The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	「プロテアゾーム阻害剤」雑感 : 偶然ということ
Author(s)	辻中, 利政
Citation	癌と人. 2006, 33, p. 13-16
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/23630
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

「プロテアゾーム阻害剤」雑感 —偶然ということ—

辻 仲 利 政*

出会い

プロテアゾーム阻害剤であるボルテゾミブ（商品名：ベルケード）は，いまや分子標的治療剤のヒーローの一つとしての地位を確立しつつある。再発症例や治療抵抗性などの難治性多発骨髄腫に対して，目覚しい治療効果が得られることが判明した。難治性多発骨髄腫に対する従来の標準治療であった大量デキサメサゾン療法に比較して無増悪期間および生存率が良好であったため，現在では第一選択治療薬と考えられている[1,2]。加えて，ステロイドおよびサリドマイドなどとの併用によりさらに良好な治療効果が得られることが判明してきた。米国では現在，骨髄腫に加えて，肺がん，膵がん，大腸がん，前立腺がん，などの固形がんに対して，化学療法と併用した第II相臨床試験が進行中である。固形がんに対する治療効果が証明されれば，まさに時代の寵児として脚光を浴びることが予想される。

プロテアゾームは細胞内蛋白分解酵素の一つであり，19S制御サブユニット（標的蛋白に結合したポリユビキチンと結合する受容体機能）と20S蛋白分解サブユニットにより構成される複合体である。エネルギー（ATP）依存性にユビキチン化された標的蛋白（蛋白のリシン側鎖にユビキチンが順次付加結合してポリユビキチン鎖を形成する）を分解する。標的蛋白として，細胞周期，アポトーシス，転写，細胞接着に関与するたくさんの蛋白の分解を担当することが判明しており（表1），プロテアゾームを阻害することにより何らかの抗がん作用が得られることは容易に推測される。また，免疫担当細胞における抗原提示のプロセス（細胞に取り込まれた抗原蛋白の分解を行い，分解産物である抗原ペプチドを細胞表面に提示させる）に必須の蛋白分解酵素である。プロテアゾーム阻害剤としては，ボルテゾミブ以外にもたくさんの薬剤が開発され研究されているが，臨床応用されたのはボルテゾミブのみである。（表2）

プロテアゾームの機能から推定すると，プロテアゾーム阻害剤によりがん細胞増殖抑制やアポトーシスの促進およびがん細胞と間質細胞の相互作用が抑制されることが予想される。この機序は固形がんにおいて共通であるため，臨床応用を考えるなら頻度の高いがん腫から研究を始めるのが通常である。多発骨髄腫は悪性疾患としては比較的稀であり，ではなぜボルテゾミブがまず始めに骨髄腫において研究され臨床応用されたのであろうか。

ボルテゾミブを開発したのはミレニューム社の研究者であったアダムス博士である。ある日のこと，アダムス博士は，旧知であり多発骨髄腫の世界的権威であるダナハーバーがんセンターのアンダーソン博士のもとを訪ねて，面白い化合物ができたから一度試してみないかと小さなケースに入った白い粉を取り出した。難治性多発骨髄腫に対する画期的な治療薬を見出そうとしていたアンダーソン博士は，躊躇なくその白い薬剤を骨髄腫の実験系でテストした。試験管内および動物モデルにおいて良好な結果が得られたので，詳しい作用機序の解析を行うことと平行して，第I相臨床試験に引き続いて第II相試験が行われた結果，そのすばらしい効果が確認されたのである。

科学の歴史においては，偶然により新たな発見が生まれ，偶然の出会いにより物事が一気に発展することがある。医学においてもまさに同様であり，歴史を変えるような偶然が存在している。

＊国立病院機構大阪医療センター外科科長，がんセンター長

表１：プロテアゾーム V–より分解される細胞内蛋白

Table 1. Some proteasome substrates	
Protein name	Protein function
Cell division	
Topoisomerase II	DNA 'unwinding'
Topoisomerase I	DNA 'unwinding'
Pro- and anti-apoptosis factors	
XIAP	Inhibitor of apoptosis
Bax	Pro-apoptosis factor
Bcl-2	Inhibitor of apoptosis
Survivin	Inhibitor of apoptosis
Securin	Anaphase-promoting factor
Cell-cycle progression	
Cyclin E	Kinase activator
p27 KIP1	Cyclin-dependent kinase inhibitor
p21 CIP1/WAF1	Cyclin-dependent kinase inhibitor
Transcriptional regulation	
Androgen receptor	Nuclear steroid receptor; transcription factor
Fos/Jun	Transcription factor; early immediate gene
Id	Transcription factor inhibitor
IκB-α	Inhibitor of NF-κB
Tumor suppression	
p53	Transcription factor
Rb	Inhibitor of E2F

プロテアゾーム阻害剤

筆者の大阪大学第 2 外科での最初の研究テーマは，細胞内刺激伝達系に関与するカルシューム依存性の蛋白分解酵素を見出し，その特性を明らかにするものであった。「刺激を受けることにより細胞内カルシュームが上昇する，その後蛋白分解酵素が働いて細胞の形態変化や細胞内蛋白のプロセッシングが生じて，各種の細胞反応が起こる」という作業仮説に基づいて研究を行った。実験モデルとしては，血小板を用いた。刺激伝達の結果を血小板凝集反応として観察できること，止血反応において最も重要な因子であること，扱いやすいこと，などが血小板を用いた理由であった。

朝早くから夜遅くまで氷冷室に入り，ひたすら蛋白分解酵素の精製を目指す日々が続いた。苦労の挙句，ようやくカルシューム高感受性の蛋白分解酵素（カルパイン）の精製に成功して，その性質を明らかにした[3]。カルパインの生体内での生理学的役割を検討するためには，細胞内透過性のある特異的な阻害剤が必要と考えられた。サントリー研究所との共同研究により特異的カルパイン阻害剤を開発し，カルペプチンと名づけて報告した[4]。カルペプチンを血小板反応のみならず，

表２　プロテアゾーム阻害剤

Agents	Origin	Phase	Comments
Aclacinomycin A	Natural	Preclinical	Laboratory use
Benzamide (CVT-634)	Synthetic	Preclinical	Laboratory use
Bortezomib (PS-341)	Synthetic	Clinical, for lymphoma	Approved by the FDA in 2003 for the treatment of relapsed and refractory multiple myeloma
Calpain inhibitors I and II	Synthetic	Preclinical	Laboratory use
Eponemycin	Natural	Preclinical	Laboratory use
Epoxomycin	Natural	Preclinical	Laboratory use
Lactacystin	Natural metabolite of *Streptomyces*	Preclinical	Specific, but weak, inhibitor that blocks proteasome activity by targeting the catalytic β-subunit; also inhibits cathepsin A; no effect on serine or cysteine proteases
MG132	Synthetic	Preclinical	Targets calpains and cathepsins
NLVS	Synthetic	Preclinical	Vinyl sulphonate tripeptides that also inhibit cathepsins
MLN-519 (a lactacystin derivative)	Synthetic	Clinical, Phase I	Safety and tolerability recently evaluated in a placebo-controlled Phase I study in 39 healthy volunteers
Ritonavir	Synthetic	FDA-approved for HIV	HIV1 protease inhibitor that also selectively inhibits the proteasome

The primary inhibitory target for these compounds is the chymotryptic-like activity of the proteasome[26]. Also reviewed in Refs 8,86,95. FDA, Food and Drug Administration; HIV, human immunodeficiency virus; NLVS, 4-hydroxy-5-iodo-3-nitrophenylacetyl-Leu-Leu-leucinal-vinyl sulphone.

肝虚血再還流モデルに用いてその作用を検討し，一連の研究を終了した。

食道胃グループの中堅として臨床で日々忙しい中，がん細胞に対する各種蛋白分解酵素阻害剤の効果を観察してみようと思い立った。培養がん細胞を用いた実験を行っていたグループがあったので，少し間借りしてがん細胞増殖を抑制する阻害剤があるかどうか，いいかえれば増殖に関与する蛋白分解酵素があるかどうか検討した。他の阻害剤では全くなんの影響もなかったが，カルペプチンを添加すると固着していたがん細胞がいつも浮遊してしまった。増殖抑制が観察できないばかりか，何らかの有害な作用かもしくは実験上の手違いがあると考えてしまった。臨床で忙しく，進行中の他の研究プロジェクトでよい結果が得られてきたので，この問題は追及できずに忘れていた。

その後，プロテアゾームが注目を浴びるようになり，またアポトーシスという細胞死の存在と概念が確立された。一方，東京都臨研のグループから，私たちの開発したカルペプチンがプロテアゾーム阻害作用を有することが報告された。表2の calpain inhibitor I　はカルペプチンと同一のものである。

カルパイン阻害剤として開発してきたものが，プロテアゾームへの良好な阻害作用を有していたこと，プロテアゾームを阻害することでアポトーシスが誘導され細胞死に至ること，など，カルペプチンを用いてがん細胞への添加実験をしていたときには，全く思いもよらなかったことが，最近になって理解することができた。

偶然大きな事象に出会っていても，そのときに考えがなければ簡単に見逃されてしまう。意識がなければ偶然は生まれないことを思い知らされた。現在，日々がん患者さんの治療に携わっているが，大切な偶然を見逃していないか絶えず自問しなければならないと思う。

プロテアゾーム

外科代謝栄養を主要研究テーマとした研究室のチーフになり，研究テーマのひとつに「侵襲時における骨格筋萎縮のメカニズムとその制御」を選んだ。大きな外科手術の後，患者さんの筋肉量は著しく減少する。筋力低下により術後の QOL が低下するだけでなく，職場復帰が遅れること，さらに骨格筋や呼吸筋の減少は肺炎などの致死的合併症の原因になることが予想される。筋萎縮のメカニズムと制御法が解明できると大手術も安全に行うことが可能になり，患者利益に結びつくことになる。

筋萎縮が生じるためには細胞内の蛋白分解酵素システムの活性化が起こると仮説して，筋細胞を用いた実験系を確立した。侵襲のメディエイターとして知られている各種のサイトカインによる刺激実験をおこなったところ，インターロイキン 6 のみがプロテアゾームシステムを活性化し，カテプシン（代表的な細胞内蛋白分解酵素のひとつ）B, L 活性を亢進させた[5]。インターロイキン 6 高発現マウスを作成して，実際に筋肉萎縮が生じるか，また筋細胞内で同様の蛋白分解酵素系の活性化が起こるか観察すると，予想通りの変化が生じていた[6]。インターロイキン 6 受容体阻害剤を作成して，インターロイキン 6 高発現マウスに投与すると，筋萎縮は防止され，蛋白分解酵素の活性化も抑制された[7]。次に，がん悪疫質のモデルとして，ヌードマウスに腫瘍を植えつけて筋萎縮を観察すると，確かに筋肉は萎縮した。さらに，インターロイキン 6 受容体阻害剤を投与すると筋萎縮は抑制され，蛋白分解酵素系の活性化も抑制された[8]。しかし，筋肉の萎縮を完全に防止することは出来なかったため，インターロイキン 6 のみが唯一の筋崩壊誘導因子であるとは結論されなかった。

私たちは，プロテアゾームの筋構成蛋白分解作用にのみ注目して研究していた。しかしながら，プロテアゾーム研究が発展するにつれて，前述したように細胞周期関連蛋白や転写因子のような超短寿命蛋白の機能制御に関与する役割が重要であると考えられるようになった。そのため，プロテアゾーム阻害剤が現在分子標的治療剤として盛んに研究されているのである。最初に筋細胞ではなく，がん細胞を用いていたらプロテアゾー

ムとの出会いは全く異なった筋書になっていたかも知れない。インターロイキン 6 は現在アポトーシス阻害因子とも知られている。その作用はインターロイキン 6 受容体を介したプロテアゾームの活性化に一部基づいていると推測できる。

研究との出会いもまた偶然に左右されている。必死で研究してわかったと思っても，実は真実の尻尾をつかんだに過ぎないこともまたよくあるのである。

参考文献

1) Richardson PG, et al: A phase 2 study of Bortezomib in relapsed, refractory myeloma. New Engl J Med 348: 2609-2617, 2003
2) Richardson PG, et al: Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. New Engl J Med 352: 2487-2498, 2005
3) Tsujinaka T, et al: Purification and characterization of a low calcium requiring form of Ca^{++}-activated neutral protease from human platelets. Biochem Int 6: 71-80, 1983
4) Tsujinaka T, et al: Synthesis of a new cell penetrating calpain inhibitor (Calpeptin). Biochem Biophys Res Commun 153: 1201-1208, 1988
5) Ebisui C, Tsujinaka T, et al: Interleukin-6 induces proteolysis by activating intracellular proteases (cathepsins B and L, proteasome) in C2C12 myotubes. Clin Sci 89: 431-439, 1995
6) Tsujinaka T, et al: Muscle undergoes atrophy in association with increase of lysosomal cathepsin activity in interleukin-6 transgenic mouse. Biochem Biophys Res Commun 207, 168-174, 1995
7) Tsujinaka T, et al: Interleukin 6 receptor antibody inhibits muscle atrophy and modulates proteolytic systems in interleukin 6 transgenic mice. J Clin Invest 97: 244-249, 1996
8) Fujita J, Tsujinaka T, et al: Anti-interleukin-6 receptor antibody prevents muscle atrophy in colon-26 adenocarcinoma-bearing mice with modulation of lysosomal and ATP-ubiquitin-dependent proteolytic pathways. Int J Cancer 68: 637-643, 1996