

【表 1】肝癌で発現が変化する遺伝子と関与する経路

経路	癌遺伝子(細胞増殖)	癌抑制遺伝子(細胞増殖抑制)
p53/ARF/MDM2 経路		p53, ARF, p21, p27
RB/INK4 経路		RB, INK4a
Wnt/ $\beta$ -catenin 経路	$\beta$ -catenin	APC, AXIN, GSK3 $\beta$ , SFRP2
Ras/MAPK 経路	TGF $\alpha$	RASSF1A
PI3K/Akt 経路		PTEN

癌の解析では、ゲノム全体で 11,000 カ所以上の体細胞変異が同定され、癌抑制遺伝子やリン酸化蛋白質遺伝子の変異が高頻度であることが報告されている<sup>2)</sup>。

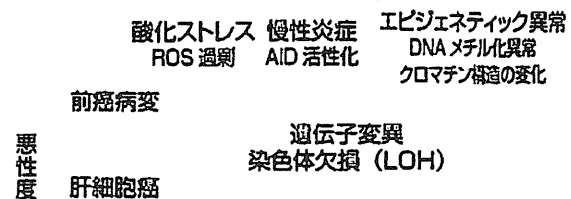
## 多段階発癌早期の分子基盤

肝癌の早期診断や肝発癌の予防という観点から、前癌状態において多段階発癌早期の分子基盤の解明が求められる。すなわち、前述の遺伝子変異はあくまで多段階発癌の終末像である肝細胞癌での知見であり、大腸癌における APC 遺伝子変異のような前癌状態を示す遺伝子変異(起始遺伝子変異)の解明には至っていない。しかし、肝発癌において肝炎の持続や肝硬変が先行することは疫学的に明らかであり、炎症やそれに伴う酸化ストレスにより DNA 損傷やエピジェネティックな異常が蓄積していく過程が、多段階発癌早期の分子基盤を担うものと考えられる(図 1)。

## 酸化ストレスとしての ROS

活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)とは、スーパーオキシド(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)、過酸化水素(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、ヒドロキシラジカル( $\cdot$ OH)などの酸素ラジカルの総称である。肝細胞内での主な ROS 産生の際はミトコンドリアの電子伝達系であり、正常な状態でも消費される酸素の 2~5%は O<sub>2</sub><sup>-</sup>になるとされている。生成された O<sub>2</sub><sup>-</sup>

慢性肝炎・肝硬変



【図 1】肝発癌における遺伝子発現異常の蓄積

は消去系であるスーパーオキシドデスムターゼ(SOD)の作用により H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> になるが、その一部が鉄イオンあるいは銅イオンの存在下でもっとも毒性の強い  $\cdot$ OH になる。その結果、誘導された ROS により DNA 損傷を含む細胞障害が惹起される。

肝硬変時にはさまざまな要因で ROS が増加している。特に肝硬変の主たる原因である C 型慢性肝炎では病勢の進行に ROS が深く関与しており、C 型慢性肝炎や肝硬変に対する瀉血療法は、肝臓に蓄積した過剰な鉄を除去することで ROS による病勢の軽減を目的とした治療法である。

## 活性化誘導シチジンデアミナーゼ (AID)

活性化誘導シチジンデアミナーゼ(activation-induced cytidine deaminase: AID)は、生理条件では活性化した B リンパ球のみに発現し、DNA 配列上のシトシン(C)をウラシル(U)に変化させる。その後の DNA 修復過程において、

ウラシルがさまざまな塩基へと変換されることで結果的に遺伝子変異が生じ、免疫グロブリンの多様性獲得やクラススイッチに関与する。一方、慢性炎症下では、NF- $\kappa$ B 経路を介して本来発現していない上皮細胞や肝細胞にも AID の発現が異所性に誘導されることが判明しており、慢性肝疾患からの肝発癌への関与が示唆されている<sup>3)</sup>。

## エピジェネティックな変化

慢性炎症や肝硬変における遺伝子発現の変化として、DNA の塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現変化、すなわちエピジェネティック (epi-genetic) な変化も重要である。エピジェネティクスとは、「ゲノム DNA の配列には変化を起こさずに、遺伝子の働き方を調節する仕組み」のことである。一方、DNA 配列が変化すればジェネティック (genetic) な変化(変異)と呼ばれる。

発癌に関するエピジェネティック異常としては、癌抑制遺伝子の DNA メチル化による発現低下や、miRNA の発現異常、ヒストン蛋白の翻訳後修飾の変化などが挙げられる。近年では、肝臓における DNA・蛋白複合体(クロマチン)の高次構造の変化による新しい遺伝子発現調節メカニズムが報告されるなど、この分野の研究は急速に進んでいる<sup>4)</sup>。さらにポストゲノムプロジェクトの1つとして、あらゆるエピゲノムマーカーを探索し、さまざまな組織細胞でのエピジェネティックな状態を網羅的に解析する「国際エピゲノムコンソーシアム (International Human Epigenome Consortium : IHEC)」が現在進行中であり、今後この分野の研究はさら

に加速する可能性がある。

## おわりに

肝臓の治療法は進歩しており、肝切除術 (TACE)、経血管的治療法 (TAI)、動注化学療法、放射線療法、ラジオ波熱凝固療法 (RFA) などの局所療法、さらには肝移植が選択できる時代となった。しかし、すでに進行した状態で肝臓が見つかる場合も多く、また C 型肝硬変を背景に発生した肝臓では、仮に肝切除や RFA などの根治的治療を行っても年率 15~20% と高率に再発を認め、肝臓は依然として予後不良の癌腫の一つである。したがって、予後改善のためには発癌予防が重要であることは言うまでもない。慢性肝炎・肝硬変からの肝発癌が多くを占めることは疫学的にも明らかであることから、慢性肝疾患からの発癌メカニズムの解明は、肝臓の予後改善に大きく貢献するものとして期待される。

## 文献

- 1) Kumar V, et al : Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 43 : 455-458, 2011
- 2) Totoki Y, et al : High-resolution characterization of a hepatocellular carcinoma genome. *Nat Genet* 43 : 464-469, 2011
- 3) Chiba T, Marusawa H : A novel mechanism for inflammation-associated carcinogenesis : An important role of activation-induced cytidine deaminase (AID) in mutation induction. *J Mol Med* 87 : 1023-1027, 2009
- 4) Watanabe T, et al : Higher-order chromatin regulation and differential gene expression in the human tumor necrosis factor/lymphotoxin locus in hepatocellular carcinoma cells. *Mol Cell Biol* 32 : 1529-1541, 2012

## Peretinoin

### —非環式レチノイドによる肝細胞癌再発抑止—

泉 和 寛\* 渡 邊 丈 久\* 立 山 雅 邦\*  
 田 中 基 彦\* 佐 々 木 裕\*

索引用語：Peretinoin, 非環式レチノイド, 肝細胞癌, cancer chemoprevention, clonal deletion

#### 1 はじめに

肝細胞癌 (Hepatocellular carcinoma; HCC) を含めたさまざまな癌種において、「cancer chemoprevention (癌化学予防)」という治療戦略が注目されてきている。これは1970年代初頭にSpornが提唱した「前癌細胞をその段階で停止 (arrest), あるいは正常の方向に戻す (reverse) ことによって, 癌への進展を予防する」という概念に基づくものである<sup>1)</sup>。

近年の診断・治療法の進歩にも関わらず, HCCはいまだに最も予後不良な癌種のひとつである。その理由として, 年率5~7%の割合で慢性肝炎や肝硬変を母地に発生すること, たとえ初発HCCに対して外科的切除やRFA (ラジオ波熱凝固療法) による根治治療を行っても, 年率10~25%と高率に再発をきたすことなどがあげられる<sup>2,3)</sup>。とりわけ高率な再発の機序のひとつとして, 治療後の残肝には前癌病変~顕性化していない微細癌

の clone, いわゆる“癌の芽”が多く存在し, 多中心性に発癌がもたらされることが考えられる。そのため「cancer chemoprevention」の概念に基づいて, 根治治療後のHCC再発を予防するためにインターフェロンやビタミンKなどの有用性が検討されてきたが, 大幅な予後改善には至っていない。そこで“癌の芽”を細胞死 (アポトーシス) や悪性度の低い細胞への分化誘導により除去する“clonal deletion”という考え方を導入して再発を抑止できれば, HCCの大幅な予後改善につながると考えられる (図1)。

本稿で述べる合成レチノイドであるPeretinoinは, “clonal deletion”の概念に基づいて開発された, HCCの再発予防が期待される薬剤である<sup>4)</sup>。

#### 2 レチノイド代謝とPeretinoinの作用機序

レチノイドとはビタミンA (レチノール)

Kazuhiro IZUMI et al: Recurrence suppression of hepatocellular carcinoma by acyclic retinoid

\*熊本大学附属病院消化器内科 [〒 860-8556 熊本県熊本市中央区本荘 1-1-1]

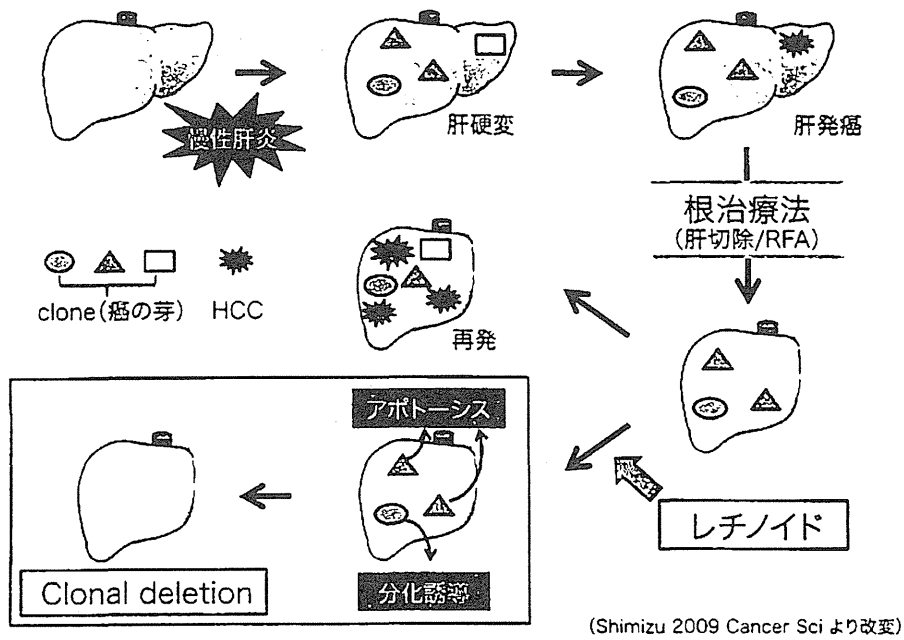


図1 Clonal deletion の概念

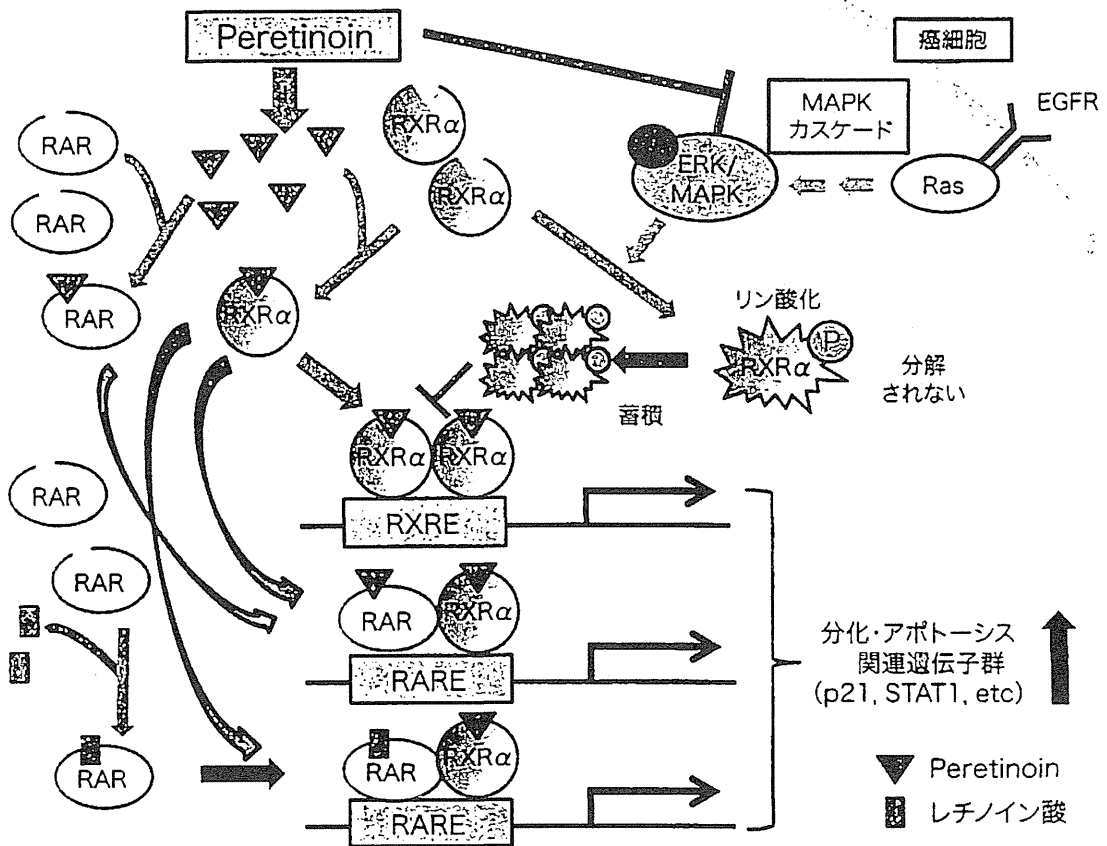


図2 癌細胞におけるRXR $\alpha$ のリン酸化による失活とPeretinoinによる機能回復

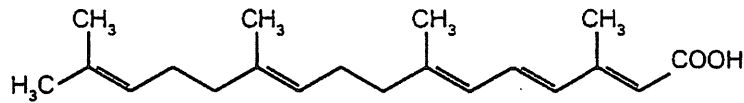


図3 Peretinoinの構造式

およびその誘導体・類縁化合物の総称である。生体内ではレチノイン酸 (RA) として存在し、非ステロイド系核内受容体であるレチノイン酸受容体ファミリーのレチノイン酸受容体 (retinoic acid receptor; RAR) やレチノイドX受容体 (retinoid X receptor; RXR) に結合する (それぞれ  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  のサブユニットが存在する)。このようにリガンドが結合したRXRとRARは、RXRホモ二量体やRXR-RARヘテロ二量体を形成し、DNA上のそれぞれの応答領域である retinod X response element (RXRE) と retinoic acid response element (RARE) に結合することで、組織の形態形成、細胞分化、アポトーシスに関連する遺伝子発現を誘導する。またRXRはRARのみならず、甲状腺ホルモン受容体やビタミンD受容体などの非ステロイド系核内受容体とヘテロ二量体を形成し、さまざまな応答配列との結合を介して種々の遺伝子の発現に関わっている。このためRXRの発現異常・機能異常は異型化や癌化をもたらすと考えられ、癌の予防・治療において重要な標的となり得る。実際に造血系腫瘍、皮膚癌、乳腺癌、膀胱癌など複数の癌腫で合成レチノイドの有効性が証明されている<sup>5,6)</sup>。

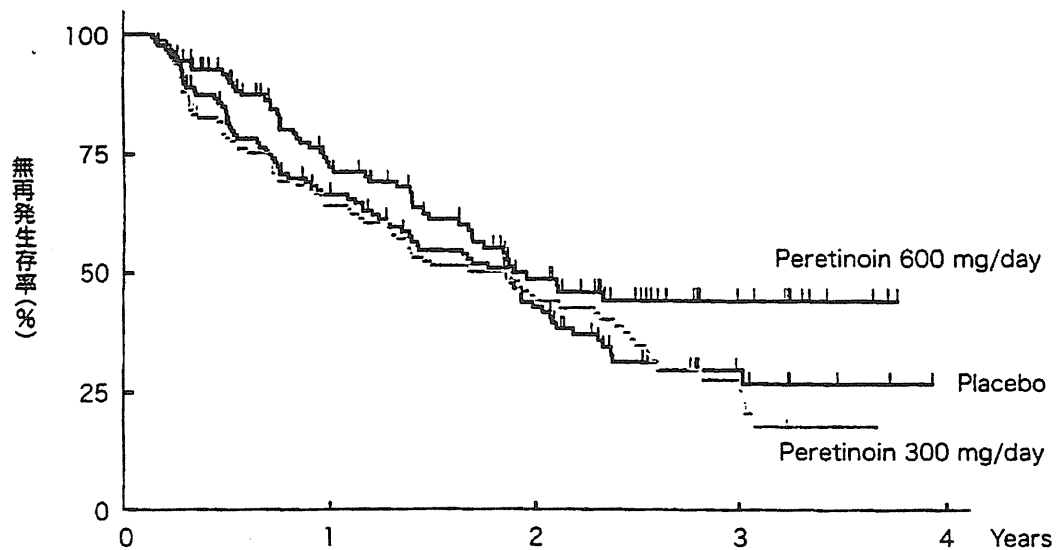
癌細胞内ではレチノイドの代謝系に異常が生じており、細胞内RA濃度が著明に低下している<sup>7)</sup>。また、癌細胞では活性化したMAPK経路がRXR $\alpha$ を恒常的にリン酸化することで、転写活性機能が消失している<sup>8)</sup>。さらにリン酸化されたRXR $\alpha$ はプロテオソームで分解されずに細胞内に異常蓄積し、

dominant negative様式に正常のRXRの働きを阻害する。これらの結果、細胞分化やアポトーシスを誘導する遺伝子の発現が抑制される(図2)<sup>9)</sup>。

一方、PeretinoinはRXRやRAR(特にRXR $\alpha$ )を標的にした経口非環式レチノイドである(図3)。非環式レチノイドは癌細胞内のRA濃度を上昇させるとともに、活性化MAPK経路によるRXR $\alpha$ のリン酸化を阻害しRXRの機能を回復させる。また自らがリガンドとなりRXR、RARと結合し、正常な細胞分化やアポトーシスを担う遺伝子の発現を誘導し腫瘍細胞の増殖を抑制すると考えられる<sup>10,11)</sup>。さらに近年の研究では、非環式レチノイドの標的分子としてEGFR、FGFR、PDGFRなどの受容体型チロシンキナーゼやそのリガンドが報告されており、レチノイドの癌細胞増殖抑制の新たな作用機序が示唆されている。

### 3 臨床試験でのPeretinoin有効性の評価

レチノイドの分子生物学的な作用機序を背景に、臨床でのcancer chemopreventionが実践されてきている。具体的には、初発HCCに対して根治治療を受けた症例を対象に、非環式レチノイド600mg/日を1年間投与し、その後の再発が有意に抑制されたことを1996年にMutoらは明らかにした<sup>12)</sup>。また、その後の長期解析では非環式レチノイド投与終了後も約4年間にわたってHCCの再発が抑制されたと報告している<sup>13)</sup>。これらの結果は、本剤のclonal deletionの作用を裏付ける



Hazard Ratio	Hazard Ratio			
	< 1 year	1~2 years	≥ 2 years	Overall study period
Peretinoin 600 mg / day vs Placebo	0.72 (0.45~1.17)	0.93 (0.52~1.66)	0.27 (0.07~0.96)	0.73 (0.51~1.03)
Peretinoin 300 mg / day vs Placebo	1.11 (0.73~1.70)	0.89 (0.50~1.60)	1.19 (0.55~2.60)	1.06 (0.78~1.45)

(Okita K, et al : ASCO 2010)

図4 Peretinoin の肝細胞癌再発抑制効果(第Ⅱ / Ⅲ相臨床試験)追跡期間中央値: 2.5 年

ものである。さらに2005年3月～2009年8月に行われたC型肝炎関連のHCC再発予防に対するPeretinoinの効果と容量反応性についての多施設共同無作為化二重盲検試験(第Ⅱ / Ⅲ相試験)では、初発HCCと初回再発HCCに対して切除/RFAによる治療を受けたe01症例を対象に、プラセボ群と300 mg/日群、600 mg/日群が比較検討され、600 mg/日群において再発の抑制効果が示された(図4)。主な副作用はアルブミン尿、高血圧、頭痛などであり、忍容性に関しては副作用による中止例が600 mg/日群では20.5%、300 mg/日群では9.9%、プラセボ群では4.7%と報告されている<sup>13)</sup>。

さらに2012年10月現在、第Ⅲ相臨床試験として、C型肝炎ウイルス陽性のHCC根治

術後の症例を対象に、プラセボを対照としたPeretinoin 600 mg/日投与の再発抑制効果の検証が進行中である。

#### 4 おわりに

HCCは根治治療後も高頻度に再発が認められるため、予後向上のために再発予防への取り組みが急務である。Peretinoinは癌細胞に正常細胞への分化や細胞死を促すことで、発癌や再発を抑止するという作用機序を有しており、既存の抗癌剤や分子標的治療薬とは明らかに一線を画するものである。現在進行中の臨床試験をはじめとしてさらなる検討により、HCCにおけるcancer chemopreventionにPeretinoinが画期的な進歩をもたらすものとして期待される。

文 献

- 1) Sporn MB, Newton DL : Chemoprevention of cancer with retinoids. *Fed Proc* 38 : 2528-2534, 1979
- 2) Tsukuma H, Hiyama T, Tanaka S et al : Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. *N Engl J Med* 328 : 1797-1801, 1993
- 3) Kumada T, Nakano S, Takeda I et al : Patterns of recurrence after initial treatment in patients with small hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 25 : 87-92, 1997
- 4) Muto Y, Moriwaki H, Ninomiya M et al : Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid, polyprenoic acid, in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatoma Prevention Study Group. *N Engl J Med* 334 : 1561-1567, 1996
- 5) Masetti R, Biagi C, Zama D et al : Retinoids in pediatric onco-hematology: the model of acute promyelocytic leukemia and neuroblastoma. *Adv Ther* 29 : 747-762, 2012
- 6) Lever L, Marks R : Topical retinoid treatment for skin cancer : a review. *Skin Pharmacol* 4 : 125-131, 1991
- 7) Muto Y, Moriwaki H : Antitumor activity of vitamin A and its derivatives. *J Natl Cancer Inst* 73 : 1389-1393, 1984
- 8) Matsushima-Nishiwaki R, Okuno M, Adachi S et al : Phosphorylation of retinoid X receptor alpha at serine 260 impairs its metabolism and function in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 61 : 7675-7682, 2001
- 9) Adachi S, Okuno M, Matsushima-Nishiwaki R et al : Phosphorylation of retinoid X receptor suppresses its ubiquitination in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 35 : 332-340, 2002
- 10) Araki H, Shidoji Y, Yamada Y et al : Retinoid agonist activities of synthetic geranyl geranoic acid derivatives. *Biochem Biophys Res Commun* 209 : 66-72, 1995
- 11) Matsushima-Nishiwaki R, Okuno M, Takano Y et al : Molecular mechanism for growth suppression of human hepatocellular carcinoma cells by acyclic retinoid. *Carcinogenesis* 24 : 1353-1359, 2003
- 12) Takai K, Okuno M, Yasuda I et al : Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid in patients with hepatocellular carcinoma. Updated analysis of the long-term follow-up data. *Intervirology* 48 : 39-45, 2005
- 13) Okita K, Matsui O, Kumada H et al : Effect of Peretinoin on recurrence of hepatocellular carcinoma : Results of a phase II / III randomized placebo-controlled trial. *ASCO* 2010

\* \* \*



