

がん分子標的治療研究会の活動・現状報告

1. がん分子標的治療研究会設立からこれまでの歩み

1996年

- 6月 発起人による趣意書作成
- 7月 がん分子標的治療研究会設立
(顧問・幹事・世話人決定)
- 10月12日 第1回幹事会
(日本癌学会総会時 パシフィコ横浜にて)
- 11月25日 会則配布、会員募集開始、第1回研究会演題募集

1997年

- 2月28日 演題申込締切
- 3月 演題整理・プログラム編成
- 4～5月 ポスター・プログラム・抄録集作成・会員名簿作成
- 6月6・7日 第1回がん分子標的治療研究会総会開催(日本薬学会会長井記念館にて)
第2回幹事会(同所にて)
- 9月27日 第3回幹事会(日本癌学会総会時 京都国際会議場にて)
- 10月 世話人に対しがん分子標的治療研究会の運営についてアンケート方式で
意見募集(32ページ参照)
- 11月25日 ニュースレター第1号発行
(含 会員名簿改訂版、第2回研究会演題募集要項)

2. 会員状況(1997年11月1日現在)

- 顧問： 8名
- 個人会員： 424名
- 学生会員： 68名
- 法人会員： 22社(登録会員161名)
- 合計 661名

がん分子標的治療研究会設立趣意書

がんの治療へ向けて新しい抗がん剤への期待は極めて大きなものがあります。しかしながら、抗がん剤をベースとするがん化学療法の治療率への貢献度は、未だに満足すべき状況に達しておらず、現在の抗がん剤では十分な治療効果が得られないがんもまだ多くあります。こうした中で、がん化学療法に「分子標的治療」という新しい概念が芽生えてきました。すなわち、がんの特徴的な分子（これを分子標的と呼ぶ）の機能を解明し、基礎的研究成果をもとにある分子標的に対し特異的な治療法（分子標的治療）を考えようというものであります。

文部省がん重点領域研究では、「癌化学療法の分子標的」と題したワークショップを過去3回開催し、各方面の研究者に理解を求めると共にこの新しい分野への参加を呼びかけてまいりました。その結果、多くの反響と賛同が得られ、過去3回の会を成功裡に行えましたことはご存知の通りであります。今回この会を独立した研究会とし、さらに発展させよう構想が生まれました。

「がん分子標的治療研究会」設立の趣旨は、分子標的治療によるがんの治療をめざし、有望な分子標的として何を選択し、いかに治療へ応用するかについて、基礎および臨床の第一線の研究者が情報交換と討論をする場を提供すること、そして胎動期にある分子標的治療を大きく発展させることであります。分子標的研究の対象は、がん遺伝子産物・シグナル伝達系・増殖因子/サイトカイン・転写因子・DNA複製/修復・細胞周期・細胞形態形成・薬剤感受性/耐性因子・膜酵素・転移・免疫・分化・アポトーシスなど多岐にわたり、さらに遺伝子治療も分子標的研究の延長上にあるといえます。分子標的治療を志向する上で、広範な基礎研究の活性化、先端的研究成果の確認と整理、臨床応用上の問題点の検討などが必須であり、それには基礎および臨床研究者、さらには企業において直接研究開発に携わっている研究者の緊密な連携が不可欠であります。種々の領域の研究者が「がんの分子標的治療を発展させる」というコンセンサスのもとに、一つの土俵上で率直に議論を重ね、国際的に評価されるような研究成果をまとめる努力をすることは、がん化学療法に新しい道を開くことになりその将来にとって極めて意義深いことと存じます。

以上、がん分子標的治療研究会設立の趣旨にご賛同いただき、各方面のご理解とご協力をお願い申し上げます。

平成8年7月吉日

「がん分子標的治療研究会」設立発起人

石 塚 雅 章	杉 本 芳 一
今 井 浩 三	曾 根 三 郎
上 田 龍 三	鶴 尾 隆
上 原 至 雅	内 藤 幹 彦
梅 沢 一 夫	松 田 彰
桑 野 信 彦	矢 守 隆 夫
西 條 長 宏	吉 田 輝 彦

がん分子標的治療研究会 役員

顧問

北川 知行 (癌研) 高久 史磨 (自治医大) 寺田 雅昭 (国立がんセンター)
菅野 晴夫 (癌研) 高橋 利忠 (愛知がんセンター) 橋本 嘉幸 (佐々木研)
杉村 隆 (国立がんセンター) 竹内 富雄 (微化研) 浜岡 利之 (阪大医)

幹事

石塚 雅章 (微化研) 桑野 信彦 (九大医) 松田 彰 (北大薬)
井上 謙吾 (協和発酵工業) 西條 長宏 (国立がんセンター) 山田 雄次 (大鵬薬品)
今井 浩三 (札幌医大) 杉本 芳一 (癌研) 矢守 隆夫 (癌研)
上田 龍三 (名市大医) 曾根 三郎 (徳島大医) 吉田 輝彦 (国立がんセンター)
上原 至雅 (国立感染症研) 鶴尾 隆 (東大分生研) 吉松 賢太郎 (エーザイ)
梅沢 一夫 (慶応大理工) 内藤 幹彦 (東大分生研)
長田 裕之 (理研) 新津 洋司郎 (札幌医大)

世話人

秋山 伸一 (鹿児島大医) 佐々木琢磨 (金沢大がん研) 西山 正彦 (広島大原医研)
秋山 徹 (阪大微研) 佐藤 昇志 (札幌医大) 野田 哲生 (癌研)
浅野 茂隆 (東大医科研) 佐藤 靖史 (東北大加齢研) 橋本 祐一 (東大分生研)
安藤 俊夫 (創価大) 珠玖 洋 (三重大医) 花岡 文雄 (阪大細生工セ)
石川 冬木 (東工大生命理工) 渋谷 正史 (東大医科研) 浜田 洋文 (癌研)
井出 利憲 (広島大医) 島田 隆 (日本医大) 早川 洋一 (東大分生研)
伊東 恭悟 (久留米大医) 清水 信義 (慶応大医) 平井 久丸 (東大医)
井本 正哉 (慶応大理工) 首藤 紘一 (東大薬) 伏谷 伸宏 (東大農)
入村 達郎 (東大薬) 杉山 雄一 (東大薬) 本間 良夫 (埼玉がんセンター)
植田 和光 (京大農) 清木 元治 (東大医科研) 前田 浩 (熊本大医)
及川 勉 (都臨床研) 関根 光雄 (東工大生命理工) 前原 喜彦 (九大医)
大泉 康 (東北大薬) 瀬戸 治男 (東大分生研) 松島 綱治 (東大医)
大野 典也 (慈恵医大) 瀬戸 加大 (愛知がんセンター) 宮坂 昌之 (阪大医バイオセ)
岡田 全司 (九大生医研) 高井 義美 (阪大医) 宮崎 香 (横浜市大木原研)
長田 裕之 (理研) 田中 啓二 (都臨床研) 宮島 篤 (東大分生研)
小沢 敬也 (自治医大) 谷口 維紹 (東大医) 宮園 浩平 (癌研)
小俣 政男 (東大医) 谷口 克 (千葉大医) 八木田秀雄 (順天堂大医)
河野 公俊 (九大医) 田沼 靖一 (東京理科大薬) 山添 康 (東北大薬)
河野 通明 (長崎大薬) 辻本 賀英 (阪大医バイオセ) 山本 雅 (東大医科研)
小林 淳一 (北大薬) 戸井 雅和 (都立駒込病院) 横田 淳 (国立がんセンター)
小宮山寛機 (北里研) 中村 敏一 (阪大医バイオセ) 吉田 純 (名大医)
济木 育夫 (富山医薬大) 中村 祐輔 (東大医科研) 吉田 稔 (東大院農)
斉藤 泉 (東大医科研) 長田 重一 (大阪バイオ研) 淀井 淳司 (京大ウイルス研)
阪口 薫雄 (熊本大医) 永沼 章 (東北大薬) 米原 伸 (京大ウイルス研)
崎山 樹 (千葉がんセンター) 新津洋司郎 (札幌医大) 綿矢 有佑 (岡山大薬)

第2回がん分子標的治療研究会総会 開催のお知らせ

第2回がん分子標的治療研究会総会

会長 石塚 雅章

微生物化学研究会附属化学療法研究所

第1回総会は本年6月に鶴尾隆先生を会長に多くの成果を挙げて成功裏に行なわれましたが、第2回総会は1998年6月4～5日の2日間、下記の通り東京渋谷の長井記念館で開催する運びとなりました。多くの会員の皆様のご参会をお待ち申し上げます。

第2回総会では、現在および将来に癌化学療法による治療が期待される「肺癌」および「前立腺癌」をとりあげシンポジウムを企画いたしました。臨床における問題点と分子標的について討議し、これらの癌に対する物質の開発に寄与しようとするものです。一部指定、一部は公募いたしますので優れたアイデアに基づく演題を期待します。一般演題は前回と同様の形式で募集いたしますが、その中から「抗転移物質」ならびに「選択性にすぐれた生理活性物質」についてワークショップの形式で討議したいと考えておりますので、化合物の研究を行っている化学領域からも多数の演題をお待ちしております。

何卒、実りある研究会にするためにご支援ご協力の程宜しくお願い申し上げます。

第2回がん分子標的治療研究会総会 開催要項

会 期：平成10年6月4日(木)9:00より 6月5日(金)18:00まで(予定)

会 場：日本薬学会長井記念館
〒150 東京都渋谷区渋谷2-12-15
TEL: 03-3406-9125

演題予定：以下の形式を予定しております。プログラム編成上発表形式がご希望通りにならない場合もあるかと存じますが、どうかご了解下さい。

- I. 一般演題(公募)
- II. シンポジウム(公募、一部指定)
 1. 肺癌の化学療法と標的
 2. 前立腺癌の化学療法と標的
- III. ワークショップ(公募)
 1. 抗転移物質
 2. 選択性にすぐれた生理活性物質

演題募集：・応募資格は共同研究者も含めて本研究会の会員に限ります。

・演題申込は同封の書式により下記宛お送り下さい。

※同封すべき書式

- 1) 演題抄録用紙1部
50円切手を2枚所定の貼付欄に貼って下さい。
- 2) 演題抄録用紙のコピー1部

※送付方法

- 1) 書類を折らずに入れられる封筒をお使い下さい。
- 2) 宛先は同封の宛名シールをご利用下さい。
- 3) 簡易書留でお送り下さい。

※送付先 〒410-03 静岡県沼津市宮本字元野 18-24
微生物化学研究会附属 化学療法研究所
石塚 雅章
TEL: 0559-24-0601 FAX: 0559-22-6888

演題締切：平成10年2月28日(必着)

懇親会：平成10年6月4日(木)18:30から20:30(予定)
於：東邦生命ビル31F「オスロ」TEL: 03-3406-6360

入会申込：入会希望の方は、36～37ページの入会申込書を利用して、下記事務局までご連絡下さい。

がん分子標的治療研究会事務局
〒170 東京都豊島区上池袋1-37-1 癌研究会癌化学療法センター内
TEL: 03-3918-0111 内線: 4311 FAX: 03-3917-7564

第1回がん分子標的治療研究会を終えて

第1回がん分子標的治療研究会総会

会長 鶴尾 隆

東京大学分子細胞生物学研究所

第1回がん分子標的治療研究会総会を平成9年6月6、7日、東京都渋谷区の日本薬学会長井記念館で行いました。

抗がん剤をはじめとする癌治療薬は、いわゆるランダムスクリーニングを中心として探索され、有効な物質が見出されてきました。この方向の探索に加え、最近、癌治療の分子標的を明確にし、その機能の解明を通して、機能を制御することによって癌治療に結びつけようとする研究動向が国際的にも明らかになりつつあります。私共の研究で言いますと、多剤耐性のP-糖蛋白質の機能解明から耐性克服薬へのアプローチがこれに相当し、P-糖蛋白質の研究はこの新しい研究動向に先鞭をつけるものでありました。この動向を我が国において定着させる目的で、過去3回文部省のがん重点研究の支援のもとにワークショップ「癌化学療法分子標的」を行いました。いずれも盛会で、世界の動向と相俟ってこの動きを我が国において定着させることができたと考えております。

この研究の今後の更なる発展を意図し、独立の研究会として企画し、発足したのが今回の研究会です。今回はその第1回総会となったわけではありますが、550余名の会員、総計約300名の参加者を得、討論を重視した有益な会になりました。演題は一般公募によるもので、注目すべき分子標的として「癌遺伝子産物・シグナル伝達系・転写因子」、「DNA複製、修復」、「細胞周期」、「転移・浸潤」、「耐性因子、感受性因子」、「サイトカイン・分化」、「アポトーシス・細胞骨格」、「遺伝子治療」からなる8つのセッションを設けました。62題の口演をワークショップ形式にし、各セッションごとに討論を行いました。また、23題のポスターセッションでは、参加者各位が有意義な討論を重ねることができました。いずれのセッションも非常に盛況であり、得るところが多くありました。

研究会は毎年行う予定です。これからの研究会を通して臨床の場に持ち込めるような新しい化合物が創製されることを心より願っております。最後に本会誕生までに種々有益なご意見を頂きました癌研の菅野先生、北川先生、それに幹事、世話人の先生方、本会の運営について賛助を頂きました多くの企業に対し心よりお礼申し上げます。

がん治療の分子標的

第1回がん分子標的治療研究会総会

Molecular Target Therapy

1997年
6月6日(金)–7日(土)

日本薬学会長井記念館

東京都渋谷区渋谷2-12-15
電話03-3406-9125

本研究会は文部省がん重点研究のワークショップが発展し、
行われるものです。

● 癌遺伝子産物・シグナル伝達系・転写因子

Modulator 上原 至雅 (予研)
秋永 士朗 (協和発酵)

● DNA複製・修復

Modulator 長田 裕之 (理研)
榎本 武美 (東北大)

● 細胞周期

Modulator 吉田 稔 (東大)
井本 正哉 (慶大)

● 転移・浸潤

Modulator 桑野 信彦 (九大)
矢守 隆夫 (癌研)

● 耐性・感受性因子

Modulator 植田 和光 (京大)
杉本 芳一 (癌研)

● サイトカイン・分化

Modulator 石塚 雅章 (微化研)
橋本 祐一 (東大分生研)

● アポトーシス・細胞骨格

Modulator 梅沢 一夫 (慶大)
早川 洋一 (東大分生研)

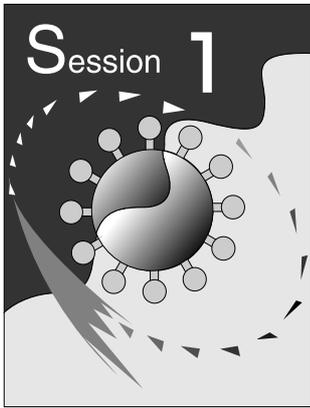
● 遺伝子治療

Modulator 今井 浩三 (札幌医大)
清水 信義 (慶大)

第1回がん分子標的治療研究会総会ポスター

● 問い合わせ先 第1回がん分子標的治療研究会総会 会長 鶴尾 隆

東京大学分子生物学研究所 〒113 東京都文京区弥生1-1-1
電話 03-3812-2111(7861) FAX 03-3816-3592



癌遺伝子産物・シグナル伝達系・転写因子

モデレーター 上原 至雅 (国立感染症研・生物活性物質部)
秋永 士朗 (協和発酵・医薬研)

イントロダクション

がん化に関与する遺伝子としてがん化を促進する *oncogene* と抑制する *suppressor gene* の2つのグループが知られています (図1)。これらの遺伝子産物は多くの場合、増殖や分化のシグナル伝達や転写制御にかかわっており、遺伝子の変異によって活性化あるいは不活化がおこると細胞ががん化するというわけです。従って、がん細胞で異常がおきているシグナル伝達経路に干渉する薬剤は新しい抗がん剤になるのではないかとというのが基本的な考え方であります。そうしますと、今後のがん治療は対象のがんにおいてどのような遺伝子異常がおきているのかを明らかにし、その遺伝子の変化に対応した薬剤を使用することが必要になってくるのではないかと。具体的な例をひとつお示しします。

最近、細胞外ドメインの特定の領域が欠損した EGF-R (Δ EGF-R) が、グリオーマや乳がんなど多くの種類のがんにおいて高頻度に出現し恒常的に活性化しており、がん化の原因になっているのではないかとされています (図2)。そこで、このレセプターに選択性を有するチロシンキナーゼ阻害剤 *tyrphostin AG1478* が開発されました。最近、チロシンキナーゼ阻害剤の開発が広くおこなわれていますが、今後進むべき方向として、こういったある特定のチロシンキナーゼに選択性をもった阻害剤の開発が必要であり、また可能であります。

では、ほかにどのようなチロシンキナーゼが標的になるかといいますと、扁平上皮がんや脳腫瘍、乳がんなどで増幅している *ErbB1* や *ErbB2*、また肺小細胞がんでは異所性に高発現している *Kit*、それから *CML* や *ALL* などでは活性化している *abl* などが標

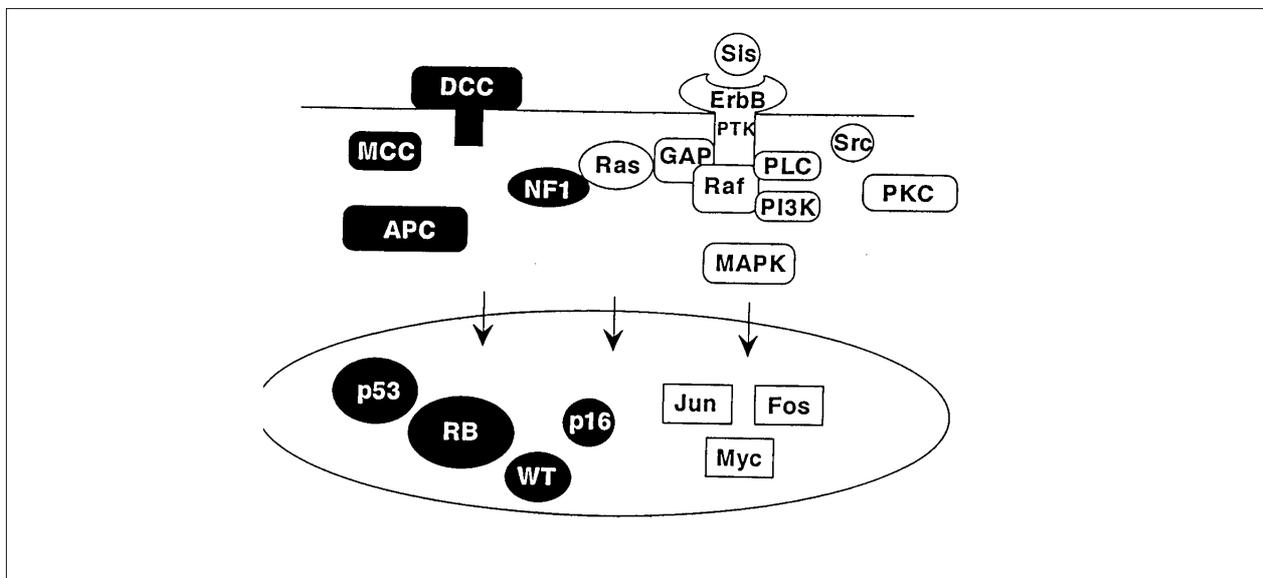


図1 Oncogenes and Tumor Suppressor Genes

的になります(表1)。Ablについては今回、鶴尾先生のグループから selective inhibitor の発表があります。

次にRasであります、がん全体では30-40%ですが、膵臓がんや大腸がんなどのいわゆる難治性の固形がんでは特にその変異の頻度が高い。従って、Rasは分子標的として非常に大切であります。Rasの場合、posttranslational な modification のうち FTase ががん化に essential なことから、その阻害剤の開発が広く行われています。ここには微生物由来のものと peptidomimetics の代表的な化合物をのせてあります(図3)。今日、この manumycin の発

表が秋永先生からあります。

次に転写調節ですが、これは細胞周期の G1/S transition をコントロールする分子機構の一部を表しています(図4)。転写調節に関わる因子が数多く働いておりましたが、がん細胞では下に示したような遺伝子異常がしばしばみられる。最近、転写因子 E2F の阻害剤が開発されましたが、不活化した p53 の活性の回復をねらった薬剤や、過剰発現したサイクリンDの発現の低下を誘導する薬剤の開発など今後重要になってくるのではないかと。

今回の研究会では、講演が7題、ポスターが6題の計13題の発表があります。それらの標的分子と

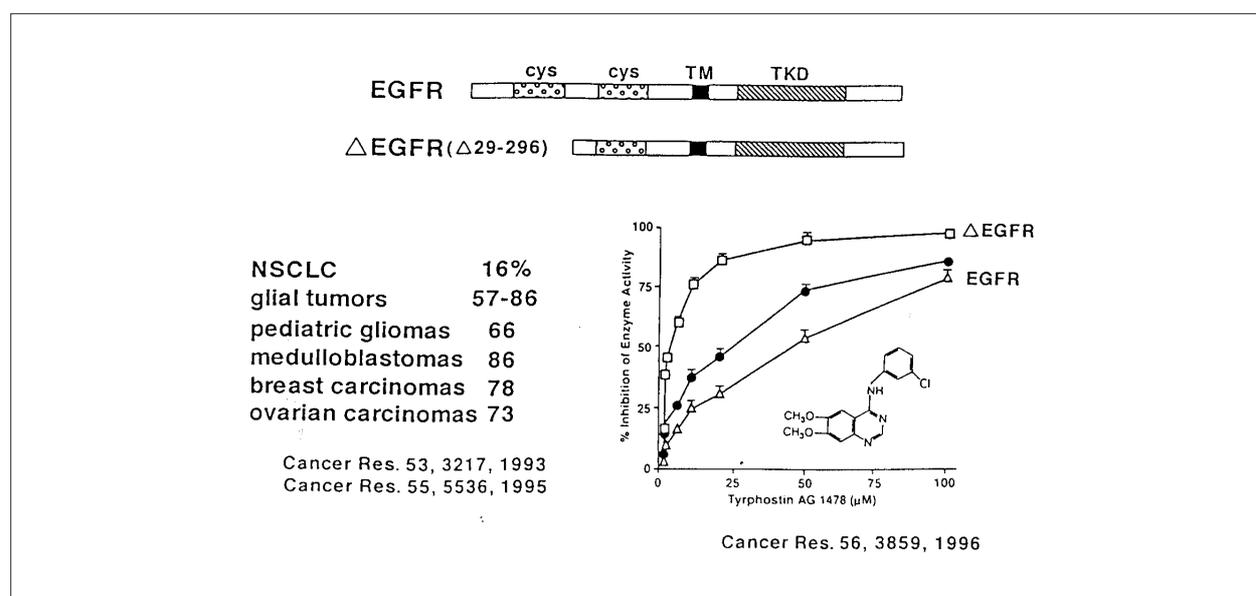


図2 Truncated EGFR as a Potential Target

表1 Metabolism and Target Enzymes of 2'-dCyd Analogues

Gene	Cancer	Frequency(%)		
		Amplification	Rearrangement	Mutation
<i>hst/int2</i>	esophagus, breast	20-50		
<i>erbB-1</i>	squamous carcinoma	10		
	brain	40-50		
<i>erbB-2</i>	breast, gastric, renal	10-40		
<i>kit</i>	small cell lung	50		
<i>ret</i>	PTC(thyroid)		10-30	
	FMTC, MEN2A, 2B			30-40
<i>abl</i>	CML		>95	
ALL			20	
<i>Ki-ras</i>	adenocarcinoma			
pancreas				95
colon				50
thyroid				50
lung				30
<i>H-ras</i>	bladder, kidney			10-20
<i>N-ras</i>	AML, ALL, MPS			10-50
<i>c-myc</i>	burkit lymphoma		80	
	lung, colon	10-20		
<i>N-myc</i>	neuroblastoma	20		

登場する阻害剤を図に押し込んでみました(図5)。WTは本来がん抑制遺伝子ですが、今日はoncogeneとして働くという発表もございます。基礎から臨床にわたって、いろいろな角度からの内容となっ

ておりますが、こういったアプローチを通して副作用の少ない新しいがん化学療法を開発していこうということでは目指すところは同じであります。活発な議論を展開していただきたい。

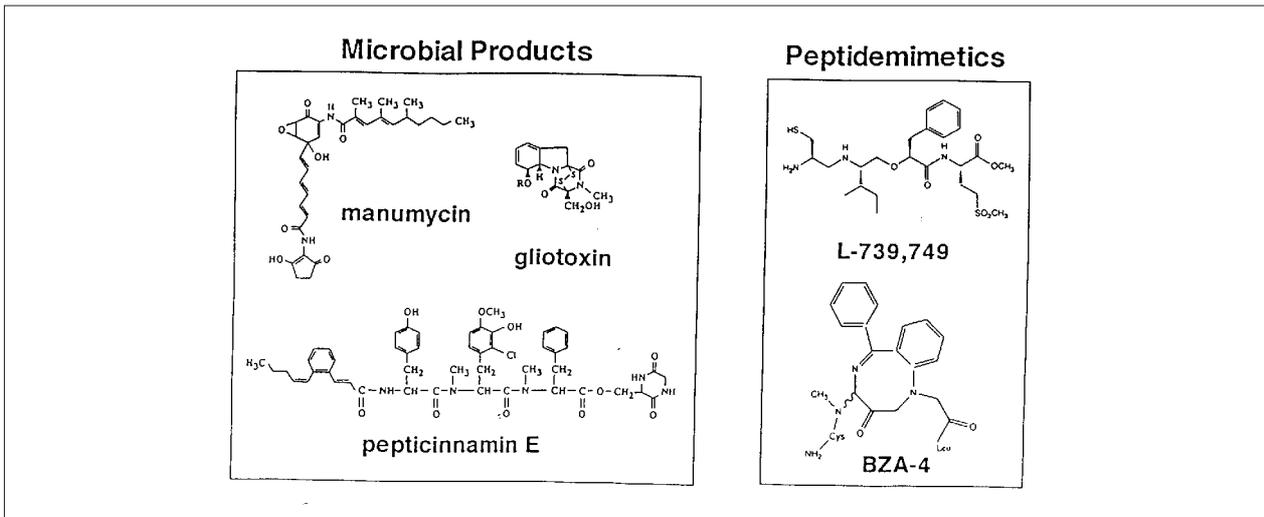


図3 Farnesyltransferase Inhibitors

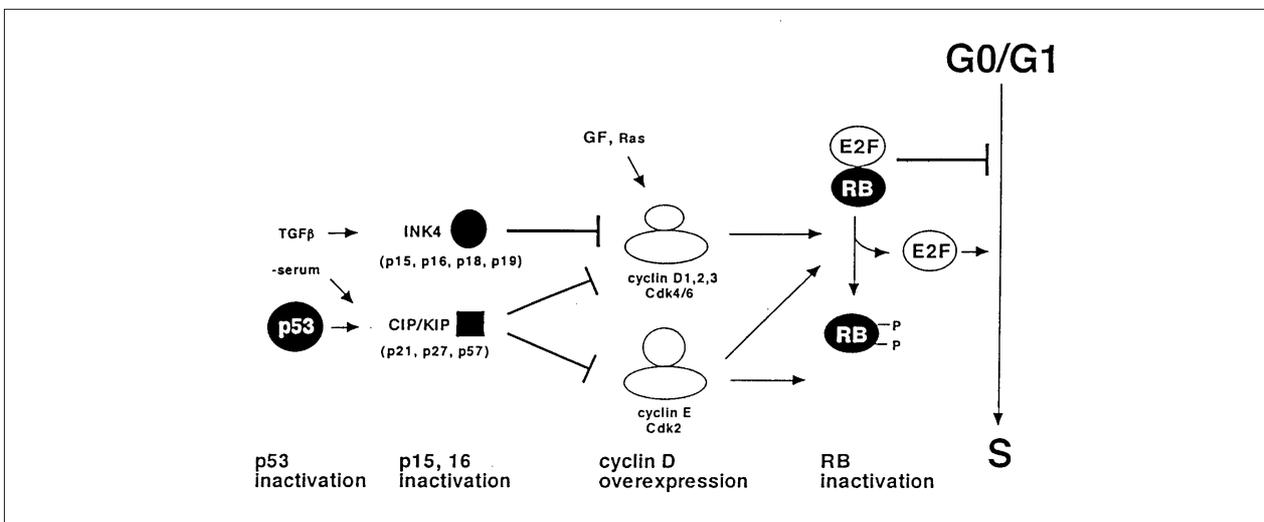


図4 Cell Cycle Control in Normal and Tumor Cells

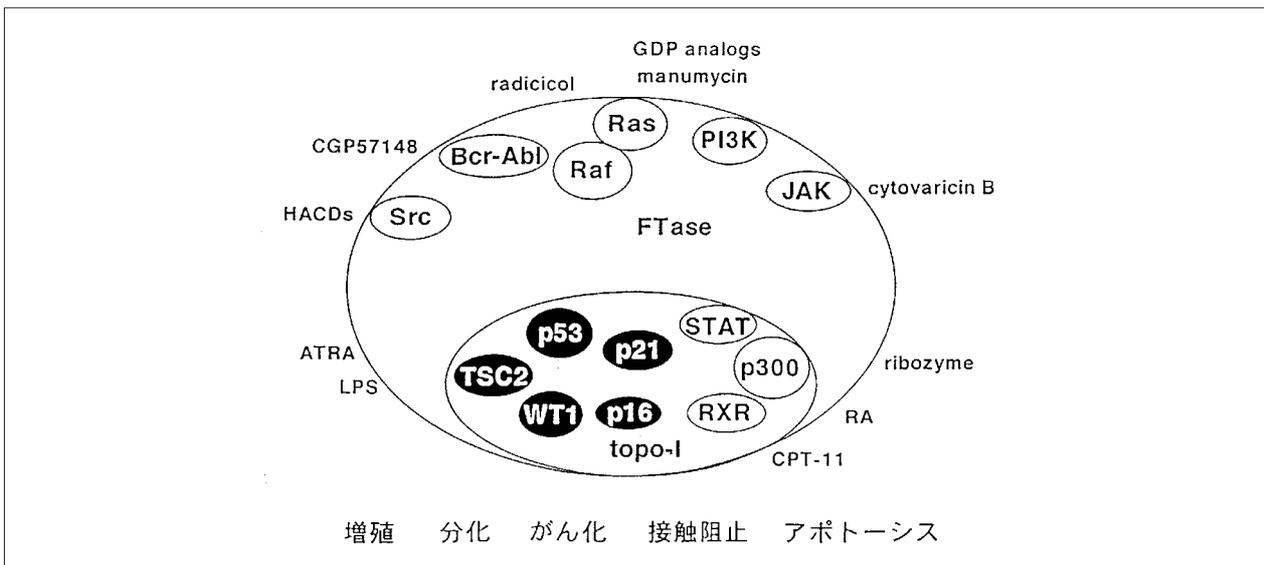


図5

サマリー

本セッションでの口演7題およびポスター発表6題をまとめますと以下のようなになるかと思えます(図6)。すなわち新たながん治療の分子標的に対する治療法の開発を考えた場合には、その標的分子に関する基礎的な研究および臨床的な研究が両輪となる必要があるものと考えられます。基礎的な研究とはその標的分子の遺伝子制御・変異等に関する遺伝子の情報および蛋白質そのものに関する情報すなわちその機能・翻訳後修飾等が挙げられます。今回の発表で言いますとW4/W5/W7およびP3/P6がこれにあたります。臨床的な研究とはその標的分子がどのような腫瘍において重要なのか?すなわち遺伝子の変異・増幅、蛋白質の発現上昇・低下等の情報および予後との関連が挙げられます。今回の発表ではW6およびP6の一部がこれにあたります。さてこのようにして新たな分

子標的が設定されますと主としてその蛋白質の機能等を利用した阻害剤あるいは活性化剤のscreeningは実施され、drugが見出されていきます。これに関する発表がW2/W3およびP1/P2/P4/P5になります。一方、その標的分子が本当に重要か否かを検証する実験proof of principle(仮説の証明)が必要となるわけですが、今回の中ではW6の発表でのアンチセンスを用いた実験がそれに該当しますし、阻害剤・活性化剤を用いた実験もchemical proof of principleと考えることができます。最後に重要な分子標的に関してはW1およびP3の一部にあるような既存制癌剤の作用に関する情報も重要であり、こうした結果が場合によっては遺伝子治療と結びついてより有効な治療法の開発に繋がる可能性も考えられます。

以上のような種々のアプローチを経てより毒性の少ない癌選択的な治療薬の開発が進められることを切望するものです。

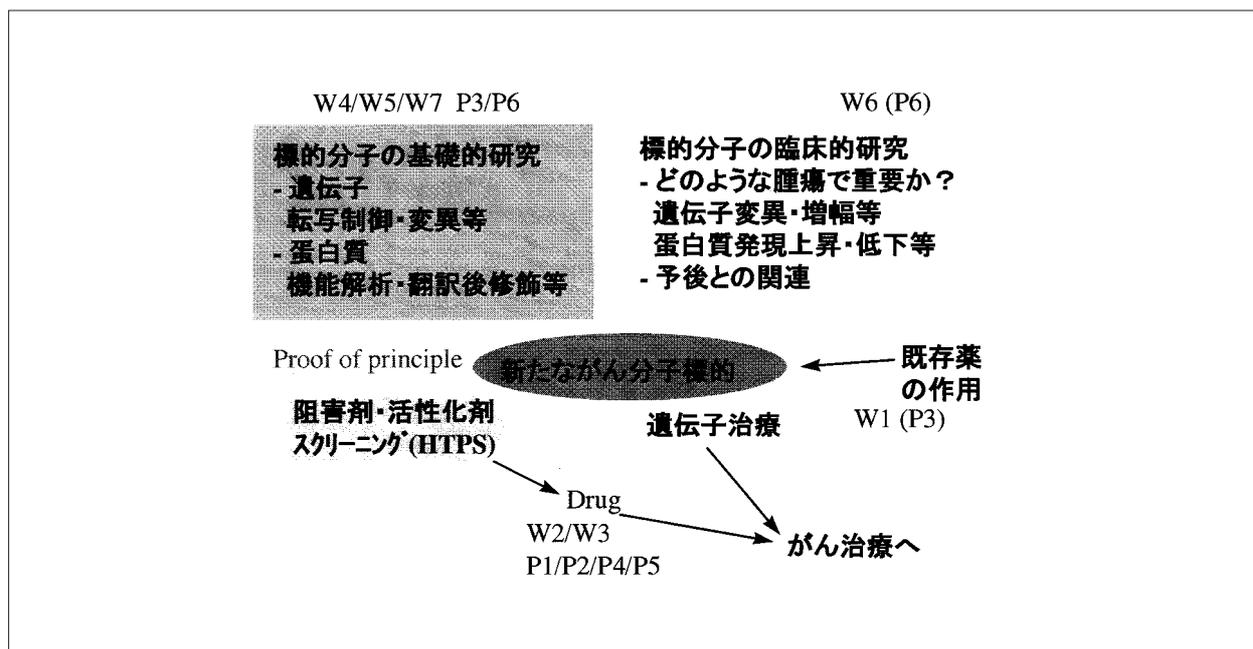


図6 新しい分子標的治療法の開発コンセプト



DNA複製・修復

モデレーター 長田 裕之 (理研・抗生物質)
 榎本 武美 (東北大・薬)

イントロダクション/サマリー

DNAに作用してDNAの複製や修復を阻害する抗癌剤は数多くあるが、DNAの複製や修復に関与する酵素・タンパク質を分子標的として複製や修復を阻害する抗癌剤はごくわずかしが開発されていない。このような状況に至った原因の一つは、ヒトの細胞のDNA複製、修復機構そのものや、複製、修復に関与する酵素・タンパク質、即ち“標的”が長い間不明であったことによる。しかし状況は、1980年代の後半から変わり始め、1990年代に入り一変した。

サルに感染して増殖する小型のDNAウイルス、SV (simian virus) 40は約5,200塩基対からなる環状二本鎖DNAをもつウイルスで、その複製はウイルスがコードするlarge T抗原以外は宿主の酵素・タンパク質を利用しておこなわれる。した

がって、このウイルスのDNA複製に関与する酵素・タンパク質を同定することは宿主のDNA複製に関与する酵素・タンパク質を同定することになる。このウイルスDNAの試験管内複製系を用いた解析により、真核細胞のDNA複製に関与する酵素・タンパク質がほぼ出揃い、複製機構を分子レベルで記述することが1990代始めまでに可能になった。図1はこの系で明らかになった真核細胞のDNA複製のモデルで、1) DNA helicase (この系ではT抗原) が二本鎖DNAを巻き戻す、2) 露出した一本鎖に一本鎖DNA結合タンパク質、RP-Aが結合する、3) この一本鎖DNA上でDNA polymerase α -primase複合体のprimaseがRNA primerを合成する、4) このprimerを利用してpolymerase α がDNA鎖を伸長する、5) ある程度伸長したDNA鎖を、次にpolymerase δ がRF-CとPCNA (proliferating cell

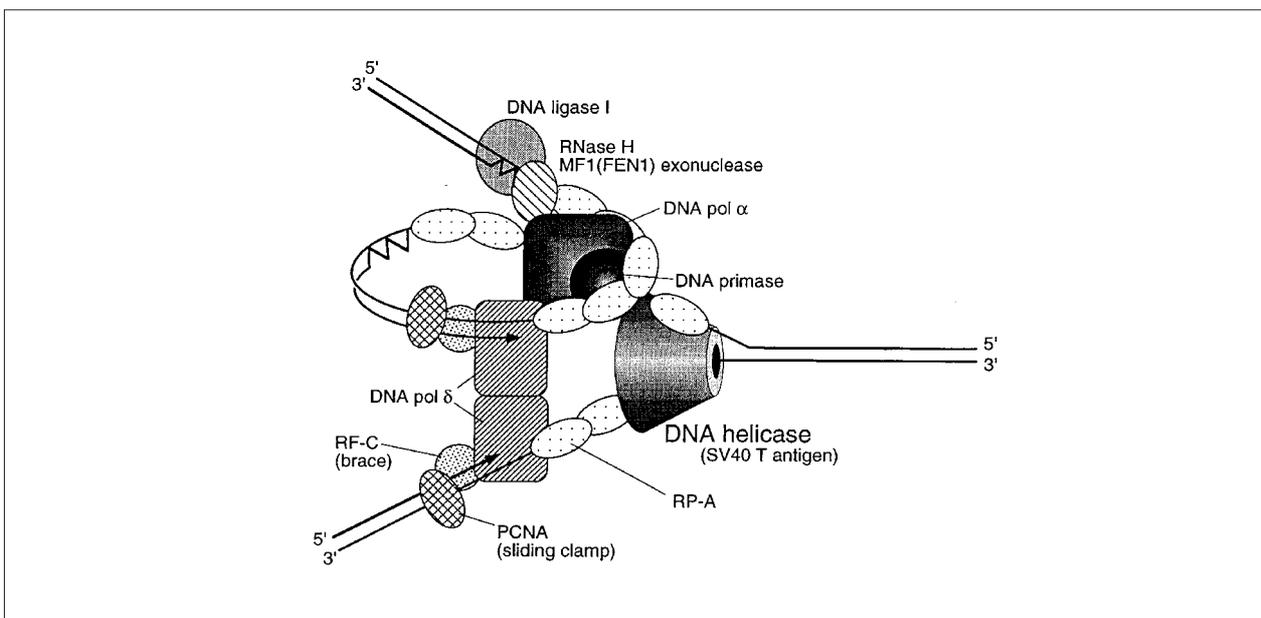


図1 真核細胞のDNA複製構造モデル

nuclear antigen) の助けをかりて伸長する6) 残った RNA を RNase H と MF1(exonuclease)で除く、7) すき間を DNA polymerase がうめる、8) 切れ目を DNA ligase が繋ぐことにより DNA 複製が進行する。DNA 鎖は二本鎖ともほぼ同時に複製されるが、一方の鎖は連続的に、もう一方の鎖は、RNA を primerにする短鎖DNAを合成しそれを連結することにより、不連続的に合成される。このモデルには出てきていないが、DNA topoisomerase IIがDNA複製に関与することが知られており、また、酵母を使った解析から DNA polymerase ϵ も DNA 複製に関与することが示唆されている。

さらに、酵母をつかった解析やアフリカツメガエルの卵抽出液を用いたDNA複製系の解析から、DNA複製の開始にORC (origin recognition complex), MCM (minichromosome maintenance), CDC6, CDC7, DBF4などのタンパク質が関与することが明らかにされた。ORCとMCMはそれぞれ6つのタンパク質からなる複合体である。酵母からヒトまで真核細胞のDNA複製機構は保存されているので、これらの酵素・タンパク質がヒト細胞のDNA複製の開始に関与していると考えられる。したがって、ヒト細胞のDNA複製には、ORC、MCM、CDC6、CDC7、DBF4、DNA topoisomerase II、DNA polymerase α -primase複合体、DNA polymerase δ 、DNA polymerase ϵ 、RP-A、RF-C、PCNA、RNase H、MF1、DNA ligase が関与していることになる。

真核細胞のDNA修復機構の研究も1990年代に入って大きく進展した。そのなかで最もめざましい進展をみせたのはDNA除去修復の研究で、これは、cell-free DNA修復系の開発とあいまって、色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum, XP) の原因遺伝子のクローニング・同定及びその遺伝子産物の機能の解明がなされたことによる。図2はヒトを含めた真核細胞のDNA修復機構のモデルである。

DNA上に傷害があるとXPの原因遺伝子産物(A)と一本鎖DNA結合タンパク質(HSSB, RP-Aと同じもの)が傷害を認識し、そこにXP-B群(B)とXP-D群の原因遺伝子産物(D)を含み多数のサブユニットからなる基本転写因子のTFIIHが導入され

る。このTFIIHにはXP-C群の原因遺伝子産物(C)も結合している。このような複合体が形成されると、さらに、XP-F群の原因遺伝子産物(F)とERCC1遺伝子産物(1)の複合体とXP-G群の原因遺伝子(G)が導入され、それぞれ、傷害のあるDNAの5'側と3'側に切れ目を入れる。傷害のあるDNAはXP-B群(B)とXP-D群の原因遺伝子産物(D)のDNAヘリカーゼ活性により剥がされ、剥がされた部分はRF-CとPCNA存在下にDNA polymerase δ あるいはDNA polymerase ϵ がDNA合成をおこない、DNA ligaseが切れ目をつなぐことにより修復が完了する。このようにDNA除去修復には、XPA~XPG遺伝子産物、TFIIH、ERCC1、RP-A、RF-C、PCNA、DNA polymerase δ / DNA polymerase ϵ 、DNA ligaseなど多数の酵素・タンパク質が関与していることが明らかになった。

真核細胞のミスマッチ修復は、その全貌は明らか

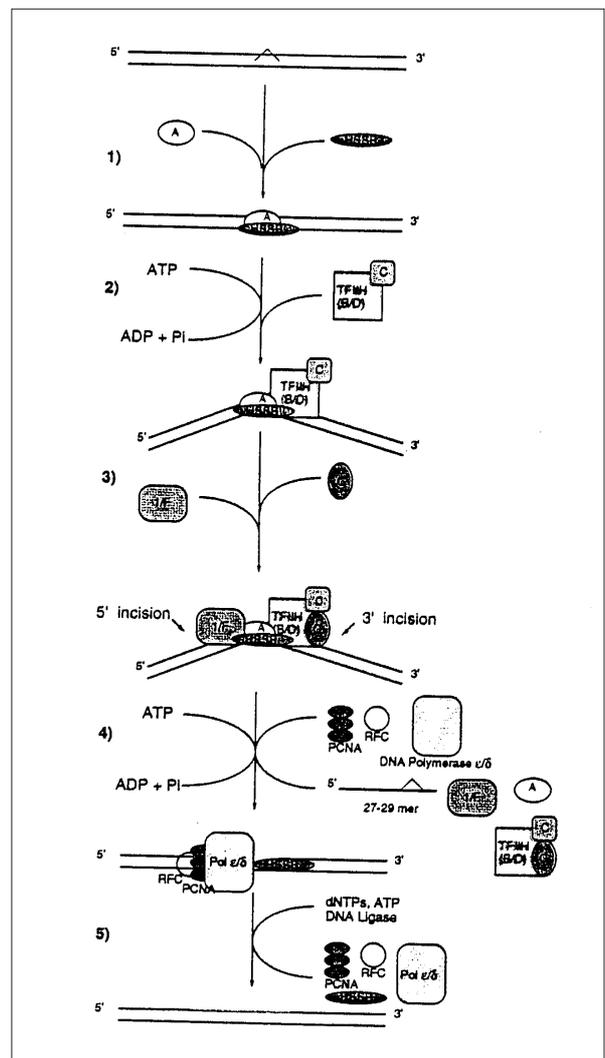


図2 真核細胞のDNA除去複製構造モデル

かにされていないが、この修復に関与する役者が揃いつつあるというのが現状である。大腸菌のミスマッチ修復ではMutS, MutL, MutHタンパク質が関与して、ミスマッチのあるDNA鎖に切れ目をいれることが知られている。ヒトでは、この大腸菌のMutSに相同性の高いタンパク質をコードする遺伝子、hMSH2, 3, 6やMutLに相同性の高いタンパク質をコードする遺伝子、hMLH1, hPMS1, 2が知られており、これらの遺伝子の多くは遺伝性非腺腫性大腸癌の原因遺伝子として同定されたものである。

DNA polymerase β は長い間DNAの修復に関与すると考えられていたが、どのような修復に関わるのかは必ずしも明らかではなかった。最近DNA polymerase β が、塩基のとれた部分のDNA鎖を切断する活性をもつことがわかり、この酵素の塩基除去修復への関与が明確になった。

以上のようにDNA修復に関しても多くの標的が明らかになった。

DNAに傷害があると、細胞は、傷害を残したままDNA合成期(S期)に入らないように細胞周期の進行を止め、S期で傷害を受けると一時的にDNA複製をとめて傷害を受けたDNAを修復する機構を備えている。このような機構をチェックポイントコントロールという。このチェックポイントコントロールで中心的役割を果たすものとして癌抑制遺伝子産物のp53が知られるようになった。p53は転写因子としての機能を持ち、p21, GADD45, MDM2, BAX, cyclin Gなどの遺伝子の転写を活性化し、いくつかの遺伝子の転写を抑制することにより、細胞周期の進行を止めて効率よく修復を行なうとともに、修復不能なほど傷害が大きい時には細胞を死へと導く(アポトーシス)。p53によって誘導されたp21はPCNAに結合することによりDNA複製を阻害するが、修復合成は阻害しない。p53にはこれ以外にも、DNAの組換えの一過程であるstrand transferを促進する活性があることが知られている。このようにp53は遺伝子を守る重要な役割を果たしているが、多くの癌細胞ではこのp53が変異していることが知られている。

このようにDNAの複製、修復やこの両者の関係

を調節するチェックポイントコントロールに関連する多くの酵素・タンパク質が明らかになり、標的にはことかかない状態になった。この解説では、本セッションの発表に関連する標的を取り上げた。これらの標的以外にも、DNAの複製、修復、チェックポイントコントロールに関連する多くの標的が知られているが、これらは割愛した。

本セッション「DNA複製、修復」では7題の講演があった。講演の内容は、バックグラウンドの違いから2つに大別することができる。即ち、「DNAの複製および修復系に関与する酵素・タンパク質とその分子機構」に関する研究と、「DNA複製と修復の阻害剤探索と阻害剤の生物活性」に関するものである。「敵を知り己を知れば百戦百勝」と言われるように、「癌という生き物の何が標的になりうるのか、そしてそれに対してどのような抗癌剤がどう作用するのか」を、異分野の研究者と議論しながら研究することは重要であると感じた。

文献

- 1) Stillman, B. Smart Machines at the DNA replication fork. *Cell* 78, 725-728, 1994
- 2) Sancar, A. Excision repair in mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 270, 15915-15918, 1995



細胞周期

モデレーター 吉田 稔 (東大院・農学生命科学研)
井本 正哉 (慶大・理工)

イントロダクション

サイクリン/CDKは、よく自動車のアクセルとエンジンにたとえられ、p16, p21などのCDK阻害蛋白質 (CKI) やpRb, p53などのがん抑制遺伝子産物はブレーキにたとえられる。こうしたいわば細胞周期制御の心臓部にあたる部分の解明は一段落した感があるが、外部の増殖刺激からCDK活性化に至る機構、細胞内外の環境変化に応答したCDKの阻害機構、さらにはがんを含めた病気との関連といった細胞周期と周辺領域との関わりについては、未だに多くの疑問が残されている。一方、細胞周期で重要な役割を果たす分子が直接がん化に関与する例が明らかになるにつれ、それらを標的とした化合物が抗がん剤の候補として一段と注目されるようになってきた。

1. 細胞周期制御因子とがん

図1にサイクリン依存性蛋白質キナーゼ (CDK) とその活性を制御する分子による細胞周期進行のモデルとがんとの関連についてごく簡単にまとめた。サイクリンDは細胞外の増殖刺激に応答して合成され、やはりG1期で増加するCdk4やCdk6と結合してこれらを活性化し、pRbをリン酸化する。続いてサイクリンE-Cdk2、さらにサイクリンA-Cdk2によって次々とpRbはリン酸化される。リン酸化されたpRbはそれまで結合していた転写因子E2F群を解離し、E2Fは細胞周期のG1後期からS期に必要な遺伝子群の転写を活性化する。サイクリンE遺伝子のプロモーターにもE2F結合配列が存在することから、サイクリンD-Cdk4またはCdk6の活性化によってサイクリンEが合成される

と考えられる。また、CDK活性に対して阻害的に働くCDKのN末端側のリン酸化チロシンを脱リン酸化する酵素Cdc25AやCDK活性に必要な160番付近のスレオニンをリン酸化する酵素CAKも活性化に必要である。一方、CDKの活性に対して阻害的に働く一群の蛋白質をCDKインヒビター (CKI) と呼ぶ。CKIには大きく分けて2つのファミリーがあり、INKファミリーと呼ばれるp15, p16, p18, p19などはサイクリンD-Cdk4/Cdk6の複合体生成を阻害する。一方、p21, p27, p57はいずれのG1サイクリン-CDKに対してもそのキナーゼ活性を阻害することができる。中でもp21はがん抑制遺伝子産物p53によって誘導されることから、DNA損傷に応答した細胞周期停止は、p53によって誘導されるp21によるものと考えられている。

このように、G1期進行はアクセルの役割を果たすサイクリンとブレーキ役のCKIによって制御されている。もしこれらの制御機構のバランスが崩れると細胞は正常な増殖から逸脱し、がん化への道をたどることになるであろう。実際、さまざまなヒト腫瘍においてG1期制御分子の発現異常などが観察される。例えばサイクリンD1は、染色体転座・過剰発現・遺伝子増幅などが多くの腫瘍で観察される。サイクリンEも過剰発現が乳癌などで見られるし、Cdk4は脳腫瘍において遺伝子増幅が観察される。サイクリンD1やEそれ自身はがん遺伝子産物ではないががん増悪化に深く関わっていると考えられる。一方、ブレーキ分子のいくつかはがん抑制遺伝子産物であり、Rbの遺伝子変異・欠失が網膜芽細胞腫や肺癌で、p16は遺伝子欠失・変異が家族性メラノーマや急性T細胞リンパ

腫 (T-ALL)で、またp15については遺伝子の高メチル化による発現阻害がT-ALLでそれぞれ観察される。このようにG1期進行の制御因子ががん化もしくはがん悪性化に密接に関わっているということは、少なくともある種のがんに対する治療の分子標的としてこれらの因子を設定できることを示している。

2. 細胞周期阻害剤の標的分子

細胞周期のエンジンとしてのCDKのキナーゼ活性を直接阻害することができれば、細胞周期はG1およびG2期で停止するはずである。特異的なCDK阻害剤として、プチロラクトンIやオロモウ

シンが発見され、それらはいずれもG1, G2期を阻害することが明らかになっている。

細胞周期のG1からS, G2からMへの進行にはそれぞれG1サイクリン-CDKとG2サイクリン-Cdc2の活性化が必須であることから、G1またはG2期で細胞周期を阻害する薬剤はいずれもCDKの活性化過程のどこかを阻害していると考えられる。例えば、シグナル伝達の過程を阻害すれば、刺激に応答したG1サイクリンの合成やCKIの分解が抑制される。ラパマイシンはホスファチジルイノシトール(PI)キナーゼ活性を持つFRAPと結合し、ウォルトマンニンはPI-3-キナーゼと結合してその活性を阻害することにより、ともにS6キナー

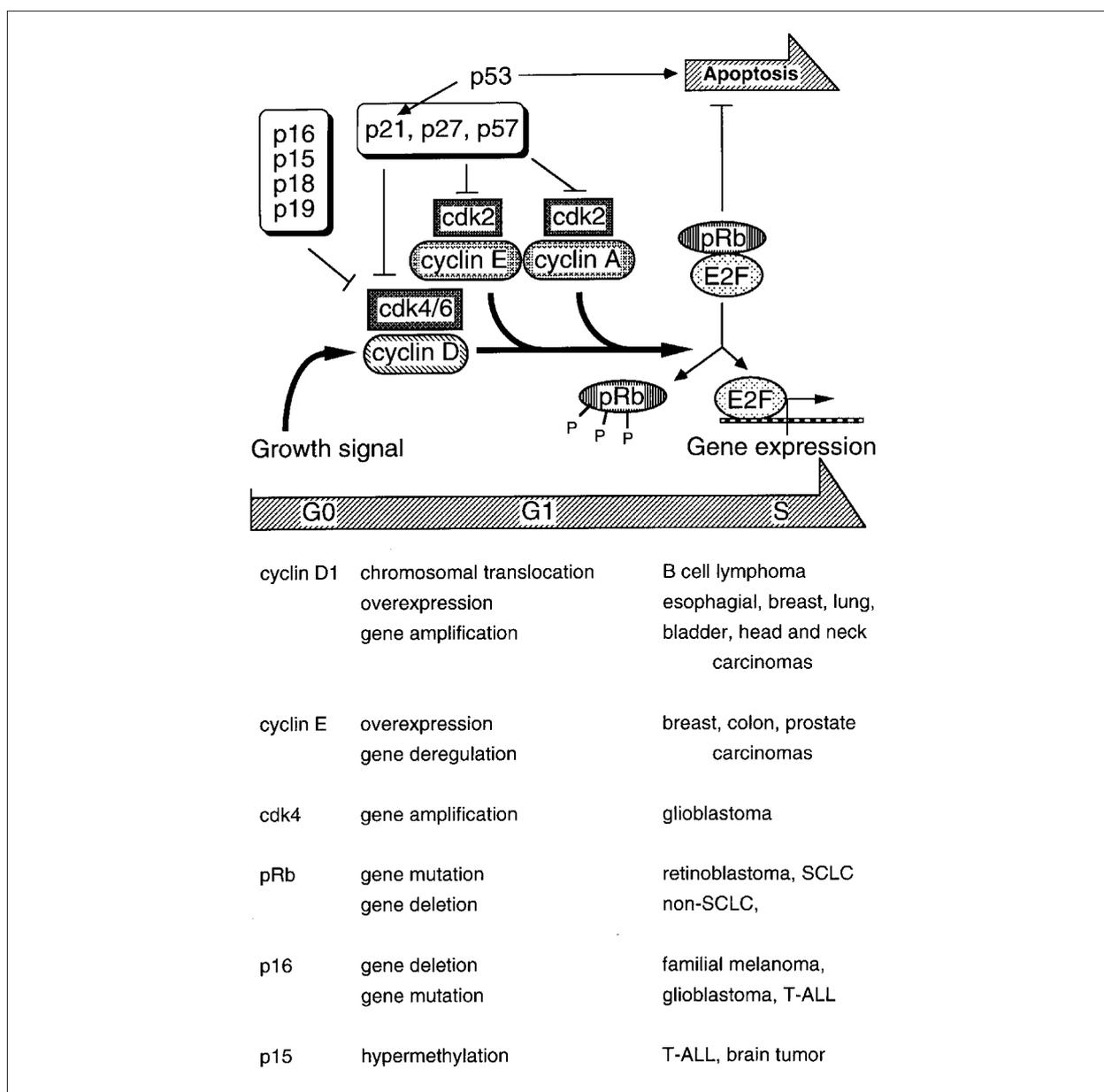


図 1

ゼの活性化を抑制し、結果としてシグナル伝達を遮断し、CDKの活性化を抑える。また、イノスタマイシンはPIの代謝回転を阻害することにより、サイクリンD、Eの発現誘導を阻害する。A23187や2-デオキシグルコースなどによるストレスもサイクリンの発現を阻害するが、これらは細胞内シャペロンの1種GRPを誘導し、これにより増殖因子受容体などの糖蛋白質の細胞外局在が阻害されるためシグナル伝達が遮断されると考えられている。

最近、注目を集めているヒストンアセチル化については、過剰なアセチル化を誘導するトリコスタチンや酪酸ナトリウムのようなヒストンデアセチラーゼ阻害剤はクロマチンの構造と機能に影響を与え、p21の誘導やサイクリンDの発現抑制を通じて細胞周期を停止させる。一方、細胞周期のブレーキ役であるp53やp27はユビキチン-プロテアソーム系によって分解を受けるので、ラクタシチンのようなプロテアソームの阻害剤はこれらの

表 1

Possible Targets for Cell Cycle Inhibitors	
I.	G1 or G2 phase
1.	CDK, Cyclins and CDK inhibitors
	-Kinase inhibitors: Butyrolactone I, Olomoucine, Staurosporine derivatives, etc.
	-Signal transduction inhibitors: TGF- β , Rapamycin, Inostaycin, Lovastatin, Wortmannin, etc.
	-Stress inducers: A23187, 2-deoxyglucose, etc.
	-Histone deacetylase inhibitors: Trichostaten, Butyrate
2.	E2F
	-E2F-driven transcription: GE3
3.	Protein degradation
	-26S proteasome inhibitors: Lactacystin, etc.
4.	Protein transport
	-nuclear import & export inhibitors: Leptomycin
	-Glycosylation inhibitors: Tunicamycin
II.	S or M phase
1.	DNA metabolism
	-DNA synthesis inhibitors, DNA-damaging agents, Topoisomerase inhibitors, etc.
	Telomerase inhibitors
2.	DNA repair
3.	Mitotic apparatus
	-Microtubule polymerization inhibitors
	-Microtubule stabilization
III.	Checkpoint
1.	DNA damage & replication checkpoint
	-Caffeine, Okadaic acid, Staurosporine
2.	DNA licensing & re-replication checkpoint
	-Staurosporine derivatives (K-252a, RK-286c)
3.	Spindle checkpoint

分解を抑制することにより、CDKの活性化を阻害すると考えられる。

G1サイクリン-CDKの最も重要な基質は、pRbやp107などのRbファミリーの蛋白質であり、これらは転写因子E2Fと結合して不活性化させている。pRbはリン酸化されるとE2Fを放出し、E2FはDP1などとダイマーを形成して特定の遺伝子発現を正に制御する。したがってE2Fの転写活性化能を特異的に阻害することができれば、がん化は抑制されることが期待される。最近、協和醗酵のグループはそのような活性物質GE3の単離に成功した。

一方、臨床に用いられている主な抗がん剤の作用機作は、(1)DNA代謝阻害やDNA損傷を誘発するもの、(2)微小管に作用し細胞分裂を阻害するものに大別される。大ざっぱに言えば、これらはCDK(あるいはCdc2)が活性化した後のDNA複製(S期)や細胞分裂(M期)を不能にしているものであるといえる。こうした薬剤は、積極的に細胞死(アポトーシス)を誘導し、「切れ味」の鋭い抗がん剤である一方で増殖中の正常細胞にも作用するため副作用が強いと考えられる。しかし、最近のDNA複製や細胞分裂の機構の詳細な解析から、新たな標的となりうるものが明らかになりつつある。例えば細胞の不死化と関わるテロメラーゼなどはその顕著な一例である。また、一般に腫瘍細胞では細胞周期チェックポイント機能が低下しており、例えばDNA損傷に反応してS期やM期への進行を抑制することができず、ダメージを持ったまま細胞周期が進行することによって細胞死が誘導されやすくなると考えられるが、チェックポイントの分子機構が明らかになれば、既存の抗がん剤の効き目を左右するチェックポイント機能を人為的に制御できるようになることも期待される。

細胞周期の制御は、がんのみならず、シグナル伝達、発生分化、老化、アポトーシスなどそれぞれ生物学における大きな研究領域の基礎として重要であり、したがって本セッションの講演もサイクリンやCDKなどに関連した狭義の細胞周期研究に入るものから、他の分野にまたがるものまで多彩

である。こうした中から細胞周期において新たな抗がん剤の標的となる分子を明らかにする基礎研究とそれをもとに実用的な阻害剤を開発する応用研究が融合し、本当に有効な抗がん剤が生まれることを願っている。

サマリー

各種腫瘍においてG1サイクリンの過剰発現やp27などのCKIの低下が観察されているが、井本ら(慶応義塾大学理工)はサイクリンD1を強制的に過剰発現したラット線維芽細胞株ではEGFにのみ応答する親株と比べFGFに対しても応答し、S期進行が見られることを明らかにした。また、川田ら(国立感染症研)はRasの活性化によって失われる細胞の足場依存性にp27が関与していることを示した。p27はRasによって活性化されるMAPキナーゼによって*in vitro*でリン酸化されることがわかり、それによって分解を受けやすくなることが示唆された。

がん遺伝子/がん抑制遺伝子と細胞周期との関連では、菅野ら(千葉大医・高次機能制御セ)ががん抑制遺伝子活性を持つPolycombグループ遺伝子mel-18を過剰発現させるとG1サイクリンの発現上昇、cdk4、cdk6の発現低下、p21の上昇などを伴ってpRbのリン酸化が低下し細胞周期停止が起こることを見いだした。mel-18の標的遺伝子の一つがc-mycであり、c-mycはチロシン脱リン酸化酵素cdc25を正に制御することから、mel-18はc-mycの転写抑制を通じてCDK活性に影響を与えることが示唆された。一宮ら(千葉県がんセンター)は神経芽細胞腫等で染色体欠失が見られる1番染色体短腕1p36領域を解析した結果、ラパマイシンの標的であるFRAP遺伝子がこの領域に存在すること、いくつかの臨床材料にこの遺伝子の変異が認められることを示した。また、桑原ら(熊本大医)は、B細胞抗原受容体複合体に含まれるp52が細胞周期に伴ってリン酸化されることを示した。p52は酵母のラパマイシン感受性に関わるTAP42と相同性があり、ラパマイシンで阻害されるS6キナーゼカスケードに重要な働きをしている可能性がある。

ストレス応答と細胞周期との関連では、鳥越ら(札幌医大)がHSP70とpRbとの関連を示した。HSP70は脱リン酸化型pRbが結合し、ストレス条件下でのpRbの安定化に関与していた。HSP70の阻害剤15-デオキシスバガリンは熱ストレス応答を阻害し、pRbの不安定化を誘導すると考えられる。富田ら(東大・分生研)は抗がん剤耐性と関連するストレスに応答した細胞周期のG1停止の機構を解析し、ストレスにより誘導されるGRP78がA431細胞のEGF受容体を細胞内にとどめ、細胞表面での発現を低下させることによりEGFからのシグナル伝達を阻害することを示した。

抗がん剤と細胞周期との関連では、吉田ら(東大・農)がレプトマイシン系抗腫瘍物質の作用機

構を解析し、分裂酵母を用いて得られた耐性遺伝子crm1の機能的なヒトホモログをクローン化し、ヒトCRM1が核および核膜に局在すること、細胞周期のG1後期に転写される細胞周期特異的な発現機構を明らかにした。さらにレプトマイシンが蛋白質の核外排出を阻害することを見だし、CRM1の核内蛋白質輸送における役割を推定した。また、西田ら(愛知県がんセンター)はM期チェックポイントを失った変異株を樹立し、トポイソメラーゼII阻害剤ICRF-193に対する耐性を比較した。その結果、チェックポイント(-)細胞の方が耐性を示すことがわかり、M期チェックポイントの有無とM期阻害剤に対する感受性に関連があることを示した。



転移・浸潤

モデレーター 桑野 信彦 (九大・医)
矢守 隆夫 (癌研・化療センター)

イントロダクション

転移には、リンパ性、播しゅ性、血行性など様々な経路が知られている。そのうち、癌の血行性転移は、肺癌、乳癌をはじめとして多くのヒト腫瘍に於て、その新生血管の密度と密接に関連していることが報告されている(表1)。すなわち、腫瘍の血管新生ががんの増大のみならず、転移・浸潤の大切なマーカーとなることが期待されている。

血管新生の誘導には、がん細胞、間質細胞やマクロファージ/モノサイトなどの微小環境と血管内皮との応答が深く関与している。すなわち、血管新生の場では、血管新生を正に制御する促進因子と負に制御する阻害因子によってバランスされている(図1)。促進因子として VEGF, bFGF, インターロイキン8などが阻害因子として PF-4やインターフェロンやアンジオスタチンなどが知られている(図1と図2)。腫瘍では、促進因子の量的質的な活性化と阻害因子の不活性化が血管新生を活発にしていると考察される。

がん化また悪性化の過程における血管新生スイッチのオン/オフと関連してマウス脾臓がんやヒトグリオーマやLi-Flaumeni線維芽細胞を用いた血管新生抑制の制御に関する研究が進みつつある。すなわち、LOHやその他ゲノムの不安定性とも関連して血管新生阻害因子関連遺伝子の発現をオフにすることが、がんの悪化に関与しているのではないかと推察されている(図3)。さらに p53 が VEGF やトロンボスポンジンの発現を修飾しているのではないかという報告も見られている。以上のことは、がん化過程における血管新生のスイッチのオン/オフ及びがん抑制遺伝と血管制御因子の発現との関連に関する分子機序が大切であることを示している。

血管新生が、がんの悪性化及び転移に確実に関与していることが明らかになれば、腫瘍の血管新生を標的とすることはがんの悪性化及び転移を制御する可能性が期待できる。そのアプローチとして、血管新生の内因性阻害因子を利用したり、さら

表1 血管新生が転移またがん患者の予後と関連することが観察されているヒトのがん

乳 癌	大腸癌
前立腺癌	精巣癌
肺癌 (非小細胞癌)	膀胱癌
脳腫瘍	胃 癌
メラノーマ	脾島腫瘍
卵巣癌	扁平上皮細胞癌
頭頸部癌	基底細胞癌
直腸癌	子宮頸癌
多発生骨髄腫	子宮内膜癌
	星状膠細胞腫

に血管新生の促進因子の抗体や遺伝子操作などを利用することが考えられる。現在、抗血管新生の治療剤や方法が固型腫瘍のみならず、その他の血管新生病を対象にして活発に展開されている。インターフェロン α/β は既に米国では承認され、カポジ肉腫、血管腫その他の腫瘍へ臨床応用されている。さらに、欧米ではPF-4、スラミン、サリドマイドやメタロプロテイナーゼ阻害剤であるバテイマスタットやマリマスタットなどの臨床治験が

進んでいる。いずれにせよ、血管新生の機序や構築様式を把握し腫瘍血管新生の特徴を明らかにすることができれば、がん治療の新しい標的となる可能性が生じる。本セッションにおいても、メタロプロテイナーゼやプラスミノゲンアクチベーター、さらに細胞外マトリックスや接着因子やサイトカインなどの転移/浸潤への関与に関するアプローチならびにユニークな新しい転移動物モデルについて発表される。

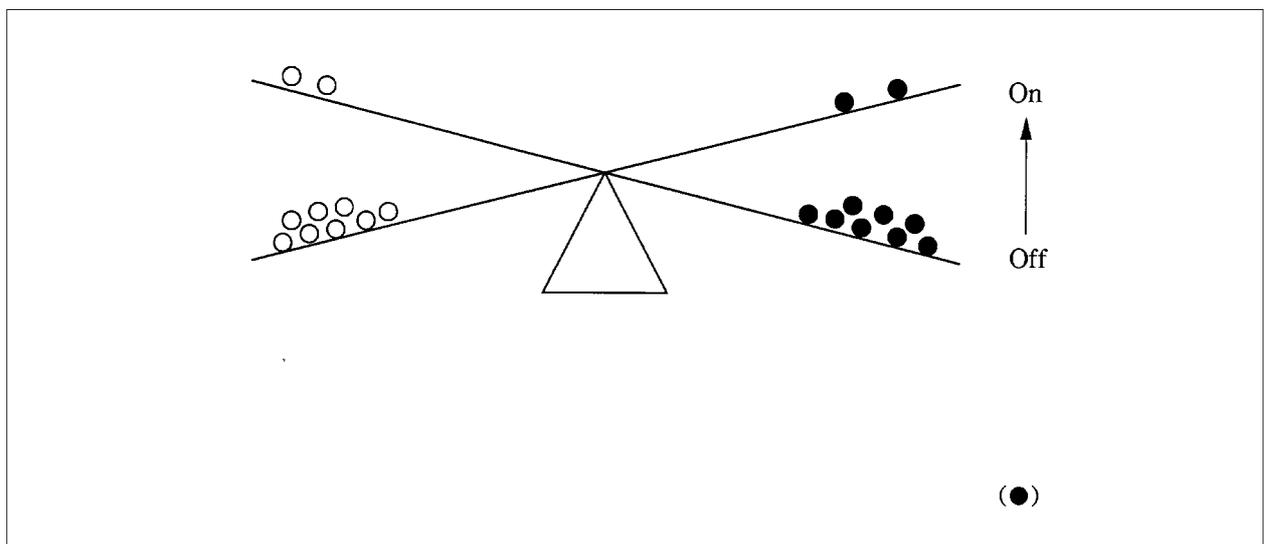


図1 血管新生スイッチのON/OFF

血管新生は促進因子(VEGF,bFGF,IL-8)など(○)と阻害因子(インターフェロン、PF-4、アンジオスタチンなど(●)でバランスされている

1. 血管新生の阻害因子(負の因子)を用いる。
 - ・ インターフェロン α/β
 - ・ 血小板因子4(PF-4)
 - ・ 16kDaのプロラクチン断片
 - ・ トロボスンジン
 - ・ アンジオスタチン
 - ・ エンドスタチン
2. 血管新生の促進因子(正の因子)の機能を阻害する。
 - ・ 血管内皮増殖因子(VEGF)抗体
 - ・ VEGF受容体の抗体や遺伝子操作
 - ・ インテグリン $\alpha v \beta 3$ 抗体
 - ・ プラスミノゲンアクチベーター阻害剤
 - ・ マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤
 - ・ 血管内皮増殖阻害因子や薬剤

図2 血管新生を制御する内因性因子からみた抗血管新生治療

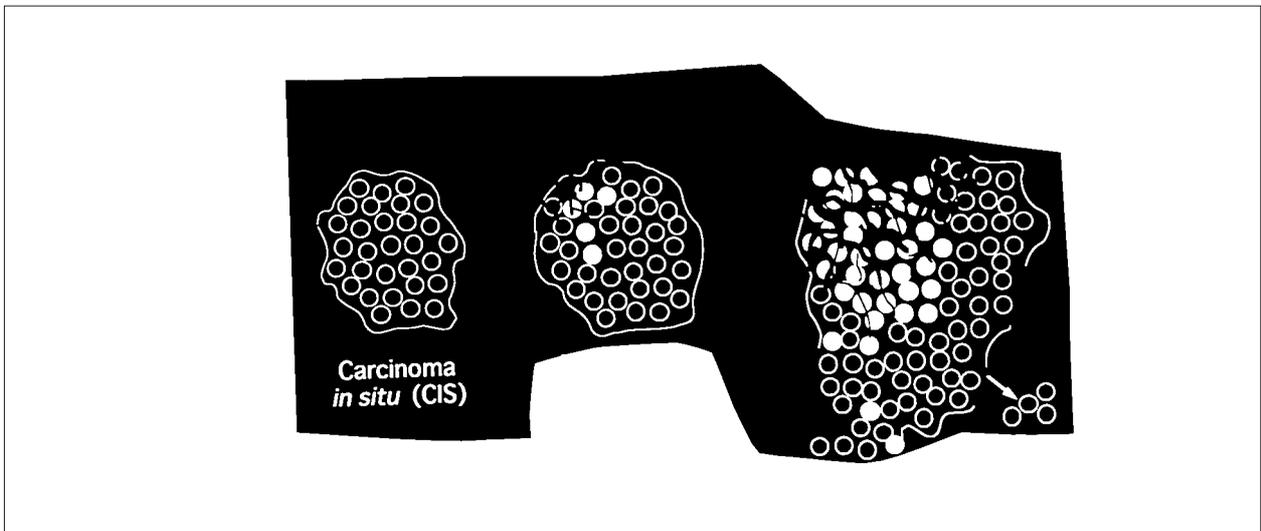


図 3

血管新生はがん化過程において前がん状態ですでに血管新生のスイッチがONになる場合が知られている。血管新生は、その後がん細胞の増殖のみならず浸潤や転移へ大きな役割を果たすことが考えられる

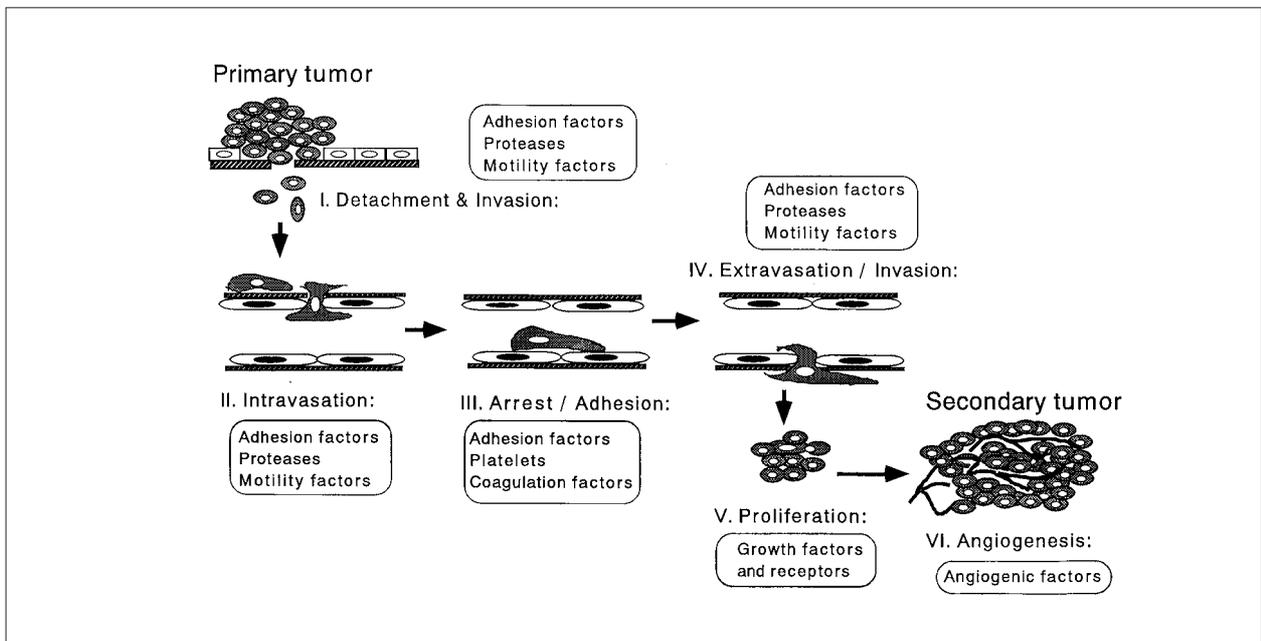


図 4

サマリー

がん転移という現象には、細胞の挙動様式のほとんどが含まれている。したがって、これに関与する分子も極めて多種多様である。がん転移のステップおよび関与する主な分子種を図4に示す。がん転移を阻止するための分子標的の設定は、転移のどのステップを阻止するのかによって自ずと異なってくる。開発しようとする転移阻止法を応用すべき臨床的局面的想定も重要である。この

セッションでは、がん転移の分子標的として、E-カドヘリン(ステップI)、肝細胞由来がん細胞増殖因子(ステップV)、IL-11(ステップIV~V)、プラスミノゲン・アクチベーターやその他の血管新生因子(ステップVI)、ガングリオシドGM2(I~VI)について計6題の発表がなされた。今後、転移の分子機構研究の進展に伴いがん転移の分子標的治療研究が発展することを期待したい。



耐性因子・感受性因子

モデレーター 植田 和光 (京大院・応用生命科学)
杉本 芳一 (癌研・化療センター)

イントロダクション/サマリー

癌の化学療法の臨床において、多くの癌は抗癌剤に対して感受性が低く、また抗癌剤が有効な癌においても、治療途中に感受性が低下することがしばしばあります。このような、癌細胞の抗癌剤感受性が、癌の化学療法の有効性を制限する最大の要因となっています。今回の研究会でも癌治療の分子標的として有望な多くの分子が報告され、今後それらを標的とした抗癌剤が開発されること

が期待されます。しかし、それらの分子標的の質的・量的変化、あるいは抗癌剤の代謝の変化による耐性の出現が、常に次に来る問題として浮かび上がってきます。また、分子標的が細胞内に存在している限り、抗癌剤の細胞膜透過・排出に関する機構は、細胞の抗癌剤感受性と密接に関わってきます。こうした観点から、抗癌剤の耐性・感受性を規定する因子の研究の重要性はますます高まると考えられます。

表1 抗癌剤の感受性を規定する因子

<p>直接因子</p> <ul style="list-style-type: none"> 抗癌剤の体内動態および細胞内動態に関わるもの MDR1、MRP、cMOAT、LRP 細胞膜荷電 抗癌剤の直接の標的分子 DNA topoisomerase I DNA topoisomerase II dihydrofolate reductase thymidylate synthase 抗癌剤の活性化機構 DT-diaphorase 抗癌剤の不活性化機構 GST、glutathione NADPH:cytochrome b5 reductase NADPH:cytochrome P-450 reductase DNA 損傷後におこる修復 抗癌剤の毒性の解除 O⁶-methylguanine DNA methyltransferase, metallothionein <p>間接因子</p> <ul style="list-style-type: none"> 上記蛋白のあるいは他の遺伝子の転写に関わるもの apoptosis に関わるもの 癌の進展、悪性化に関わるもの YB-1、p53、ras、fos および jun、raf-1、bcl-2、MDM2 <p>遺伝子導入による抗癌剤感受性の装飾</p>
--

表では、現在までに研究の進んでいる抗癌剤の感受性規定因子の主なものをまとめてあります。このうち、本セッションでは、抗癌剤の感受性を直接規定する因子として、MDR1、cMOAT、細胞膜荷電、DT-diaphorase、GST などについての発表があり、次いで、その因子の変化が何らかの二次的な変化を細胞に引き起こして抗癌剤の感受性を変化させる、いわば間接因子としてのYB-1、p53、MDM2 などについての演題がありました。また、最後の2演題で、これらの感受性規定因子の遺伝子発現を、遺伝子工学的手法を用いて変化させることにより、細胞の抗癌剤感受性を修飾しようという試みが紹介されました。

これらの抗癌剤耐性因子、感受性因子の研究を癌の治療に応用する方法として、3通りの戦略が考えられると思います。その第1は、患者の生体におけるこれらの因子を質的、量的に評価することに

より、その癌の抗癌剤感受性の子見に役立てること、第2は、癌の抗癌剤に対する感受性を増大させるような分子標的のmodulationを目指すということとあります。特に後者につきましては、既にverapamil や leucovorin などのすぐれた研究がありますが、今後はそうした低分子化合物の開発研究をよりいっそう進めるとともに、分子生物学的手法を用いた感受性規定因子の発現の修飾といった方向にも研究が広がっていくものと期待されます。また、第3の方法として、これらの抗癌剤感受性規定因子が患者の癌で変化している場合に、それを直接の標的とした癌治療の戦略を組み立てることも可能ではないかと考えられます。

本日の抗癌剤の耐性・感受性因子に関する研究が、将来、実際の癌の治療につながるような方向への発展をみせることを期待して、セッションのまとめとしたいと思います。



サイトカイン・分化

モデレーター 石塚 雅章 (微化研)
橋本 祐一 (東大・分生研)

イントロダクション

この会で取り上げられている標的分子は主に個々の細胞増殖の調節に関与したものであるが、癌分子標的の中でもこのセッションで扱う標的は細胞増殖を含め生体のシステミックな反応を仲介する点で他とは異なった特徴をもつといえる。過去においてサイトカインは主に免疫系でのモノカイン、リンフォカインについて研究されてきたが、現在では、サイトカインは炎症性および抗炎症サイトカインに大別して理解することが可能となり、多くの正常細胞、癌細胞でもサイトカインは産生され、それぞれがオートクライン、パラクラインならびに血管新生などに深く関与していることが明らかにされている。(図1) それらの産生調節機構ならびに作用機構は、細胞内における各種の蛋白の作用と同様に、極めて複雑である。それゆえに細胞培養系で望ましい作用を示す一つのサイトカインを治療薬として癌を含むある疾病を克服することには、まだ問題があるといえる。この点を解

決するにはその産生調節機構ならびに作用機構の詳細な研究が重要であろう。

一方、分化誘導については一部の白血病にすでに臨床応用されている物質もあり、さらに分化抗原を含む作用機構を解明することで、他の白血病に特異性の優れた物質の開発も可能と思われ今後の白血病治療に大いに期待できそうであるが、白血病細胞など骨髄系細胞を除く他の細胞についての分化についての知見が少ない様に思われる。腫瘍細胞は、(少なくとも培養細胞では) その造腫瘍性・転移能を指標とした悪性度が可逆的に変化する。これは、古典的発癌モデルで示された発癌プロモーション過程の可逆性を反映したものと捉えられる。したがって理屈の上では発癌プロモーション過程を逆行させることによる癌の治療が可能であって、これを追求したのが分化誘導療法である。腫瘍細胞の悪性化は一般に細胞の分化の逆過程に良く相関している。それゆえ、悪性腫瘍細胞に対して分化を誘導し (= 発癌プロモ-

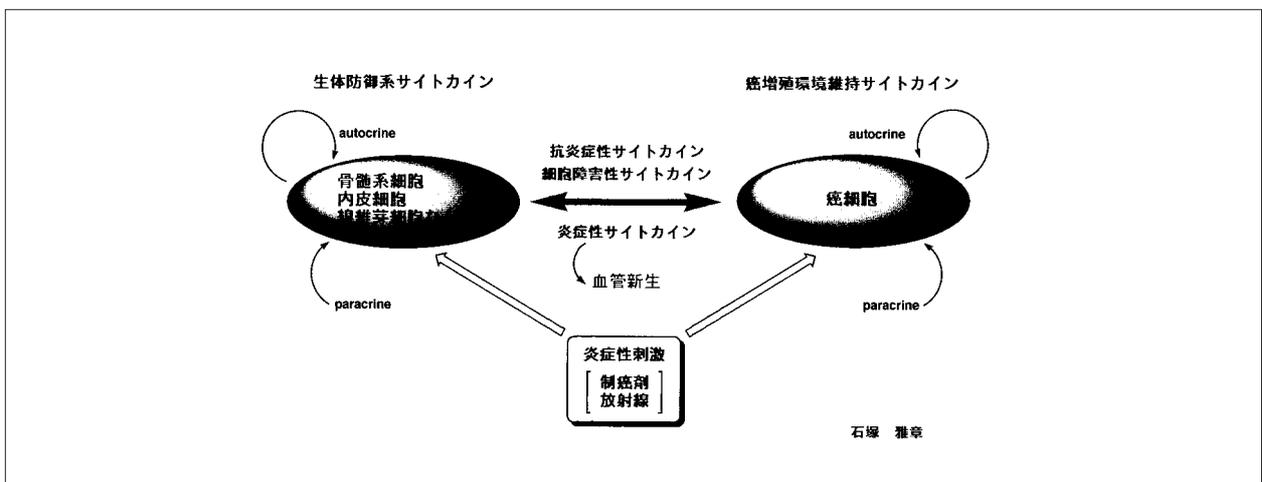


図1 がんサイトカイン

ション過程を逆行させ)、遺伝子的には癌であるが行動様式としては正常細胞とあまり変わらない潜在癌細胞に戻すことによる癌の治療が考案可能で、さらに終末分化まで誘導してアポトーシスによって癌細胞を排除することまで狙うのが分化誘導療法の理想であろう。(図2)

本日のサイトカインのセッションではサイトカインのDDSについて、分化のセッションでは細胞増殖に関与する分化抗原について、他の3題は白血病細胞の分化に関わる遺伝子ならびに分化誘導促進物質についての講演がある。

サマリー

ガンの分化誘導療法は新しいガン制圧のストラテジーとして注目されて久しいが、これはレチノイドによるAPLのCR90%という驚異的な著効を主たるよりどころにしているといつて過言でない。このAPLにおける有効性は現時点では例外的と言えるところにとどまっているかとも思われるが、それでも唾液腺ガン、扁平上皮癌、神経芽腫といった固形ガンや肝癌などにも分化誘導療法が成功裏に施されつつある。

一方、分化誘導剤の側面から見ると、フラボノイドやラク酸などは別として、特異的なものとして

は現時点で実用されるのはレチノイドやビタミンD3アナログといった限られたものでしかない。新たな骨格の開発は言うまでもなく、多剤併用の多様性、分化誘導剤による古典的殺細胞性制ガン剤に対する耐性の克服など、使われ方などにおいてもまだまだ大きなヴァリエティの可能性はあるはずと考えている。

ガン細胞の分化については、本研究会で議論された細胞周期やアポトーシスの問題と緊密に関連している。当然、同じく本研究会で議論されたシグナル伝達系、転写因子、ガン遺伝子産物が基盤にあるはずと理解している。

本セッションでは、最初にまずサイトカインその物を治療薬とする手法における問題点のDDS的一解決法が提案された。サイトカインの問題については、ガンを細胞の疾病というスタンスではなくて全身症状として捉えると大変重要であり、特に白血病の分化誘導療法においては、その中でも特にマクロファージ系への分化誘導において分化細胞が種々のサイトカインを出すようになるといった問題もある。

以下、増殖関連抗原や分化誘導抑制因子、移植性と分化に関連した新規遺伝子などの話題が提供され、最後にビタミンD3を主役としてエタクリン酸

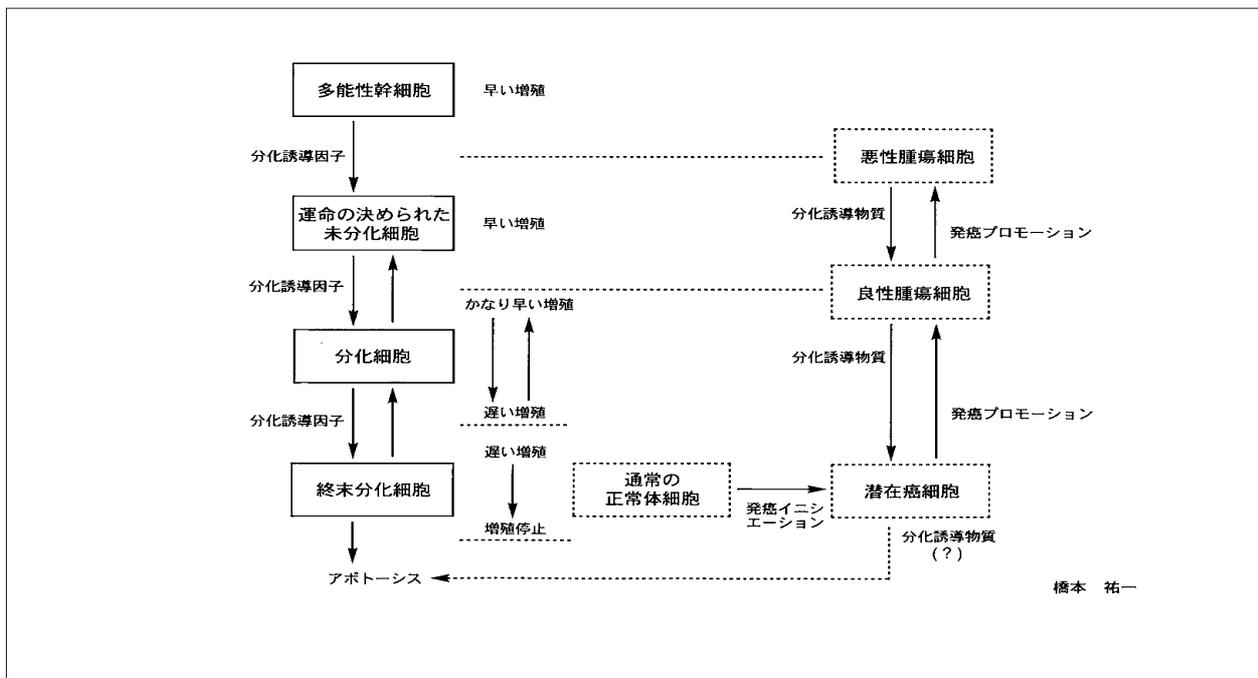
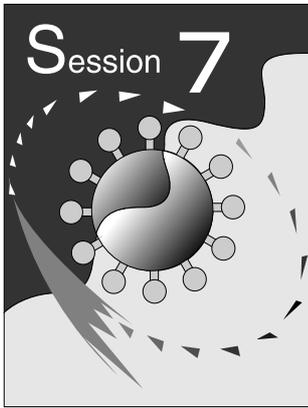


図2 分化誘導療法の戦略概念図

の併用の提案がなされた。これらの発表は、古典的制ガン剤やそれに対する耐性との兼ね合い、発ガンプロモーションの機構に関する内容をも含み、医薬化学的に新しい分化誘導剤を開発しようとする上でも示唆に富んだものである。

サイトカイン療法とか、分化誘導療法という名前は存在するが、とにかく集学的な治療法を適切に施すのが最善であることは広く言われるところであって、そのためにも、本研究会で提供された話題を初めとして多くの事象を正確に理解・評価する必要があるのだと認識している。



アポトーシス・細胞骨格

モデレーター 梅澤 一夫 (慶大・理工)
早川 洋一 (東大・分生研)

イントロダクション

anti-Fasで処理した細胞は、数時間で典型的なアポトーシスを起こし、細胞が縮小し、周辺にアポトーシス小体がみられるようになります。アポトーシスは1970年代に放射線を照射した細胞が以前から知られていたネクローシスと異なった形態的变化を起こし、細胞死に到ることから命名されました。アポトーシスによる細胞死では細胞の内容物が常に膜におおわれているので周囲に炎症を誘起しない特徴があります。このため動物の発生、昆虫や両生類の変態、胸腺におけるダブルポジティブ細胞の消去などに重要な細胞死の型と考えられています。アポトーシスは細胞の不慮の死ではなく、計画された死 **programmed cell death** であり、シグナル伝達を介する細胞死といってもよいと思います。

アドリマイシンやシスプラチンなど多くの抗がん剤が、がん細胞にアポトーシスを起こすことが知られています。アポトーシスは一般にネクローシスより迅速に誘導され、典型的な場合、薬剤処理後数時間で細胞死がみられるようになります。そこで、抗がん剤のアポトーシス誘導能は治療効果に有利と考えられますが、実際にこの効果が臨床での抗がん剤の作用にどれ位寄与しているかは、わかっていません。

次に、アポトーシス誘導のメカニズムに移ります。表1に代表的なアポトーシス調節因子を記載しました。左側がアポトーシス誘導・促進因子、右側は抑制因子です。Fas、TNF- α レセプター、TGF- β 1レセプターのリガンドによる刺激はアポトーシスを誘導します。一方、IGFレセプター、NGFレセプターなど増殖因子レセプターの刺激は抑制的に

表1 アポトーシス調節因子

促進因子	抑制因子
Fas	増殖因子／増殖因子レセプター
TNF- α /TNF- α レセプター	
TGF- β 1/TGF- β 1 レセプター	
SAPK/JNK pathway	ERK pathway
p53	NF κ B、Rb、p21
Bax、Bad、Bak、Bik、Bcl-xS	Bcl-2、Bcl-xL
ICE プロテアーゼファミリー	
活性酸素	

働いて、リガンド除去により、しばしばアポトーシスが誘導されます。細胞内シグナル伝達ではSAPK/JNKの活性化はアポトーシス誘導に関与することがあり、リン酸化チロシンからERK活性化の経路は抑制的に働くと考えられています。転写因子ではp53がよく知られている誘導・促進因子で、NFκBは最近アポトーシス抑制蛋白質であることがわかりました。細胞周期に関与するRbやp21はS期導入を阻害する蛋白質で、しかも、アポトーシス抑制作用があります。つづりがBで始まるBcl-2ファミリーのBax、Badなどは促進蛋白、Bcl-2は有名なアポトーシス抑制蛋白質です。アポトーシス作動期に働く因子として、ICEプロテアーゼファミリーがかなり一般的です。特にCPP32様プロテアーゼはFasや多くの抗がん剤等に誘導されるアポトーシスへの関与が報告されています。活性酸素も多くのアポトーシスに関与しています。

このセッションには表1の中の多くの因子、Fas、Bcl-2、Bax、プロテアーゼ、活性酸素などがキーワードとして登場します。そのほか、細胞骨格か

らの演題を含め、がん細胞にアポトーシスを誘導するたくさんの低分子が紹介される予定です。

サマリー

本セッションのテーマは、アポトーシスと細胞骨格であったが、細胞骨格である微小管に作用する物質がアポトーシス誘導活性を併せ持つという報告からも伺えるように、アポトーシス研究は様々な角度からのアプローチが試みられている。アポトーシスの研究はがんの領域のみならず、細胞生物学的にも、分子細胞生物学的にも世界で最もホットな研究領域である。また、その進歩は目ざましく、月に一度の割合で新しいアポトーシス関連分子の発見が誌上を賑わしているほどである。がんの分子標的という立場で眺めれば、これらの新しい分子のほとんどすべてが標的となりうるわけであり、この分野の発展は約束されていると言っても過言ではない。来年の本会においても、研究がますます進展し、新しい分子標的、新しい治療法の報告を聞けるのを楽しみにしている。



遺伝子治療

モデレーター 今井 浩三 (札幌医大)
清水 信義 (慶大・医)

イントロダクション/サマリー

米国をはじめとした欧米において、癌に対する多くの遺伝子治療プロトコルが提出され、また phase I ~ II トライアルが施行されつつある。しかし、倫理面を別にしても、多くの問題点が指摘されている。その主たるものは、表1に示すように、1) 標的細胞へのターゲッティング、ならびに、2) がん細胞への遺伝子導入効率とその安定性であろう。加えて、3) 特にアデノウイルスベクターの場合、ベクターに対する免疫反応も問題点のひとつであろう。

表1 癌の遺伝子治療の問題点

- 1) 標的細胞へのターゲッティング
- 2) がん細胞への遺伝子導入効率と安全性
- 3) ベクターに対する免疫反応

一方、免疫学の分子レベルの進歩は腫瘍「特異」抗原の同定を可能としつつある。この分野の進展は、変異を示す p53 のような重要な機能分子が MHC 上に提示され、T 細胞により認識されることを明らかにした(表2)。すなわち、メラノーマをはじめとして、T 細胞の標的となるヒト腫瘍抗原ペプチドが続々と明らかにされつつある。そこで、このペプチドあるいはオリゴヌクレオチドをワクチンとして用い、腫瘍特異的な CTL を誘導しようとする試みも行われている。特に強力な抗原提示細胞である dendritic cell を利用する動きが盛んである。この分野の進歩が conventional な「遺伝子治療」にとってかわる可能性がある。

本セッションにおいては、イムノジーンを用いた遺伝子のデリバリーシステム、遺伝子導入法の改良、ならびに免疫遺伝子治療についてその基礎データが示され、熱心な討論が行なわれた。

表2 T細胞によって認識されるヒト腫瘍抗原遺伝子とそのエピトープ

遺伝子	HLA	ペプチド	腫瘍	正常組織
MAGE-1	A1 Cw16	EADPTGHSY SAYGEPKRL	メラノーマ	精巣
MAGE-3	A1 A2	SVDPIGHLV FLWGPRALV	メラノーマ	精巣
BAGE	CW16	AARAVFLAL	メラノーマ	精巣
GAGE	CW16	YRPRPRRY	メラノーマ	精巣
Tyrosinase	A2 A2 A2 DR4	MLLAVLYCL YMNGTMSQV YMDGTMSQV	メラノーマ	メラノサイト
Melan-A/MART-1	A2 A2	AAGIGILTV ILTVILGVL	メラノーマ	メラノサイト
gp100/pm17	A2 A2 A2 A2 A2	LLDGTATLRL YLEPGPVTA KTWGQYWQV ITDQVPFSV VLYRYGSFSV	メラノーマ	メラノサイト
gp75/TRP-1	A31	MSLQRQFLR	メラノーマ	メラノサイト
PRAME	A24	LYVDSLFFL	メラノーマ	精巣
MUM-1	B44	EEKLIVVLF	メラノーマ	(点突然変異)
CDK4	A2	ACDPHSGHFV	メラノーマ	(点突然変異)
β -catenin	A2		メラノーマ	(点突然変異)
p21-ras			膵癌、大腸癌	(点突然変異)
p53	A2			(点突然変異)
BCK-abl	A3,A11		CML	(融合遺伝子)
HER2/neu	A2		乳癌、卵巣癌	
SART-1	A26		扁平上皮癌	

アンケート結果まとめ

(10月24日現在、世話人75人中31人より回答あり)

I. がん分子標的治療研究会のスタイルについて

1) 会 期

1日—6

2日—22

3日—0

その他 (1 or 1日半—1

2日目も16時位迄—1

2 or 3日—1

2) 内容・形式

・特別講演

要—7

○ トピック：ミスマッチ修復と抗癌剤感受性

○ スピーカー：Peter Karan (ICRF)

不要—18

・シンポジウム

要—11

○ 分子標的をカテゴリー別に分けて企画されたらいかがでしょうか。

例えば、シグナル伝達など指定でよいと思います。

○ 1) 遺伝子治療 2) 癌ワクチン 3) 造血幹細胞移植の癌治療への応用など。

不要—7

・ワークショップ

要—7

○ 何かテーマを絞って、招待者も含めて行う。

○ 抗腫瘍物質の細胞内標的分子
(分子標的→薬剤開発の流れだけでなく、物質→標的分子の流れから新しいヒントが得られるのでは?)

不要—11

シンポジウムorワークショップのいずれか—2

○ どちらかで、分子標的としてのtelomeraseを取り上げることは可能でしょうか。

○ 一般演題の時間を圧迫しない程度に。

・一般演題

口演のみ—16

ポスターのみ—2

口演・ポスター—11

その他のアイデア—1

○ 演題がふえてきたら口演・ポスター併用

・一般演題数としてどれくらいが妥当か?

～50—9

50～100—13

100～200—5

200以上—0

3) 口演会場の設定:

1会場で全口演を行うべき—23

複数会場で平行して口演を行うべき

2会場—7

3会場以上—0

その他のアイデア

○ ポスター(有)のときは、2～3分のsum upをオーラルで。

4) 希望発表領域の設定:

現状でよい—24

○ 時々新たな分野を検討し追加

新たな発表領域名が必要—3

○ 癌遺伝子産物→癌(抑制) 遺伝子産物

サイトカイン→増殖因子・サイトカイン

DNA複製・修復→DNAトランスアク

ション(組換え、クロマチン動態も含む)

としたら如何でしょうか。

○ 構造活性相関、新リード、etc. ?

○ 酸化ストレスとレドックス制御

その他のアイデアー1

○ 研究会の主旨が標的治療であるので、それに限りなく近いテーマに絞った方が実りある討論になると思います。(例えば、何かの遺伝子に異常があるなしで、将来的に治療に結びつくか否かが不明のものは割愛する等)

○ セッション分類の次元が? 転移・浸潤、遺伝子治療が他と少し異質。

○ 固定せずに流動的に。

5) 研究会の開催に関してのその他の意見

○ 今後ますます発展する分野だと思っておりますので期待しています。

○ 癌学会との発表の重複はやや問題かもしれませんね。

○ 癌の分子標的治療との積極的な関連ある演題を重視したらよいと思います。単なる細胞毒性物質の話や、新しいgeneのcloningの話はできるだけ避けてほしい。

○ 各セッション(標的)ごとにコーディネーターに何がポイントかを冒頭に説明してもらい、セッション最後にまとめのディスカッションがあれば良いと思います。ほぼ昨年の形式でよいのですが、まとめのディスカッションの時間が不十分だったと感じます。

○ 演題の採択率を厳しくする。

○ 新しい作用機構を持った抗癌剤は、時として予想外のことが契機となって誕生する、あるいは再発見されるのではないかと思います。実際先日の研究会では自分の研究とは一見関係ないような研究報告から多くのことを勉強させていただきました。そこで本研究会ではシンポジウムなどではなくて、できるだけ一般講演に時間を割いていただき、多くの分野のさまざまな報告を聴かせていただきたいと思います。

○ 当面はこのままの形式で結構に存じます。

○ 当分の間、日時(6月上旬)、場所(東京、薬学会館)を限定した方が良くとも思考する。会長の挨拶も不要、懇談会で挨拶できる。

○ セッションが8あります。それを3または2分割して、今年はセッション1~3、来年4~5、再来年6~8という形式はどうでしょうか。細切れにならなくて、充実したものになりませんか。

○ 癌免疫の最新のトピックスが聞ければと思います。

○ p53などの異常が臨床癌(特に固形癌)の抗癌剤耐性にどの程度関与するのか明らかにされればと思います。

○ 第1回は大変満足!

○ ケミストリーの話の少ないのが残念です。化合物を主役に据えた発表領域を設けたらどのようなになるか、とも思います。

○ 癌学会の発表内容との重複が多いので、データはなるべく省略して分子標的設定のアイデアを中心に簡略な発表を望む。

○ 演題数を減らし、討論時間を増やしてほしい。

○ ミニ癌学会のようにみえるが、どう特色を出すか?!

発表時間をもっと長くするとか、毎年あるテーマでシンポジウムを設定して特色あるものにする必要があるのでは。

○ 演題数を絞って1人20分位でじっくり話してもらってはどうか?

○ 当面は大きな学会にはせず、少数のレベルの高い発表を全員が聞くような特色のある会であって欲しいと思います。

II. 研究会の開催以外のことでの意見

○ 学会、研究会の増加でどのように出題してよいか悩んでおります。

若い人が困らないよう、相互の関連が明確になるようにしていただければと思います。

○ 癌学会(または癌治学会)などと発表内容が重複しないようにしているのですが、そうする

と出せる演題数が限られてしまいます。

- モデレーターは、50才以下、できれば45才以下の人とする。
- 大変な御苦労と存じます。会の開催はシンプルが最も良いと思います。

事務局コメント

研究会のスタイルとして、アンケート結果を要約すると以下のようなになる。

- 1) 会期は、2日間を良しとする意見が71%を占めた。
- 2) 特別講演は不要とする意見が70%を占めた。
- 3) シンポジウムまたはワークショップは、要・不要の意見が相半ばした。
- 4) 一般演題発表形式は、口演のみが53%、口演・ポスターが37%
- 5) 一般演題数は、50-100題を良しとする意見が48%、50題未満を良しとする意見が33%であった。
- 6) 口演会場は一つにするべきという意見が77%を占めた。
- 7) 希望発表領域の設定は現状でよいという意見が86%を占めた。

第1回研究会は、2日間で一般演題のみ、口演・ポスター合計85題、口演はすべてワークショップ形式で1会場で行われた。アンケート結果からは、第1回研究会のスタイルがおおむね好評で是認されたと見られる。ただし、1) 癌学会の発表内容との重複はさけるべきという意見がある一方、重複をさけると演題を出しにくくなる、2) 質の高い内容を保つために演題数を絞ってはどうかという意見がある一方、できるだけ多くの異なる分野の発表を聴きたいという声もある、など相反する意見もあった。「がん分子標的治療研究会」の特色を今後どう打ち出していくかは重要な問題であるが、当面現状のスタイルを基本に検討していくことになろう。

がん分子標的治療研究会

個人会員・学生会員 入会申込書

申込年月日： 年 月 日

ご入会手続 (本書式をコピーしてお使いいただいても結構です)

同封の振込用紙で年会費（個人会員5,000円、学生会員2,000円）をお納め下さい。

本書式に年会費振込用紙控えのコピーを添付してFAXまたは郵送でお送り下さい。

払込先：郵便振替00150-4-170819 「がん分子標的治療研究会」

送り先：FAX：03-3917-7564

郵送：〒170-0012 東京都豊島区上池袋1-37-1

(財) 癌研究会癌化学療法センター内

「がん分子標的治療研究会」事務局 (TEL：03-3918-0111 内線4311) 宛

私は、「がん分子標的治療研究会」に 個人会員 学生会員 として参加致します。(いずれかに○)

	姓	名	学位
氏名			
英文	Family Name	First Name	専門分野
所属機関			TEL
所属機関			FAX
住所			E-mail

コメント (あればお書き下さい)

振込用紙控えのコピー添付欄

がん分子標的治療研究会

法人会員 入会申込書

申込年月日： 年 月 日

ご入会手続 (本書式をコピーしてお使いいただいても結構です)

同封の振込用紙で年会費(200,000円)をお納め下さい。

本書式に年会費振込用紙控えのコピーを添付してFAXまたは郵送でお送り下さい。

払込先：郵便振替00150-4-170819 「がん分子標的治療研究会」

送り先：FAX：03-3917-7564

郵送：〒170-0012 東京都豊島区上池袋1-37-1

(財)癌研究会癌化学療法センター内

「がん分子標的治療研究会」事務局 (TEL：03-3918-0111 内線4311) 宛

当社は、「がん分子標的治療研究会」に法人会員として参加致します。

貴社名

部課名

代表者氏名	姓	名	学位	専門分野
英文	Family Name	First Name	TEL	
			FAX	
			E-mail	

住所 〒

代表者を含めて10名の方のお名前をお届けください。

	姓	名	Family Name	First Name	学位	専門分野
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

代表者以外の方のお名前は後日お届けいただいても結構です。

振込用紙控えのコピー添付欄

目次

がん分子標的治療研究会の活動・現状報告	1
がん分子標的治療研究会設立趣意書	2
がん分子標的治療研究会 役員一覧	3
第2がん分子標的治療研究会総会 開催のお知らせ	4
第1回がん分子標的治療研究会を終えて	6
サマリー	
Session 1 癌遺伝子産物・シグナル伝達系・転写因子	8
Session 2 DNA複製・修復	12
Session 3 細胞周期	15
Session 4 転移・浸潤	17
Session 5 耐性因子・感受性因子	23
Session 6 サイトカイン・分化	25
Session 7 アポトーシス・細胞骨格	28
Session 8 遺伝子治療	30
世話人アンケート結果	32
入会申込書	36

年会費請求・振込のお願い

がん分子標的治療研究会会員各位

謹啓 会員各位におかれましては益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。
さて、平成10年度（平成10年1月1日から平成10年12月31日まで）の年会費を下記の通りご案内申し上げます。本研究会の諸事業は会員各位の会費によって運営されております。なにとぞ事情ご賢察のうえ、会費をご納入下さいますようお願い致します。
末筆ながら、会員各位のご活躍をお祈りいたします。 敬具

記

年会費	
個人会員	5,000円
学生会員	2,000円
法人会員	200,000円

振替用紙を同封いたしますので平成9年12月25日までにお納め下さいますようお願い申し上げます。

第2回がん分子標的治療研究会総会

会 期：平成10年6月4日(木)－6月5日(金)

演題締切：平成10年2月28日(必着)

がん分子標的治療研究会
Japanese Association for Molecular Target Therapy of Cancer

事務局

〒170 東京都豊島区上池袋 1-37-1 癌研究会癌化学療法センター内
TEL：03-3918-0111 内線：4311 FAX：03-3917-7564