登場はがん治療戦略を魅力的にするとともに、'従来型のがん化学療法'²になかった新しい治療のコンセプトを我々に提示してくれている。がん分子標的治療薬が登場してきた歴史的な背景として、以下のことが考えられる。①細胞増殖, DNA, RNA

や蛋白合成などの阻害を標的として抗がん剤が開発された1980年代までの時代的背景に比べ、その後のヒト細胞に関する分子生物学研究は増殖, 細胞周期, DNA複製, 転写や翻訳などが分子レベルで把握されるようになった。②がん化ならびにがんの悪性化を特徴づける分子的背景を担う因子が次々に明らかにされていった。特にがん遺伝子やがん抑制遺伝子の発見は、が

¹久留米大学先端癌治療研究センター ²九州大学大学院医学研究院医化学分野 ³産業医科大学医学部分子生物学

んの生物学的性質の分子基盤を確実なものにした。③がんはがん細胞だけでなく血管、細胞外基質、様々な血球細胞、線維芽細胞などを含む間質細胞から構成されており、異なる細胞間の互いの反応やサイトカインや因子などが介在するがんの微小環境が明らかになりつつある。更に、④最近の個別化医療(オーダーメイド)の概念の導入¹⁻³⁾は、個々のがんの特徴の遺伝的背景や発現パターンを把握することの重要性^{4,5)}を我々に提示しつつある。

我が国においては1997年に‘がん分子標的研究会’が発足し、現在までに着実な歩みを進めてきている⁶⁾。この研究会で発表される‘分子標的’は毎年毎年その数が増加している。増殖因子受容体とそのシグナル伝達因子、細胞周期制御因子、がん遺伝子/抑制遺伝子、血管新生因子、浸潤/転移関連因子、テロメラーゼ、接着因子、分化因子、分子シャペロンなど実に多岐にわたっている。これらの数多くの因子の中から、がん患者の治療へ応用できる‘本物の分子標的’を選択することが重要な我々の課題である。

I. 分子標的治療の現状

どんな分子標的をベンチサイドから選択してベッドサイドへの治療戦略を目指すかは各々の研究者にとって大きな課題である。以下に著者らの幾つかの意見を述べる。

1. 臨床効果を示す分子標的薬剤から学ぶ

臨床試験の結果、がん患者に應用されている幾つかの治療薬が知られている(本誌, ‘治療法の進歩’の編参照)。Glivec, Iressa, Herceptin や Rituximab などがなぜ抗がん効果を示すことができるのかを考えることも大切である。Iressa や Herceptin が標的とする EGF 受容体をはじめとする HER ファミリー蛋白は、実に数多くの種類のタイプのがんで発現していることが報告されている。多くの増殖因子受容体ファミリーの中で、HER ファミリー蛋白が増殖や細胞死の制御に特に大きな役割を担っているためかもしれない。更に、臨床応用の対象になっている肺がんや乳がんにおいて EGF 受容体フ

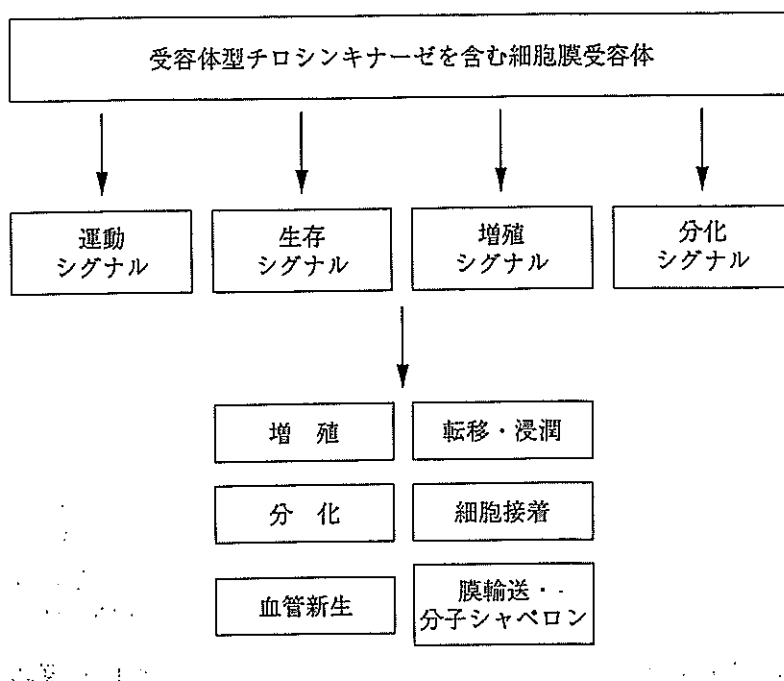
ファミリーは特別なシグナル伝達を担っているのだろうか? いずれにせよ、肺がんや乳がんにおいて感受性の有無を決める機序と関与する分子標的を明らかにすることが大切である。個々のがんの増殖や生存シグナルが標的とする EGF 受容体やその他の分子に、いかに緊密に依存しているかが、感受性や治療効果を左右するうえで大きな鍵となる⁷⁾。

他方、EGF 受容体が広い発現パターンを示すのに比べ、Glivec や Rituximab が標的とする Bcr-abl や CD20 はその対象とするがんは白血病やリンパ腫と限られている。これは、これらの分子標的が各々のがんの発症と特異的に関連しているためである。しかし、Glivec が骨髄性白血病だけでなく c-Kit が責任遺伝子といわれる gastrointestinal stromal tumor (GIST) に対しても効果を示すことは、標的分子の構造または機能の類似性を示唆して興味深い。現在、Ras 阻害剤や HDAC 阻害剤、また Flavopiridol などの臨床試験が開始されているが、有効な新しい薬剤の登場を期待したい(図 1)。

EGF 受容体に代表される受容体型チロシンキナーゼはがん細胞の運動、生存(細胞死)、増殖や分化のシグナル伝達を活性化する。したがってチロシンキナーゼ阻害剤を投与することによって細胞分裂だけでなく分化、接着、細胞死、血管新生また転移・浸潤などを阻害し、抗がん効果を示すことが期待される。しかし、チロシンキナーゼ阻害剤の投与によって各々のシグナルや生物活性が特異的に生体内で阻害された結果、抗がん効果を示しているのだという確証を得ることは容易なことではない。臨床検体でチロシンキナーゼ活性が確かに影響を受けているか否かを実証(proof of principle)するアッセイ系を構築することは重要な命題の一つである^{8,9)}。

2. 血管新生阻害剤などの分子標的薬剤と、これまでの抗がん剤とうまく併用することが大切である

がんの血管新生を標的とした血管新生阻害剤の開発は、がん細胞自身でなくその間質を対象とすることにより、これまでの抗がん剤と全く異なる新しい治療概念を提示した^{10,11)}。す



薬剤：Glivec (Bcr-abl)^a Ras 阻害剤^b
 Iressa (EGFR)^a HDAC 阻害剤^b
 Herceptin (HER2)^a Flavopiridol^b
 Rituximab (CD20)^a Raditicol^b
 Avastin (VEGF)^a

図1 がん細胞の増殖シグナルと分子標的薬剤の標的

IressaやHerceptinは受容体型チロシンキナーゼを標的とする分子標的薬剤である。がん細胞は受容体型チロシンキナーゼを活性化することによって運動、生存、増殖や分化のシグナルを誘導する。その結果、がんの悪性形質が獲得される。これらの受容体、また関連する因子を阻害する分子標的薬剤が現在ベッドサイドで使用されたり(a)、試験中であつたり(b)するが、それらの薬剤を列挙している。

なわち、血管新生ががんの増大だけでなく浸潤・転移、更に発がんにも深く関与することから、がんの新しい治療戦略を提示できると発表したFolkman博士の最初の提言に、多くの期待がかけられた。マトリックスメタルプロテイナーゼ、インテグリン、血管内皮増殖阻害ペプチド、血管新生因子(VEGF, bFGFなど)とそれらの受容体などを標的とした数多くの血管新生阻害剤が開発され臨床試験が進められた。しかし、それらのほとんどは臨床効果において有効であるという報告はみられなかった。

米国臨床腫瘍学会(2003年6月)でVEGF抗体であるAvastinをCPT-11/5-fluorouracil/leucovorinと併用することにより、進行性大腸がん患者の生存率を有意に延長させることが報告

された。VEGF受容体の阻害剤は効果がみられなかったという臨床試験の報告に比べVEGF標的薬剤の効果がみられたという報告は、非常に勇気づけられるものである。併用するがん化学療法によって、がんの分子標的の量また質的変化によって高感受性になるか否かを明らかにすることは、分子標的薬剤と抗がん剤との併用療法を展開するうえで大切である。

3. 分子標的薬剤の出現は克服すべき新たな課題を提示する

これまでの抗がん剤を適切に使用するためにオーダーメイド医療が必須であることが最近しばしば言及されている(図2)¹⁾。ヒトゲノムを基盤とする薬理ゲノム学の展開は、解毒排泄や不活化に関与する酵素やトランスポーター群に

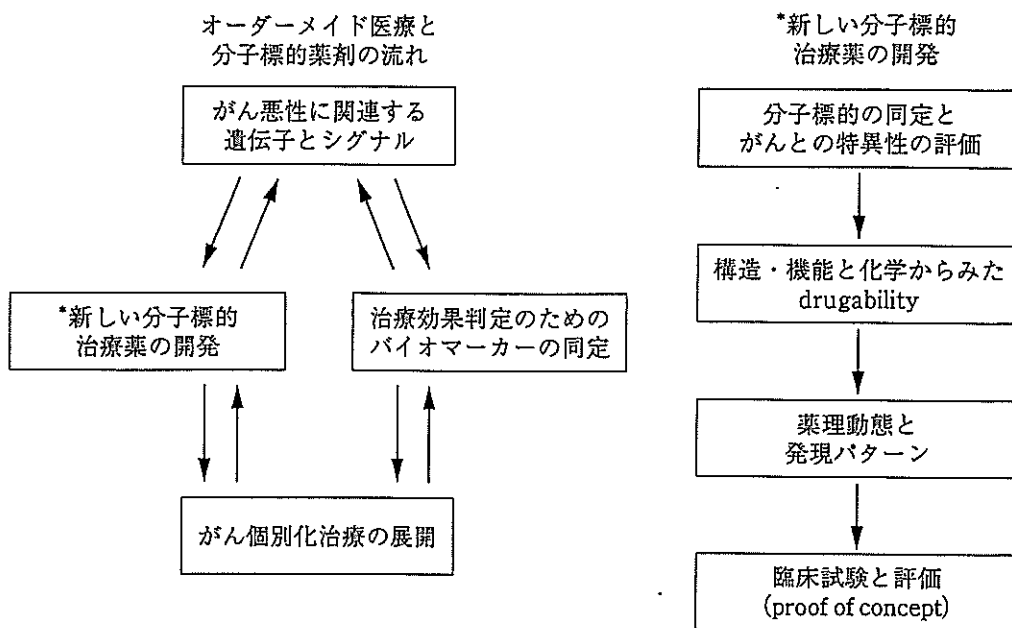


図2 がん分子標的薬剤の開発と個別化医療(オーダーメイド)の展開

がんの悪性に関連する分子標的を探索したり発見することは新しい分子標的薬剤の開発のみならず、それらの薬剤の効果判定のためのマーカーとして多大な貢献をする。その結果、オーダーメイド医療の展開が可能となる。特に治療薬の開発において各々の分子が薬の標的としてよいかどうか、更に治療へ応用される際にはきちんとした定量的評価が要求される。

そのためには情報の流れが片方向だけでなく両方向が必要であり、フィードバックシステムを構築することが大切である。更に、分子標的治療薬の開発については右欄*に示している。

ついて活発な研究が展開されている。遺伝子発現パターンや遺伝子多型を明らかにすることはこの分野に大きく貢献すると考えられる。一方、これまでの抗がん剤でしばしば問題となってきた‘耐性がん’の出現は分子標的薬剤についても問題となっている。特に小分子の標的薬剤である Iressa や Glivec など、また耐性がんが誘導される。この耐性出現の機序を明らかにし、耐性克服への取組みもまた分子標的治療の大切な課題である。

II. これからの展望

Iressa の臨床応用は進行性非小細胞肺癌患者に対して、20% 近い人でがんの縮小がみられるという。治療効率も女性の非喫煙者で腺がんであれば40%以上と高くなることも知られている⁹⁾。この臨床報告は極めて示唆的である。なぜ性別の違いがあり、腺がんと扁平上皮がんの違いがあるのだろうか？この貴重な臨床効

果の知見を基に、機序を明らかにすることができれば、更に分子標的薬剤による治療法を向上させることができるであろう。他方、Iressa の副作用として注目されている間質性肺炎は約3%の患者に出現するという。この肺炎がなぜ誘導されるのかは大きな問題であるとともにその機序を明らかにすることも緊急な課題である。

分子標的薬剤もまた各々の薬剤動態と関連する代謝酵素やトランスポーターを同定することが大切である。更に、ゲノム遺伝子多型を検討すると同時に、がん化や薬剤投与による体細胞遺伝子変化や蛋白レベルでの発現プロファイルの変化を明らかにすることも大切である¹²⁾。

がんの悪性形質と関連する遺伝子やシグナルを具体的に把握することは、分子標的治療薬を開発することに貢献するだけでなく、治療効果判定のためのバイオマーカーとしても有用である(図2)。その結果、分子標的治療薬の臨床応用に際して、オーダーメイド療法の実施も可能

となることが期待できる。最も重要なことは、必ずその情報をフィードバックするシステムを新しい分子標的の発見と関連薬剤の開発、それ構築することであると考える¹²⁾。
 に続く臨床への応用の流れを一方向だけでなく、

■ 文 献

- 1) Workman P: The opportunities and challenges of personalized genome-based molecular therapies for cancer: targets, technologies, and molecular chaperones. *Cancer Chemother Pharmacol* 52(Suppl 1): s45-s56, 2003.
- 2) Adlard JW, et al: Prediction of the respond of colorectal cancer to systemic therapy. *Lancet Oncol* 3: 75-82, 2002.
- 3) 前原喜彦, 馬場秀夫: EBM に基づいた癌の薬物療法(特集). *臨牀と研究* 80: 1-6, 2003.
- 4) 清水信義: ゲノム: 大規模シーケンスと病因遺伝子の解明(基礎). *現代医療* 32: 47-54, 2000.
- 5) 中村祐輔, 菅野純夫: ゲノム研究の現状と医学への応用(対談). *現代医療* 32: 2-13, 2000.
- 6) 鶴尾 隆: 癌の分子標的治療オーバービュー(特集). *現代医療* 32: 20-25, 2000.
- 7) Ono M, et al: Sensitivity to gefitinib (Iressa: ZD1839) in non-small cell lung cancer cell lines correlates with dependence on the EGF receptor/ERK1/2 and EGF receptor/AKT pathway for proliferation. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2004. (in press)
- 8) 西條長宏(特撰企画): 癌ゲノム薬理学(特集). *血液・免疫・腫瘍* 8: 12-63, 2003.
- 9) 楠本 茂, 西條長宏: 新しい分子標的治療薬(特集). *臨牀と研究* 80: 92-99, 2003.
- 10) Marmé D: The impact of anti-angiogenic agents on cancer therapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 129: 607-620, 2003.
- 11) 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.
- 12) 西條長宏ほか: トランスレーショナルリサーチ. *Cancer Frontier* 4: 221-230, 2002/2003.

4. 抗癌剤の感受性を担う分子標的と オーダーメイド化学療法

河野公俊, 和泉弘人, 吉田 毅, 五十嵐友紀, 若杉哲郎, 新名一郎,
 舛井泰朋, 今泉拓也, 桑野信彦

臨床上, 抗癌剤耐性は癌化学療法において大きな障害である。薬剤感受性/耐性研究はより有効な治療を考案し, 個別化治療や耐性克服を進め, 治療成績を上げるうえで大切な研究課題である。DNA マイクロアレイや組織アレイ, さらにプロテオーム解析などゲノムワイドな研究法の出現により, 薬剤感受性/耐性研究も様変わりしてきている。これらの研究から, 将来個々の患者に対し最適な治療が選択できるようになる可能性が開けてくるだけでなく, 耐性克服や創薬のための新しい分子標的の同定が進んでいくと考えられる。本稿ではわれわれが進めてきたABCトランスポーターの研究に加え, ゲノムを基盤としたこれからの耐性研究について概説する。

はじめに

癌化学療法は白血病などの血液疾患のみならず, 種々の固形癌の治療にも重要な位置を占めてきている。残念ながら現在臨床使用されている薬剤では治療効果も限られており, 個人差があることもわかってきた。不適切な治療は副作用の増大や耐性形質の出現につながると考えられる。これまで, さまざまな癌細胞株を用いて種々の薬剤に対する耐性株の樹立が進めら

れ, その解析から多くの薬剤感受性/耐性因子が同定された。このことは, 薬剤耐性株の樹立は重要な研究手法であることを如実に示している。これまでの成果について, その概要を表1にまとめた。薬剤に対する耐性機構にはこれらの耐性因子が複数かわり, その制御は多岐に渡ることが知られている。なかでも, Lingらに発見され1980年代にクローニングされたP-糖タンパク (p-gp) 研究は, その後, 90年代に入ってColeらによりクローニングされたMRPとともに, その後

[キーワード&略語]

ABCトランスポーター, YB-1, 発現プロファイル, オーダーメイド化学療法, 分子標的

ABC: ATP binding cassette (多剤耐性ATP結合カセット)

MDR1: multidrug resistance 1 (多剤耐性1)

MRP: multidrug resistance related protein (多剤耐性関連タンパク質)

YB-1: Y-box binding protein (Yボックス結合タンパク質)

PCNA: proliferating cell nuclear antigen (増殖細胞核抗原)

SNP: single nucleotide polymorphism (一塩基多型)

Molecular target for chemosensitivity and order-made chemotherapy

Kimitoshi Kohno¹⁾/Hiroto Izumi¹⁾/Takeshi Yoshida¹⁾/Tomonori Igarashi¹⁾/Tetsuro Wakasugi¹⁾/Ichiro Niina¹⁾/Yasutomo Momii¹⁾/Takuya Imaizumi²⁾/Michihiko Kuwano²⁾: Department of Molecular Biology, University of Occupational and Environmental Health¹⁾/Research Center for Innovative Cancer Therapy, Kurume University²⁾ (産業医科大学医学部分子生物学¹⁾/久留米大学先端癌治療研究センター²⁾)

表1 これまでに解析された薬剤耐性関連分子

核内	
1) DNA修復系	塩基除去修復酵素 (ERCC1 など) ミスマッチ修復酵素
2) 転写系	転写因子 (YB-1など) 癌抑制遺伝子 (p53, p73)
3) DNA構造変換系	DNAトポイソメラーゼ I/II
細胞質内	
1) 低分子	グルタチオン
2) 解毒/抱合系	メタロチオネイン p450 グルタチオン-S-トランスフェラーゼ
3) 酸化・還元系	チオレドキシン
4) 薬剤活性・不活性系	エステラーゼ ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ アスパラギナーゼ
5) ミトコンドリア系	Bcl-2, Bax
細胞膜	
1) ABCトランスポーター	MRPs P型ATPase (ATP7B)
2) その他のトランスポーター	非P型V-ATPase (プロトンポンプ)

のABCトランスポーター^{※1}研究の口火を切った。現在までに約50種のABCトランスポーターが確認されている。

一方、ヒトゲノム情報が利用可能になった現在、多岐に渡る薬剤感受性/耐性関連遺伝子の網羅的解析が可能となってきている。例えば、DNAマイクロアレイによる発現遺伝子の解析や、一塩基多型、DNAのメチル化、DNase I感受性領域などのゲノムワイドでの解析は今後の新しい研究手段として注目されてくると考えられる。すなわち薬剤耐性に関しても、DNA/クロマチンのゲノムワイドの変化の比較や、RNAおよびタンパクレベルでのゲノムワイドの発現プロファイルの比較は、分子標的の同定や創薬に向けた大切な研究テーマとなりつつある。

■ ABCトランスポーターを中心としたこれまでの耐性研究

P-糖タンパクの発現はさまざまな癌細胞で観察されるだけでなく抗癌剤耐性細胞でも観察され、自然耐性と獲得耐性に関与する多剤耐性遺伝子としても認知されている。その後発見されたMRP遺伝子も同様に多剤耐性形質を担っている。'90年代より飛躍的に進んできたABCトランスポーター研究の結果、現在までに約50種の遺伝子が見出されている¹⁾。これらは、正

常組織においておのおの特異な発現パターンを示し、生体物質の正常代謝に関与しているだけでなく、想定されるさまざまな外界からのストレスに対応し、生体防御機能にも関与するのではないかと考えられている。トランスポーターの突然変異による遺伝的疾患も知られている。表2に代表的なABCトランスポーター13種と2つのユニークなトランスポーターについて染色体位置、mRNAの長さ、コードするアミノ酸数、耐性に関与する薬剤、基質となる薬剤、生理的基質と生理機能、関連疾患などの情報をデータシート形式でまとめた。ABCトランスポーターの1つであるMDR1については、その発現が患者に対する化学療法を無効にし、予後不良となることが広く認知されている。MRP1についても、その発現が予後と関連することが報告されている。そのほかのMRPファミリーについては、現在解析が進みつつある。ABCトランスポーターとは異なるトランスポーターとして、ATP7B²⁾

※1 ABCトランスポーター

ATP結合領域(ATP binding cassette)を2カ所もつ膜タンパクであり、現在約50個の遺伝子が同定されている。P-糖タンパク質は、真核生物で最初にみつかったABCトランスポーターであり、脂溶性異物を細胞膜中で捕らえ、ATP加水分解のエネルギーを利用して細胞外へ排出する防御機構の最前線として働いている。