Osaka University Knowledge Archive

Title	イレッサの新規標的GAK 阻害による間質性肺炎誘導機序の解析
Author(s)	内藤, 陽子
Citation	癌と人. 2013, 40, p. 30-31
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24912
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

イレッサの新規標的 GAK 阻害による間質性肺炎誘導機序の解析

内 藤　陽 子*

さまざまな悪性腫瘍では上皮成長因子受容体 (EGFR) の変異や過剰発現により、EGFR シグナル伝達が異常となり増殖や細胞死の制御が破綻しています。ゲフィチニブ（イレッサ™）は EGFR のチロシンキナーゼを特異的に阻害する分子標的薬で、臨床的にも非小細胞肺癌をはじめとする癌に対して有効であることが知られています。しかし、わずかな数ではあるものの一部 (0.7%) のゲフィチニブ使用例では急性肺障害や間質性肺炎などの肺機能不全といった重篤な副作用を併発して死に至る場合もあり、社会問題となった経緯があります。抗腫瘍薬としては有用であるものの、副作用の原因となる新たな分子標的や発症機序については未だ不明であるため、より安全な薬への改良にはその副作用の分子機構の解明が急務であると考えられます。

ゲフィチニブの副作用が生じる作用点として EGFR が注目されてきましたが、依然として副作用の発症機序は不明です。それに対し薬理学的解析による新規の標的キナーゼ候補の探索が行われ、ゲフィチニブが Cyclin G-associated kinase (GAK) に対しても EGFR と同程度に阻害効果を示すことが報告されました。我々は生化学的にもゲフィチニブが GAK のキナーゼ活性を阻害することを確認しました。さらに興味深いこととして、我々はこれまでに GAK のキナーゼコード領域を欠失させた GAK-kd ノックアウト (GAK-kd$^{-/-}$) マウスを作成し、GAK のキナーゼ活性を 100％阻害した際に示す表現型を観察した結果、このマウスは出生直後に肺機能不全で死に至るということを明らかにしました。こ

の原因についてより詳細にするために、帝王切開にて摘出した新生児の肺について組織化学的解析を行ったところ、野生型と比較して GAK-kd$^{-/-}$ マウスでは肺胞構造が異常になっていることが判明しました。さらに組織免疫染色を行ったところ、GAK-kd$^{-/-}$ マウスでは間質性肺炎のマーカーとしても用いられるサーファクタントタンパク -A（SP-A）や上皮膜マーカーである E-cadherin、リン酸化型 EGFR の分布が異常を示していました。これらの結果から、GAK のキナーゼ活性が阻害されることによって肺胞の形態形成や機能に異常をきたすことが明らかとなりました。

さらにマウス由来の胎性線維芽細胞を樹立して解析を行ったところ、正常な細胞では細胞外からのシグナル（EGF）を受けて EGFR がリン酸化されますが、GAK-kd$^{-/-}$ では、EGF 非刺激時においても EGFR のリン酸化が過剰になっていました。それにもかかわらず、EGF 刺激で誘導される EGFR の細胞内取り込みは減少しており、さらに EGF-EGFR の下流シグナル伝達も減弱していました。GAK はクラスリン依存性エンドサイトーシスの制御に寄与することや、クラスリン被覆構造の形成に重要な因子であるアダプタータンパク AP2 の μ サブユニット (AP2M1) をリン酸化することが報告されています。そこで GAK が AP2M1 のリン酸化を介して EGFR エンドサイトーシスを制御しているかについて調べました。その結果、わずかながら AP2 リン酸化の寄与が見られたものの顕著な結果は得られませんでした。これは、AP2M1 が GAK 以外のキナーゼによってもリン酸化されているからかもしれませんが、全く別の機構で EGF-EGFR シグナルを制御していることも考えられました。

一部の患者でのみ副作用が見られる原因として、GAK 遺伝子内の一塩基多型 (SNP) に着目し解析を行いました。HapMap 計画等のデータベースによると、GAK 遺伝子内ではアミノ酸変異を伴う SNP は 16 か所同定されています。ゲフィチニブの服用者で間質性肺炎を併発して死亡した患者の肺癌組織から抽出したゲノム DNA について、直接に塩基配列を決定することにより GAK 遺伝子の SNP とゲフィチニブの副作用とに相関が見られるか調べましたが、今のところ GAK コード領域内には特徴的な SNP は見付かっていません。

以上の様に、本研究ではゲフィチニブによる急性肺障害や間質性肺炎といった副作用の分子機構が GAK によって説明できるのではないかと着想し解析を行ってきました。引き続き解析を行うことで、GAK を介したゲフィチニブの副作用の原因となる分子機構を明らかにしたいと考えております。そして本研究によって得られる成果が、副作用を発症しないような薬剤への改良や投与前診断の開発などに活かされればと思います。

最後になりましたが、本研究を遂行するにあたり大阪癌研究会より貴重な研究助成を賜りましたことに深く御礼申し上げますとともに、貴財団のご発展を心より祈念致します。

＊大阪大学微生物病研究所　分子遺伝研究分野
平成 23 年度一般学術研究助成金交付者