

論文内容の要旨

ERK-MAP キナーゼ経路の選択的遮断を基盤とした新規がん化学療法の開発

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻

渡邊 一石

【目的】細胞増殖・運動・生存などの制御において中心的な役割を果たしている ERK-MAP キナーゼ経路の機能亢進は、細胞がん化と密接に関連している。本研究では、ERK-MAP キナーゼ経路の恒常的活性化が認められるヒトがん細胞に対して、その選択的遮断が効果的な「制がん」に結びつく可能性を、それが様々な作用機構を持つ抗がん剤の細胞死誘導効果を増強する可能性と併せて、各種がん細胞株を利用した培養系、及びそれらを移植した Xenograft モデルマウス系で検討した。

【方法・結果】

1. ERK-MAP キナーゼ経路の恒常的活性化が認められるヒトがん細胞株 (HT1080 [fibrosarcoma]、RPMI-SE [renal cell carcinoma]) において、MAP キナーゼキナーゼ (MEK) 阻害剤、PD98059 等でそれを選択的に遮断すると、p27^{Kip1} の発現上昇、cyclin E/Cdk2 活性の低下、pRb の脱リン酸化、S 期／M 期 cyclin の発現低下が認められ、その結果として顕著な G1 期集積が誘導された。一方、上記条件下における細胞死 (apoptosis) の誘導は低レベルであり、これだけでは効果的な「制がん」に連動しない可能性が示唆された。
2. ERK-MAP キナーゼ経路が恒常的に活性化されているがん細胞株において、MEK 阻害剤処理でそれを遮断した際、他の作用機構を持つ抗がん剤 (DNA 障害性抗がん剤 [Doxorubicin、Etoposide、Cisplatin]、代謝拮抗剤 [Cytosine β -D-arabinofuranoside]、チューブリン重合阻害剤 [Vincristine、Vinorelbine、TZT-1027]、及び微小管脱重合阻害剤 [Paclitaxel]) の細胞死誘導効果が増強される可能性を、フローサイトメトリー法で DNA 含量の低下した sub-G1 期細胞の増加を指標として解析した。その結果、ERK-MAP キナーゼ経路の選択的遮断によって、チューブリン重合阻害剤の細胞死誘導効果が顕著に増強される事を見出した。すなわち、単独では有意な細胞死を誘導しない低濃度のチューブリン重合阻害剤が、MEK 阻害剤と併用する事で極めて顕著な細胞死を誘導した。上記薬剤の併用効果は、ERK-MAP キナーゼ経路が恒常的に活性化されている様々ながん細胞株に共通して認められた。さらに、上記薬剤

を併用処理したがん細胞においては、Annexin V 染色陽性細胞の増加、Caspase-3 の活性化等を認め、そこでは apoptosis が誘導されていることを確認した。

3. ERK-MAP キナーゼ経路の遮断によるチューブリン重合阻害剤の抗腫瘍効果増強を動物個体レベルで確認する目的で、HT-29 細胞 (colon adenocarcinoma ; B-raf 変異) 及び HT1080 細胞 (N-ras 変異) を移植した Xenograft モデルマウスに、PD184352 (MEK 阻害剤) 及び TZT-1027/Vinorelbine (チューブリン重合阻害剤) を単独、あるいは組み合わせて投与し (1 回/週)、腫瘍体積の変化を経時的に計測し、試験終了時に腫瘍重量、及び腫瘍組織像 (HE 染色) を比較した。その結果、PD184352 と併用する事で、TZT-1027、Vinorelbine の抗腫瘍効果がいずれも顕著に増強される事を見出した。例えば、HT-29 細胞を利用した解析において、PD184352 (200 mg/Kg ; 単独では有意な腫瘍成長抑制効果を示さない) と TZT-1027 (1.0 mg/Kg ; 単独では 4 週間後に腫瘍が約 2 倍に成長) の併用は、腫瘍の成長をほぼ完全に抑制し、Navelbine (20 mg/Kg ; 単独では 2 週間後に腫瘍が約 2.5 倍に成長) との併用でも大幅な腫瘍成長抑制効果を示した。一方、HT1080 細胞を利用した解析においては、PD184352 (200 mg/Kg) と TZT-1027 (0.5mg/Kg) との併用により、2 週間後に腫瘍塊がほぼ完全に消失した。なお、薬剤処理後の各腫瘍組織像を比較したところ、上記薬剤併用処理群において特に顕著な腫瘍組織の脱落 (HT-29) 、あるいは腫瘍組織へのマクロファージ、好中球、繊維芽細胞等の浸潤 (HT1080) を認めた。また、上記薬剤併用処理条件下において、マウスの体重減少、様々な組織に対する障害等は認められなかった。

【考察】ERK-MAP キナーゼ経路の恒常的活性化が認められるがん細胞において、MEK 阻害剤を利用してそれを選択的に遮断すると、ほぼ完全に細胞増殖を抑制するが、それだけでは有意な細胞死の誘導には至らなかった。一方、ERK-MAP キナーゼ経路の遮断は上記がん細胞のチューブリン重合阻害剤に対する感受性を大幅に増強する事、それは培養細胞系だけでなく、がん細胞を移植した Xenograft 系においても顕著に認められる事を見いだした。これより、ERK-MAP キナーゼ経路の特異的遮断剤とチューブリン重合阻害剤との併用は、副作用を抑えつつ、抗腫瘍効果を相乗的に高めることができる、画期的な新規がん化学療法となる可能性が高いと考えている。