

## 分子標的治療薬の開発 ー悪性腫瘍の治癒を目指してー

(文責 輸血細胞治療部 芦原英司)

我々の教室では臨床応用を目指した腫瘍特異的な分子標的治療薬の開発に関する基礎研究、細胞免疫治療に関する基礎研究を行ってきたが、これらのうち分子標的治療薬の開発について述べさせていただく。

### ポストイマチニブ時代の慢性骨髄性白血病治療への挑戦

慢性骨髄性白血病 (chronic myeloid leukemia; CML) では、9 番染色体と 22 番染色体の相互転座 t (9;22) (q34;q11) により生じるフィラデルフィア (Ph) 染色体が観察される。この特異的再構成遺伝子 *bcr-abl* から転写、翻訳されるキメラ蛋白のもつチロシンキナーゼの異常活性化が CML の発症原因であり、無治療の場合、数年の慢性期、その後数ヶ月の移行期、急性転化期を経て死に至る。長年にわたり用いられてきたブスルファン (マブリン酸<sup>®</sup>)、ハイドロキシウレア (ハイドレア<sup>®</sup>) に加え、1980 年代からインターフェロン アルファが CML の治療に用いられるようになり、Ph 染色体が減少ないし、消失する症例も散見されたが、効果は決して十分とは言えず、また連日の皮下投与という手間や精神症状などの副作用の出現も大きな問題であった。メシル酸イマチニブ (グリベック<sup>®</sup>; IM) は Abl チロシンキナーゼ特異的阻害剤で、IM の登場により CML の治療法は一変し、Bcr-Abl を分子標的とする治療法は臨床的にすばらしい効果を示し、「IM 時代の到来」とまで評されるようになった。しかし、症例が増えるにつれ IM 耐性の出現、中枢神経再発例など IM の限界も明らかとなり、IM を凌駕する薬剤の開発が世界中で盛んに行われた。当教室でも 4 年前から日本新薬と共同で IM 耐性克服可能な新薬の開発を開始した。

まず IM と Abl 複合体の結晶構造の詳細な検討からはじめた。その結果、IM と abl 複合体に 4 つのアミノ酸によって疎水性ポケットが形成されることが明らかとなり、この

疎水性ポケットをなんらかの置換基で埋めることにより、より Abl に親和性の高い化合物が合成できることが予想された。そして IM のフェニール環に種々の置換基を導入した多くの化合物を合成し、CH あるいは CF<sub>3</sub> を導入した化合物が Abl に対して非常に強い阻害活性を示すことを見出した。次にこれらの中から各種チロシンキナーゼに対する活性、薬物動態や動物実験による安全性などのスクリーニングを行った。スクリーニングでは二つの点を重視した。一つ目は、動物実験による安全性、二つ目は Bcr-Abl に対する阻害作用が強力なことに加え、IM の耐性と関係があると注目されている Src 関連キナーゼの一つである Lyn を特異的に阻害する化合物の探索であった。多くの試行錯誤を繰り返した後、最終的に開発すべき候補薬剤をみつけ NS-187 と名づけた。

NS-187 に新たに導入した CF<sub>3</sub> が非常に重要な働きをすることがコンピューターによるドッキングモデルを用いた解析により明らかとなった。すなわち、CF<sub>3</sub> により NS-187 の Abl キナーゼの ATP 結合部位に対する親和性が飛躍的に向上することがわかった。さらにフッ素 (F) は電子を引っ張る力が強く、CF<sub>3</sub> は化合物の遠位端の回転を阻害し化合物の構造を固定し、Abl に対して最適な状態を保つのに効果を示した。この CF<sub>3</sub> の 2 つの作用が協調的に働き、NS-187 の Abl に対する親和性を飛躍的に高めている。

NS-187 は野生型のみならずほとんどの変異 Bcr-Abl に強い阻害活性を示し、さらに IM 耐性機序に関わる可能性のある Lyn も特異的に抑制し、また中枢神経白血病にも有効でありことが明らかとなった。2006 年夏から米国 MD アンダーソン癌センターを中心に第一相試験が実施されることとなった。これら臨床試験を通じて NS-187 (臨床試験時に向け INNO-406 と名称が変更された) の安全性および効果が証明され、IM 耐性に苦しむ患者のみならず、将来的には CML 治療開始時から投与可能な薬剤となることが期待される。

#### siRNA による癌治療の試み

がん細胞は細胞増殖の抑制シグナルが抑制されるか、増殖シグナルが活性化されるため生体内で制御を受けず増殖を続けるわけだが、その正のシグナルを司っている遺伝子の機能、遺伝子発現を抑制することによりがんの生長を抑止することができると思う。

RNA干渉とは2本鎖RNAによって配列特異的に標的RNAが分解され、その結果遺伝子の発現が抑制される現象で、細胞内に入った二本鎖RNAはDicerと呼ばれる蛋白質により約21から25塩基の短鎖RNA (short (あるいはsmall) interfering RNA (siRNA)) に切断され、このsiRNAがmRNAからタンパクへの翻訳の過程を阻害もたらされる。がん細胞に高発現した増殖に関わるタンパクを標的とし、合成siRNAをがん組織特異的に投与することで、siRNAのがん治療に対する医薬品としての可能性が広がり、現在多くの研究室で基礎研究が展開されている。

PLK-1 (polo-like kinase-1) は細胞周期のうちG2期の終末期、M期に発現し、紡錘体形成、染色体の分離、細胞質の分裂に関わるセリン/スレオニンキナーゼであり、頭頸部がん、肺がん、結腸がんなどで高発現することが知られていた。われわれの検討では膀胱がんにおいても高発現し、その発現頻度と組織学的分化度、筋層やリンパ管、血管への浸潤度とは有意に相関しており、PLK-1は分子標的の候補になり得ると考えられた。PLK-1に対するsiRNAをカチオン性リポソームLIC101を用いてヒト膀胱がん細胞へ導入したところ、PLK-1 siRNAは*in vitro*の系において容量依存的に、また時間依存的に膀胱がん細胞の増殖を抑制し、G2/M期で細胞回転をブロックしアポトーシスを誘導した。さらにルシフェラーゼ遺伝子を導入したヒト膀胱がん細胞を、免疫不全マウスの膀胱内に正所性に移植し作製した膀胱がんモデルマウスを用いて、PLK-1 siRNAの治療効果をIVISにより検討した。LIC101をキャリア物質としてPLK-1 siRNAを膀胱内に投与したところ、膀胱がんの増殖を有意に抑制し、生存期間の延長も認め、膀胱という閉鎖空間に発生した膀胱がんに対するPLK-1 siRNA療法は有効な治療法となり得ると考えられた。膀胱がんのほか、がん性胸膜炎、がん性腹膜炎、中皮腫なども適応疾患と

なり得ると考えられる。また siRNA をリポソームやアテロコラーゲンなどのキャリア物質と混ぜて静脈投与すると、肺、肝臓で高濃度となることが知られており、転移性肝腫瘍も siRNA 療法の適応疾患として考えられ、現在これらの担がんモデルマウスを作製し治療効果を検討している。

siRNA の医薬品としての開発は効果的で安全なドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発に関わる。安全でかつ組織特異的に運搬するキャリア物質や siRNA は製造過程において GMP (good manufacturing practice) 基準に適合した製剤化は可能なものでなければならない。現在カチオン性リポソームやアテロコラーゲン、ポリエチレングリコール/ポリリジンブロック共重合体などが DDS のキャリア物質として開発されており、siRNA 療法の実現化に対する期待は大きい。