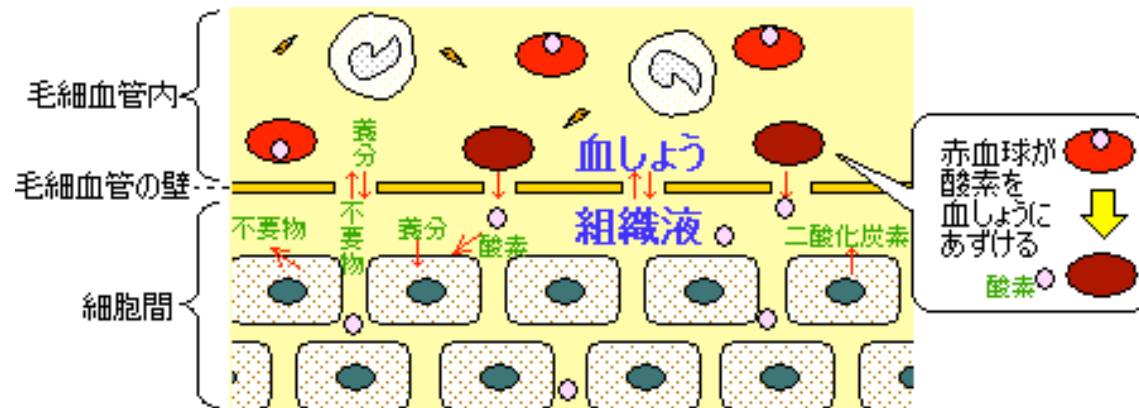


細胞の生存・増殖のメカニズム

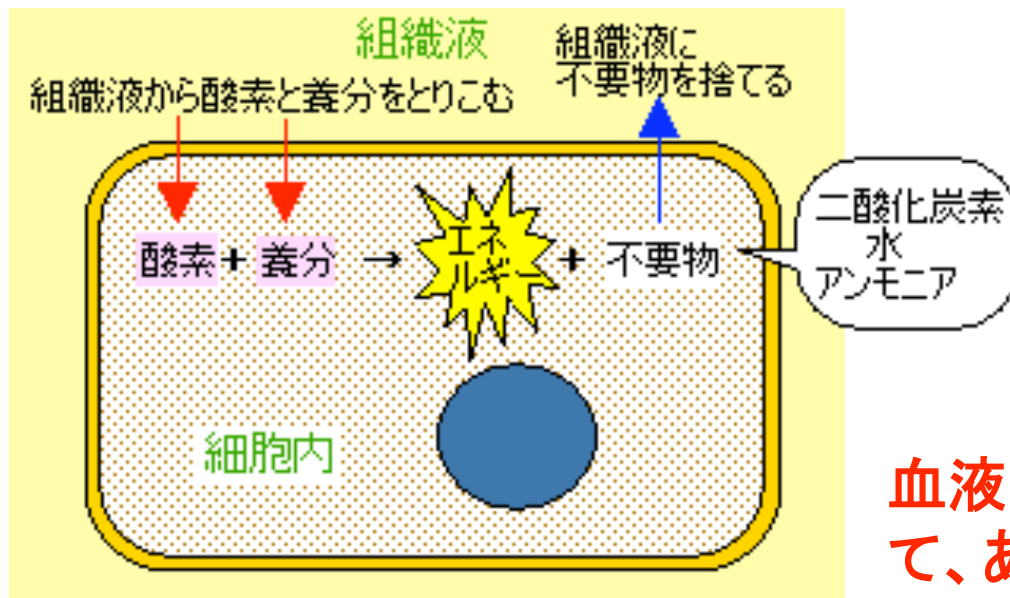
1. 細胞の生存を保証するエネルギー代謝
2. 増殖のメカニズム(シグナル伝達)
3. 細胞死のメカニズム(シグナル伝達)
4. 癌幹細胞仮説

癌だけに特異的なものなのか？
正常細胞も使う共通の機構なのか？

細胞はどのように生きているのか？



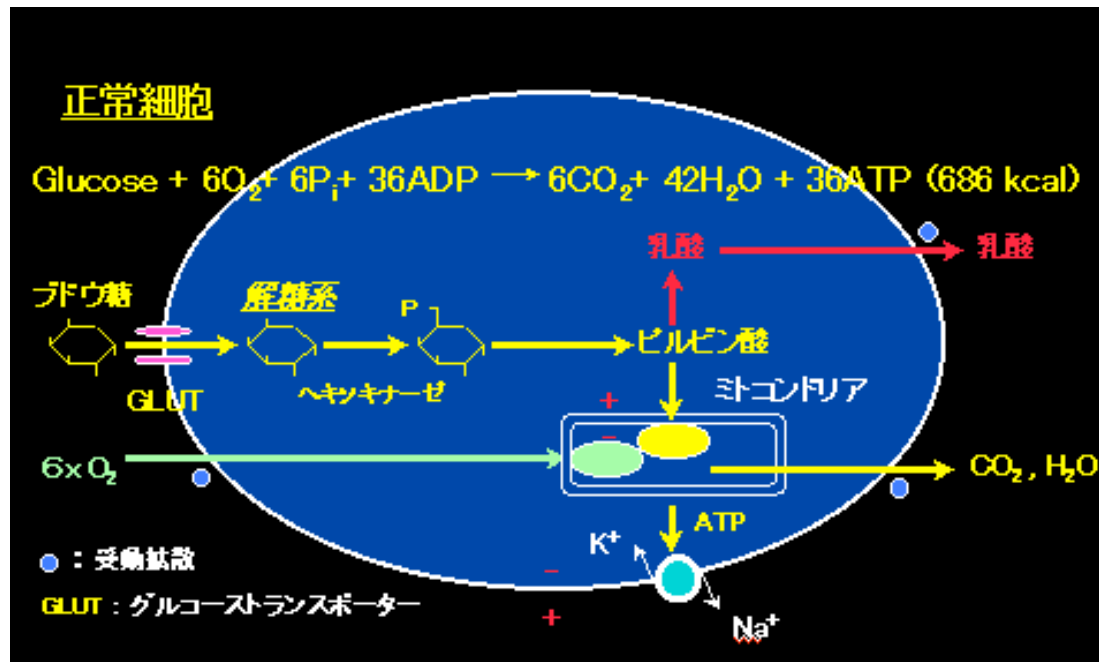
赤血球は毛細血管で酸素を血漿中に放出する。酸素や栄養素を含んだ血漿が動脈側で組織中に移動し、細胞に酸素や栄養をわたす。代わりに二酸化炭素などを受け取った組織液は静脈側で血管内に戻る。



細胞は周囲の組織液中から酸素と栄養を取り込み、酸化反応を介してエネルギーを産生し、生きている。

血液からの酸素と栄養の供給によって、あらゆる細胞が生きていける。

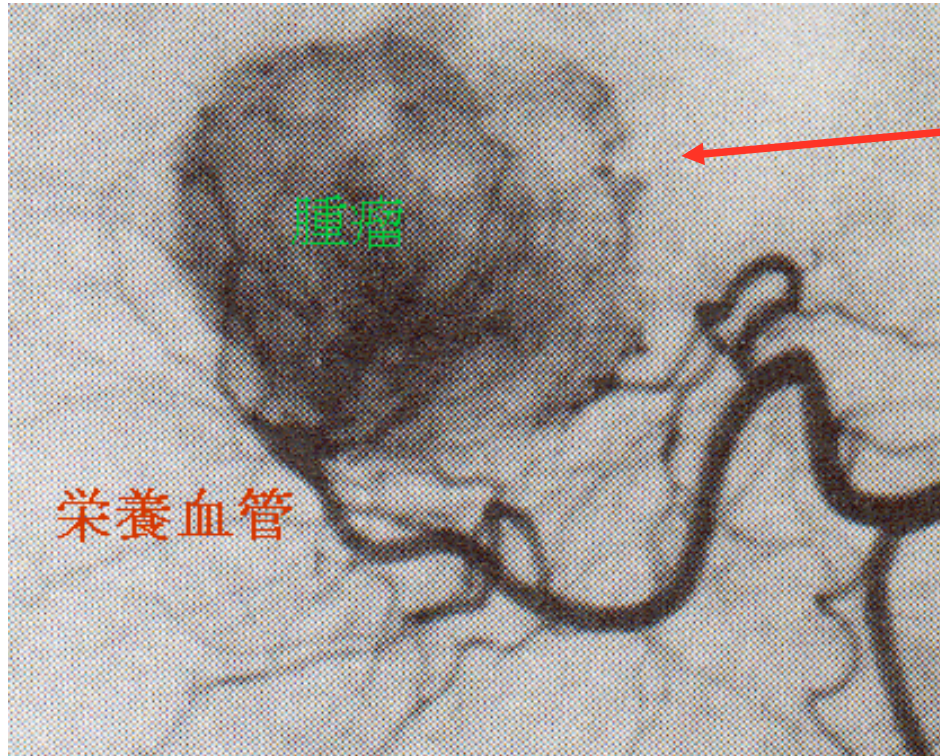
酸素とグルコースの代謝によるエネルギー産生



細胞内に取り込まれたブドウ糖は、細胞質内の解糖系を経てアセチル-CoAとなり、ミトコンドリア内のクエン酸回路に入る。細胞は、通常ブドウ糖と酸素を同時に取り込んでおり、1モルのブドウ糖と6モルの酸素より36ATPが合成されるが、このうち2ATPは細胞質内で34ATPはミトコンドリア内で生成する。これが、細胞内におけるエネルギー産生機構である。

グルコースを解糖系で分解してエネルギーを得る系(嫌気性代謝)と、酸素を利用して酸化反応によってエネルギーを得るTCA回路の2経路がある。

癌治療における兵量攻め



造影剤を動脈内に注入してレントゲン写真をとると、左のように腫瘍全体に造影剤が染まって見える。これらが腫瘍血管と呼ばれている。



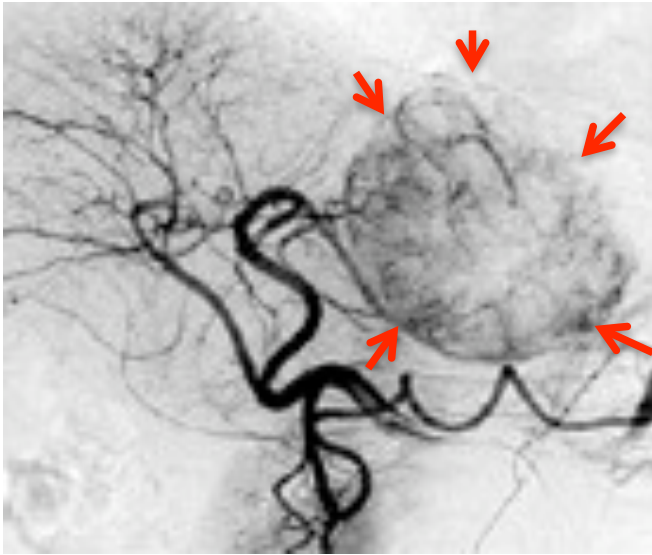
癌細胞であっても、正常細胞と同様に酸素とグルコースからエネルギーを産生して生き延びている。



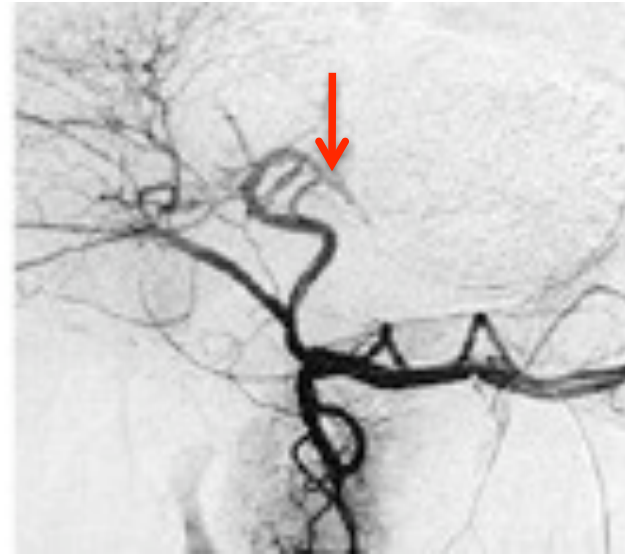
この栄養血管を遮断できれば癌治療は可能？

肝癌の肝動脈塞栓療法

(TAE:transcatheter arterial embolization)



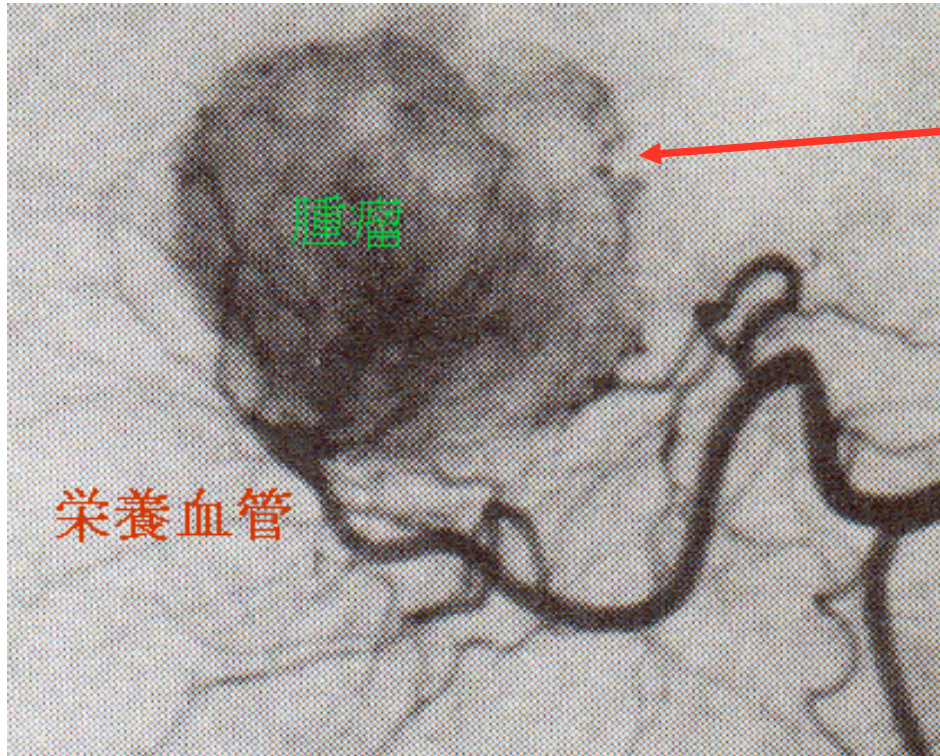
肝左葉に腫瘍濃染像を認める
(赤の矢印で囲まれた部分).



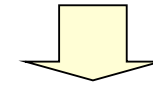
TAE後、腫瘍濃染像が消失

栄養血管を塞栓にて閉塞させて、血液供給をストップさせて肝癌細胞の絶滅を狙った治療法で、発熱などの副作用はあるものの効果はある。

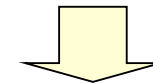
癌のエネルギー代謝は正常と同じか？



造影剤を動脈内に注入してレントゲン写真をとると, 左のように腫瘍全体に造影剤が染まって見える。これらが腫瘍血管と呼ばれている。



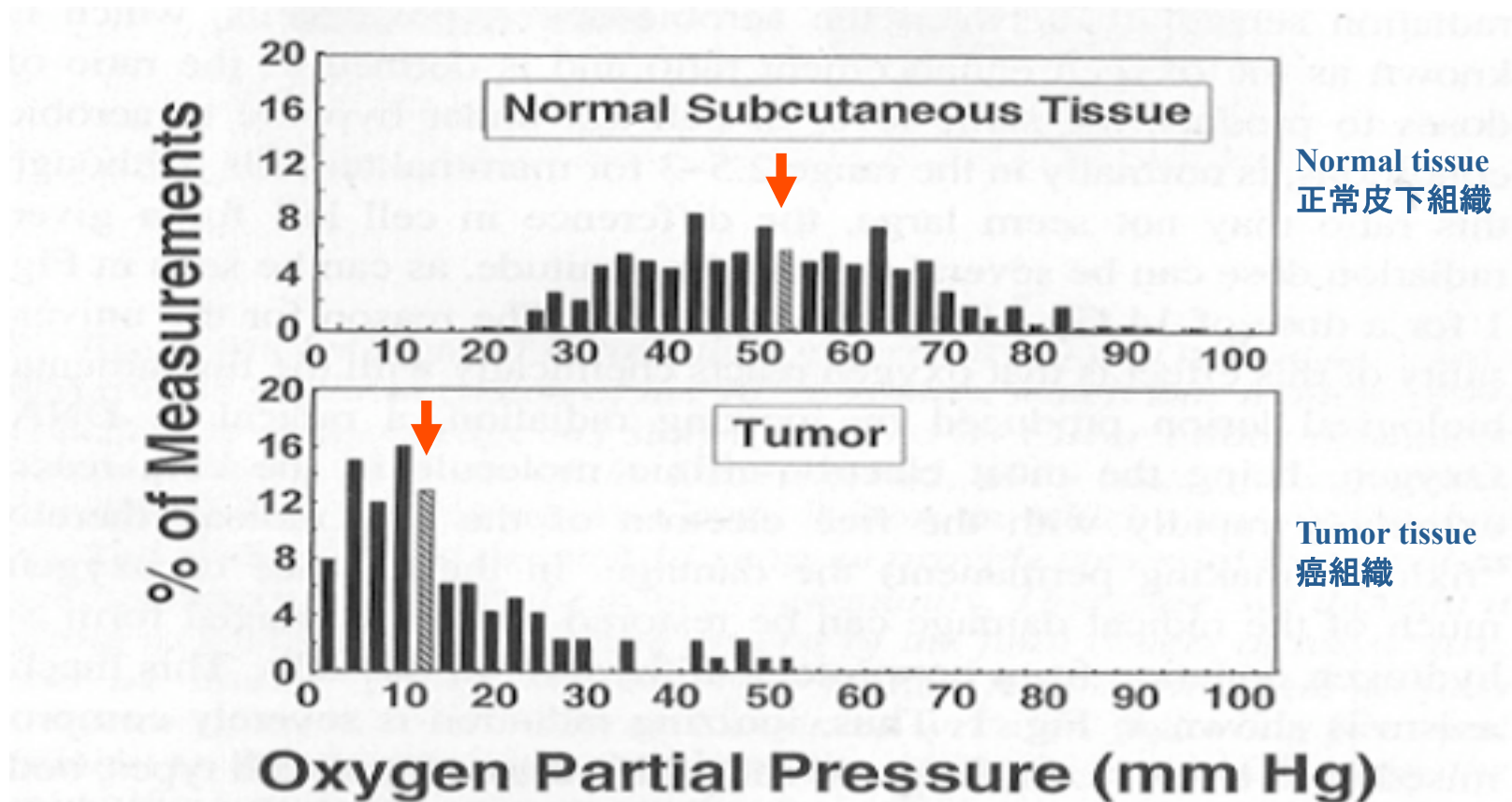
これだけ血管があるのだから, 十分量の酸素と栄養が供給されている！？



血流が悪いから染まるのであって, むしろ時間あたりの動脈血流量は少ない。つまり血流は不足！！

癌組織ではTCA回路と酸化的リン酸化を介したエネルギー産生が起こりにくい。

できあがった癌組織も低酸素環境下にある



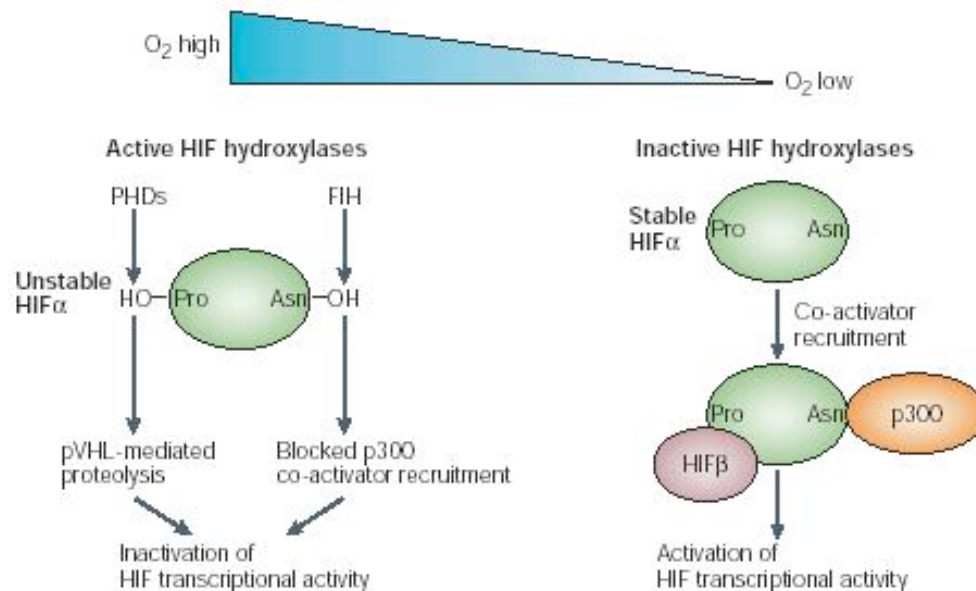
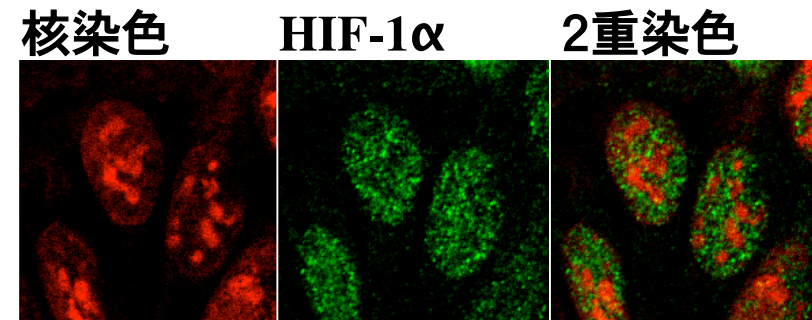
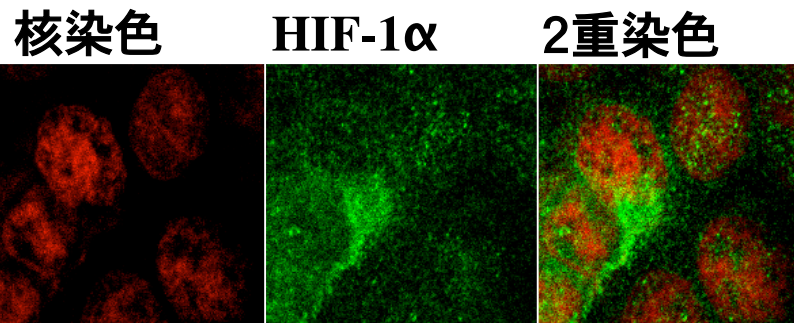
正常組織のmedian酸素濃度は50mmHg以上であるが、癌組織のmedian酸素濃度は10mmHg程度であった。

低酸素下で蛋白発現を調整するHIF-1 の発現制御機構

正常酸素分圧下

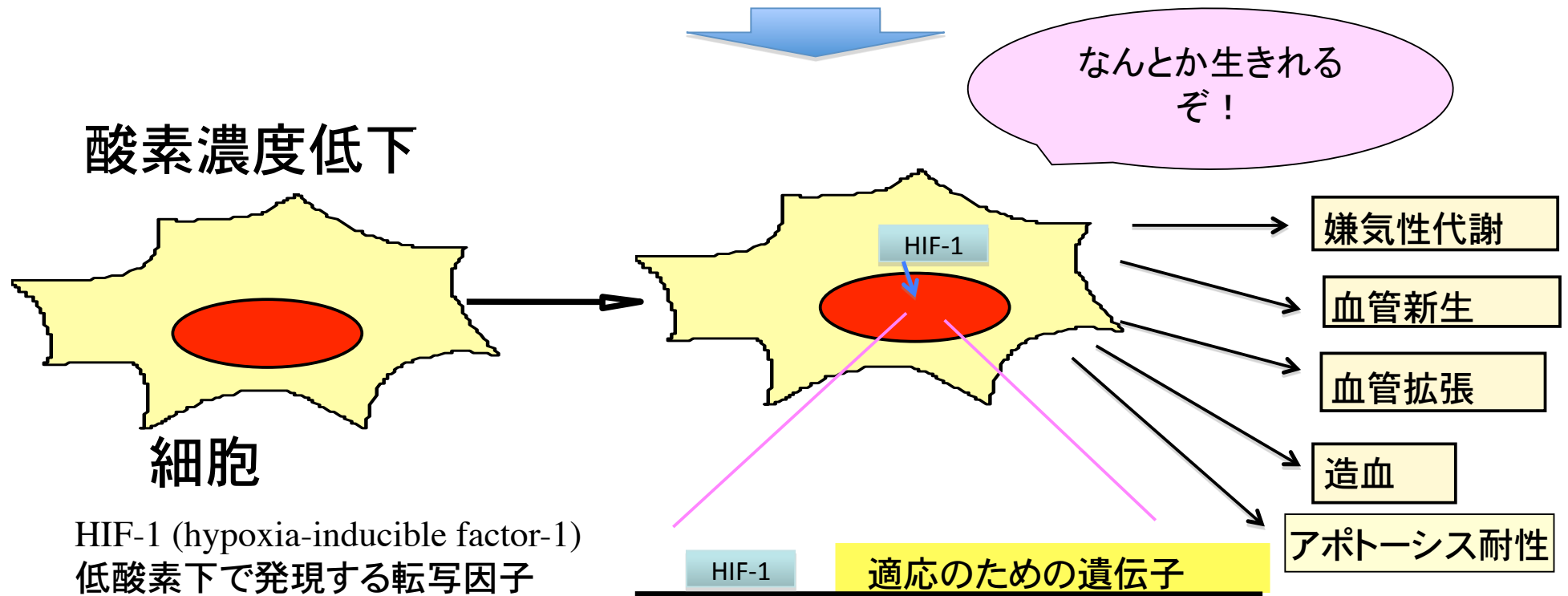
低酸素分圧下

卵巢癌
TAOV



酸素が十分にあるときは、HIF-1蛋白のプロリンにOH基を付加する酵素が働き、ユビキチン化されて分解される。また、アスパラギンにOH基を付加する酵素が働き、p300と共同で働けなくなって不活化されてしまう。低酸素かでは、これらの系が働かない。

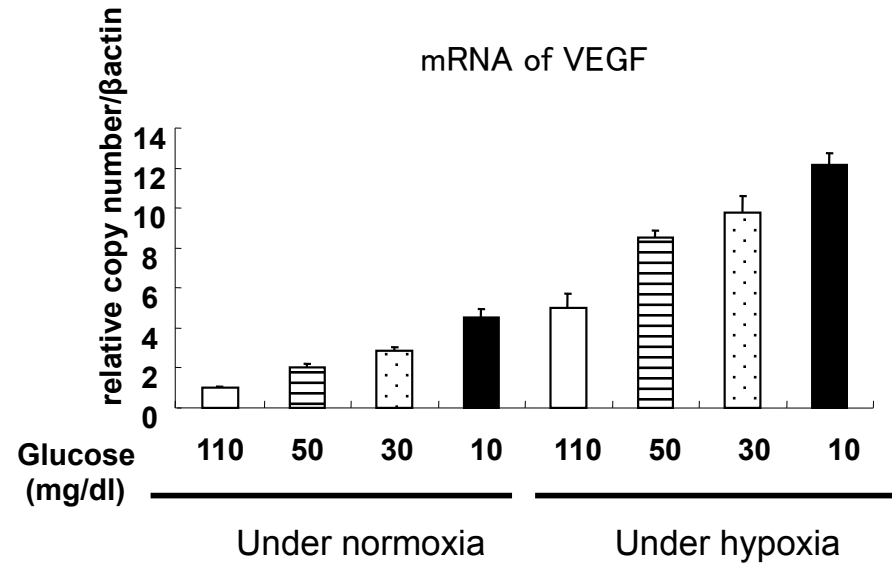
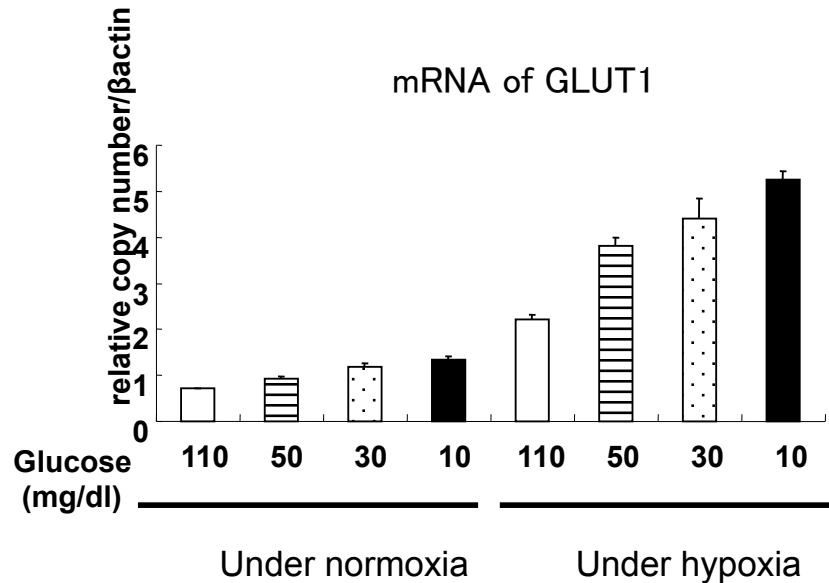
がん細胞はどうして1%酸素でも生きれるのか？



この機構はがん特異的なものではない。生体内では、筋肉組織がしばしば陥る環境であり、実際に筋肉組織では低酸素下では解糖系が中心に働き、乳酸がたまってくる。筋肉を激しく使った後のだるさは乳酸蓄積による。

低酸素環境下での遺伝子発現

(Glucose transporterとVEGF)



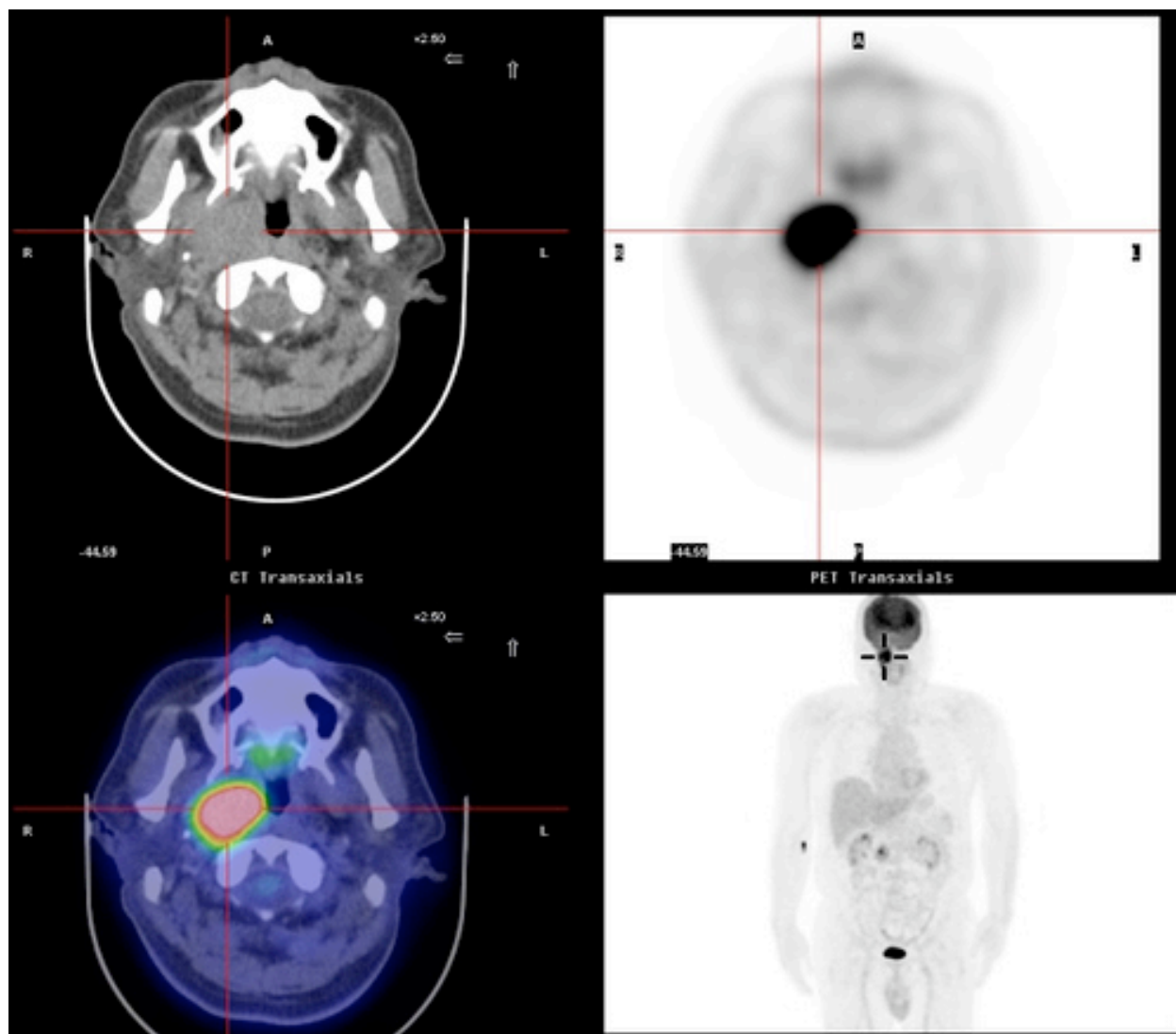
低酸素環境下では代表的Glucose Transporterである、GLUT1発現が亢進する。

低酸素環境下では代表的血管新生因子である、VEGF発現が亢進する。

低酸素・低栄養環境下ではGLUT1やVEGFなどの低酸素・低栄養環境に対する適応応答に関与する遺伝子の発現が亢進する。

(Natuizaka et al., Exp Cell Res, 2007)

鼻咽頭癌のFDG-PET(グルコース取り込みの増加)

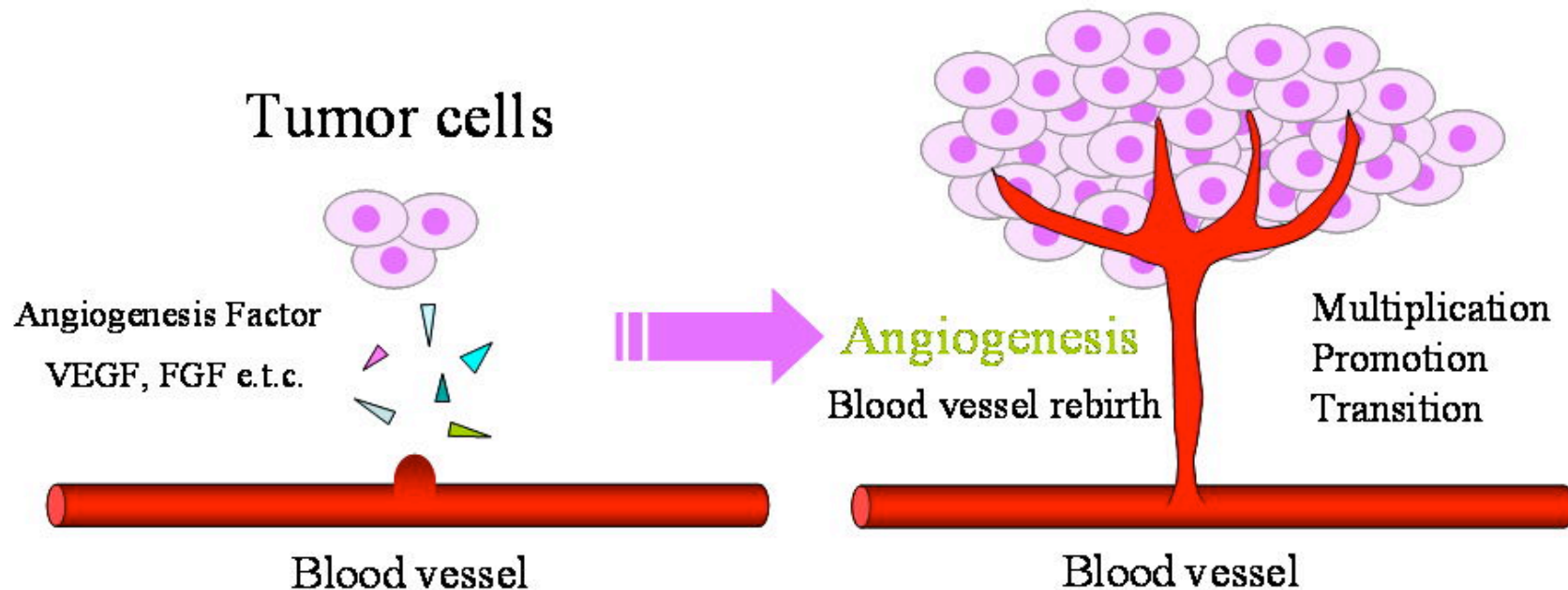


本症例は鼻咽頭癌であるが、低酸素環境下にあるために、グルコース取り込みに働くグルコーストランスポーター (GLUT) の発現が亢進し、グルコースががん特異的に大量に取り込まれている。

FDG-PETを用いた癌スクリーニングは、癌におけるグルコース取り込みの増加を利用した方法である。

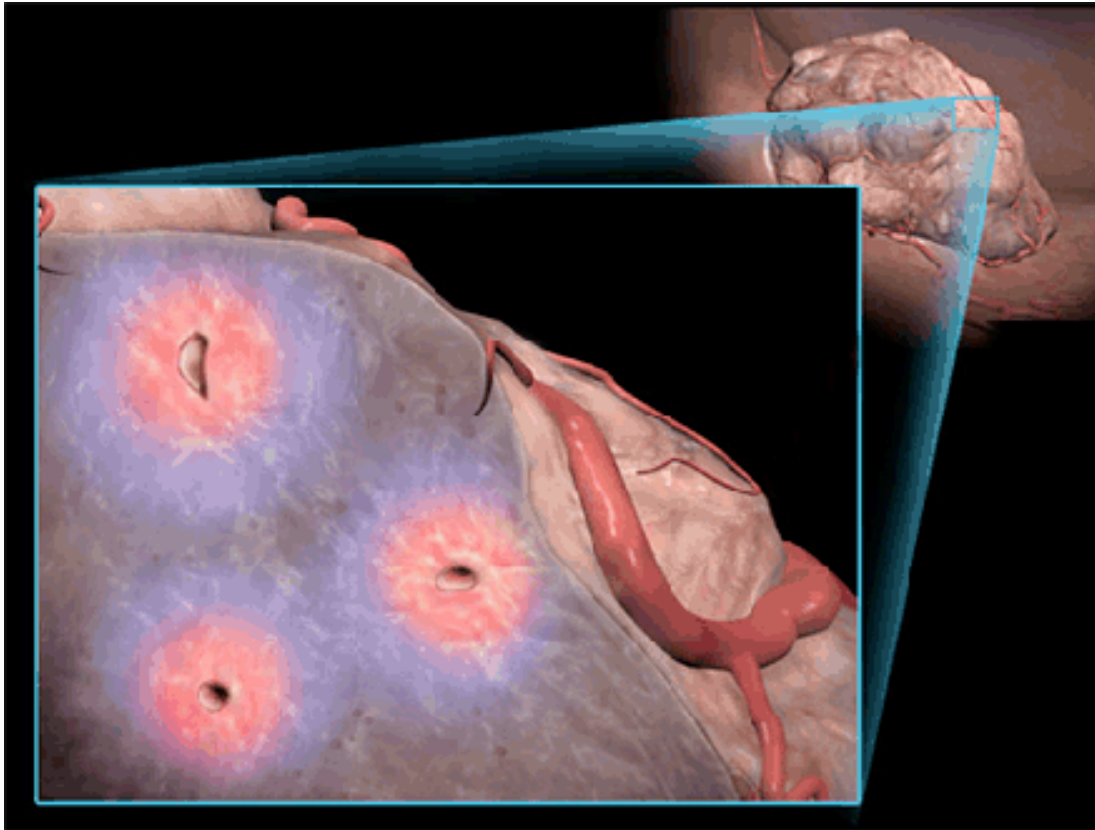
癌と血管新生

Cancer and Angiogenesis



癌細胞は自分自身の増殖のために、酸素と栄養の供給路としての血管新生が必要になる。低酸素環境下では、転写因子HIF-1発現が亢進し、その下流で血管新生因子であるVEGFやFGFの産生が刺激される。

低酸素領域における血管新生因子の産生



左図は癌組織の一部を拡大したものであるが、血管に近い癌細胞では、酸素が十分にあることをしめしている。一方血管から離れた癌細胞が(青とピンク色に囲まれた細胞)低酸素にさらされて、低酸素誘導転写因子(hypoxia-inducible factor-1; HIF-1)を発現し、VEGFの転写を促進する。

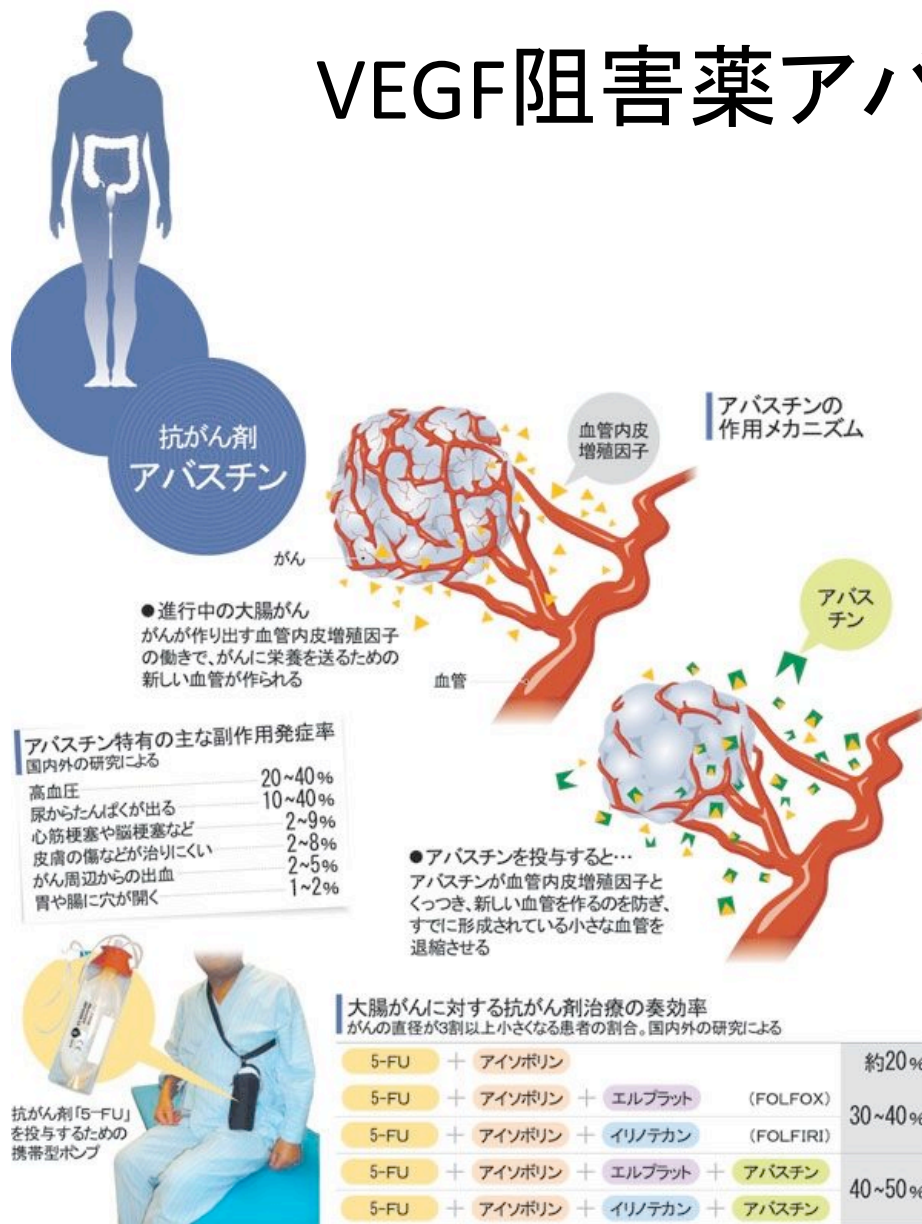
小括その1 癌細胞の増殖戦略

1. 癌組織環境は動脈血流の不足による酸素不足と栄養不足に対して、転写因子HIF-1の発現を介するグルコース取り込みの亢進、解糖系代謝亢進によってエネルギー産生を可能にしている.
2. 加えて、血管新生因子を大量に産生して血管新生を促し、血流を確保しようとしている.



1. グルコース取り込みの亢進、解糖系代謝亢進は、FDG-PETによる癌の診断を可能にしている.
2. 腫瘍特異的な血管新生を標的とする血管新生阻害剤が治療に使われている.

VEGF阻害薬アバスチンの効果



がんが作り出す血管内皮増殖因子の働きで、がんに栄養を送るための新しい血管が作られる。アバスチンは、この物質にくっついて働きを止め、血管ができるのを防ぐなどして、がんを小さくする。分子レベルで働くので、分子標的薬と呼ばれる。

抗がん剤の「5-FU」、その働きを強める「アインボリン」、新しい抗がん剤の「エルプラット」または「イリノテカン」の計3種類の薬による治療法に、FOLFOX(フォルフォックス)とFOLFIRI(フォルフィリ)がある。アバスチンは一般的に、この二つの治療法に加える4番目の薬として使われる。

細胞の生存・増殖のメカニズム

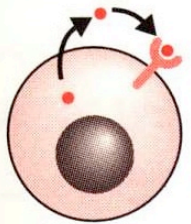
1. 細胞の生存を保証するエネルギー代謝
2. 増殖のメカニズム(シグナル伝達)
3. 細胞死のメカニズム(シグナル伝達)
4. 癌幹細胞仮説

癌だけに特異的なものなのか？
正常細胞も使う共通の機構なのか？

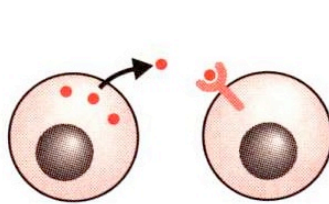
シグナル伝達

(A)

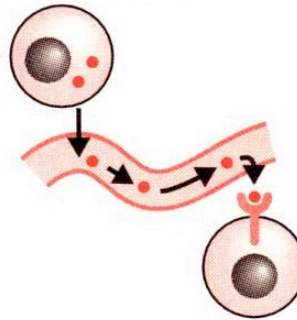
(a) オートクリン型



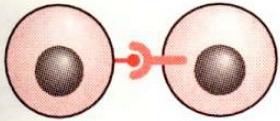
(b) パラクリン型



(c) エンドクリン型



(d) 細胞接触型

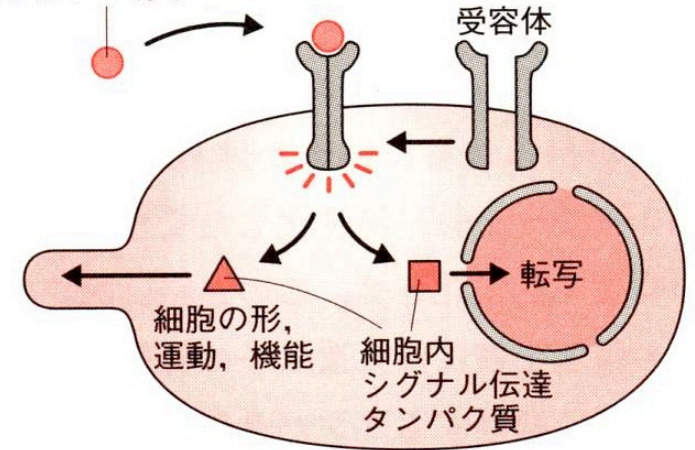


(e) 神経型



(B)

シグナル分子



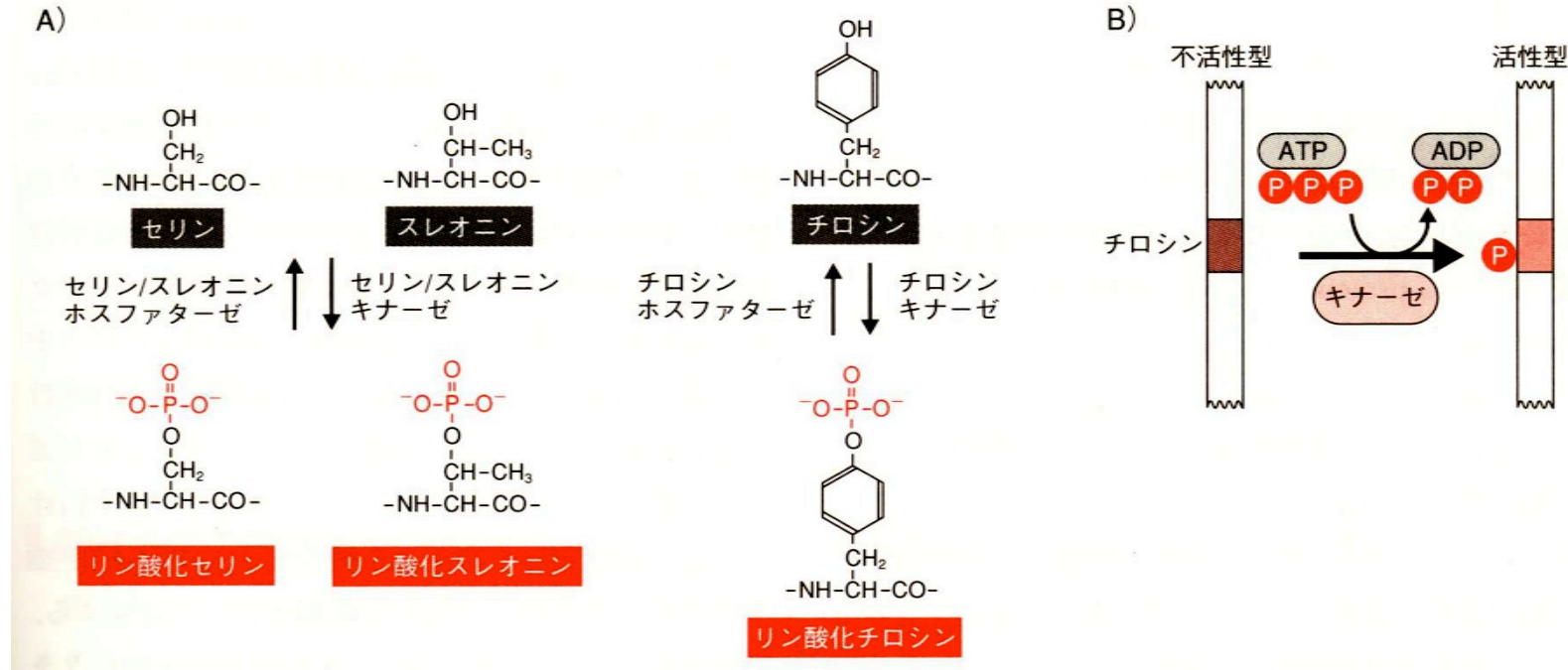
多細胞生物は、外界の物理的刺激や化学的刺激に反応して適応行動をとる。多細胞生物では、個体全体として統一のとれた合目的的な反応をしたり、内部環境を保つために、様々な方法で細胞間の情報のやりとりが行われる。**増殖因子やホルモンとそのレセプターが仲介する。**

同様の情報伝達は、細胞内の各小器官や分子の間で行われ、最終的に細胞として統一した反応を示す。シグナル伝達物質が多数同定されており、これらが仲介する。

生命現象における細胞内シグナル伝達

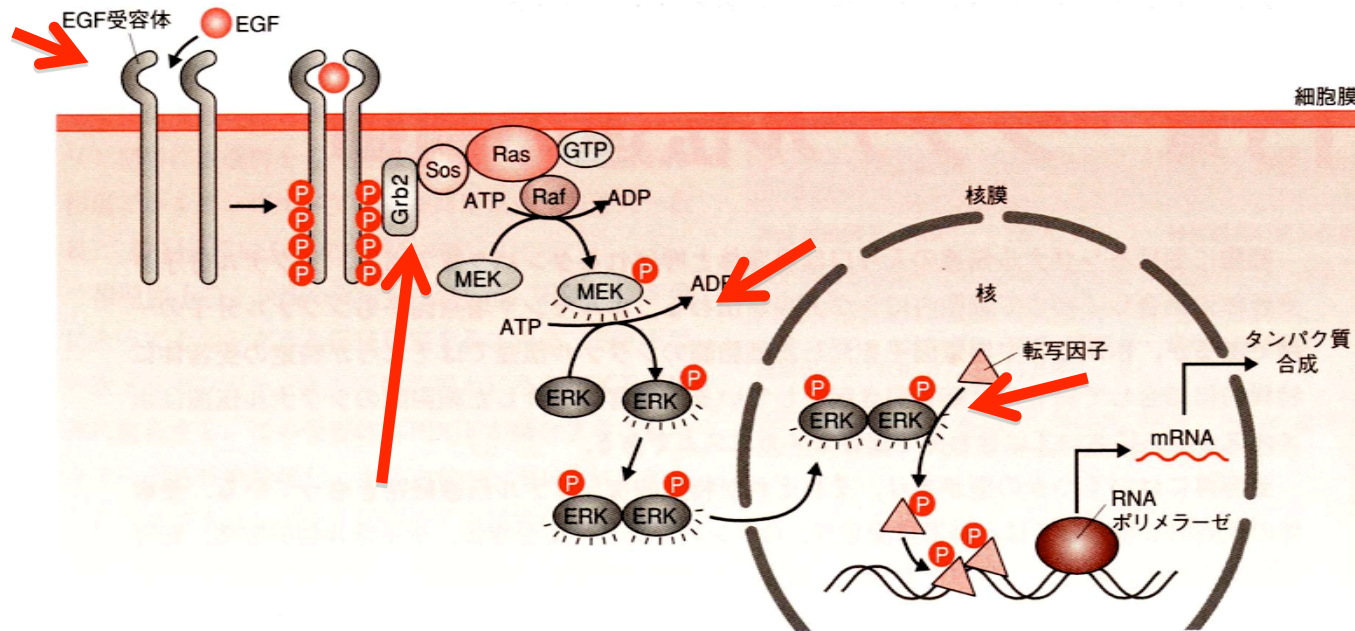
1. 細胞増殖
 - 1) 細胞周期
 - 2) 細胞分裂
2. DNA複製・修復
3. 細胞運動・細胞骨格のリモデリング
4. 細胞接着
5. 蛋白質輸送
6. 蛋白質分解
7. ストレス応答
8. アポトーシス

細胞内シグナル伝達を容易にするメカニズム



蛋白リン酸化とは、チロシンなどのアミノ酸にATPからリン酸を受け取る化学的修飾を指す。この反応を触媒する酵素をタンパク質キナーゼと呼ぶ。**リン酸化されると蛋白は不活性化酵素から活性化され、次の蛋白にリン酸化を行う。**
このようにリン酸化のステップが次から次へと連続して起こることによって、短時間のうちに細胞外から核内へと刺激が伝達される。

EGFを介した増殖シグナルの伝達



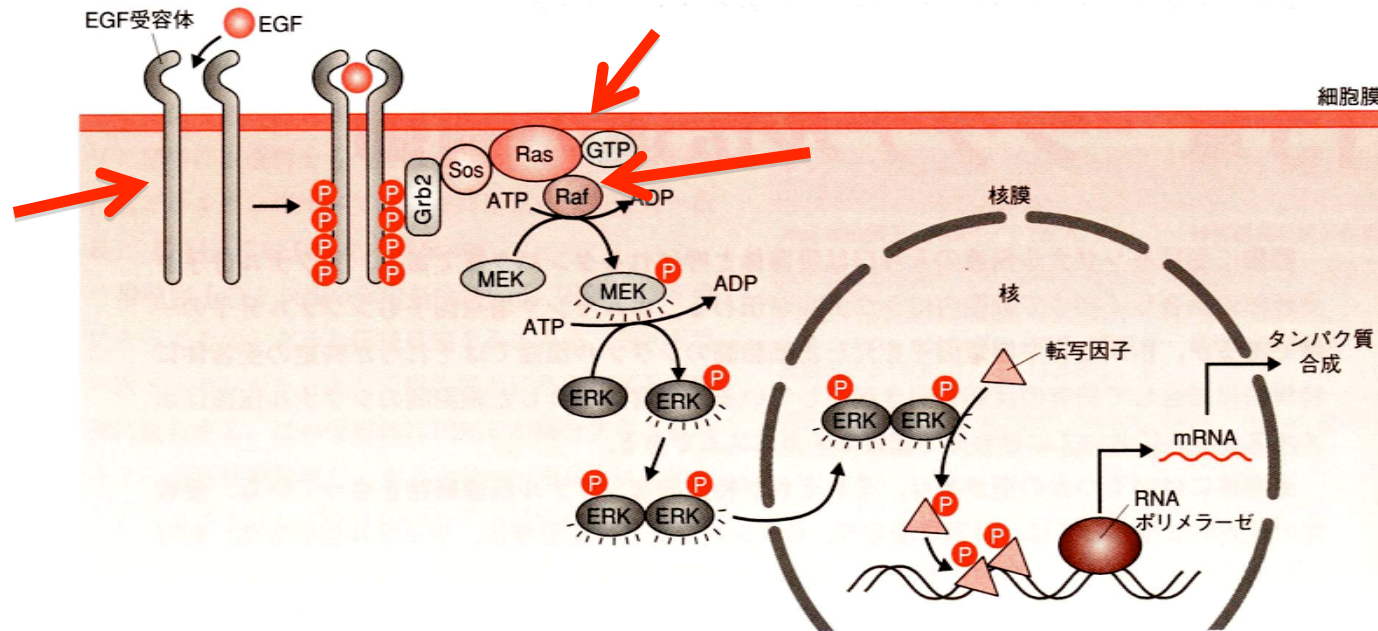
Epidermal growth factor (EGF)がEGF受容体に結合すると、EGF受容体がダイマーを形成し、お互いにリン酸化を行う。

リン酸化されたEGF受容体に、アダプター蛋白質であるGrb2が結合して、Sosを介してRasを活性化する。

Rasが活性化されると、Rafがリン酸化されて活性化し、次のMEKを活性化してERKを活性化してERK蛋白が核内に移行する。

核内に移行した活性化ERKが転写因子を活性化して蛋白合成を促す。

EGFを介した増殖シグナルの伝達



このシグナル伝達経路の中で、EGF受容体はv-erbと同じもので、癌原遺伝子とされている。EGF受容体遺伝子の増幅や変異が様々な癌で認められる。

Rasも有名な癌原遺伝子で、多くの癌で変異が認められる。

Rafもv-rafのホモロジー蛋白で癌原遺伝子とされている。

これらの癌原遺伝子に変異が入ると、癌遺伝子として働き、増殖シグナルを常時伝える結果、癌化を引き起こすと考えられている。

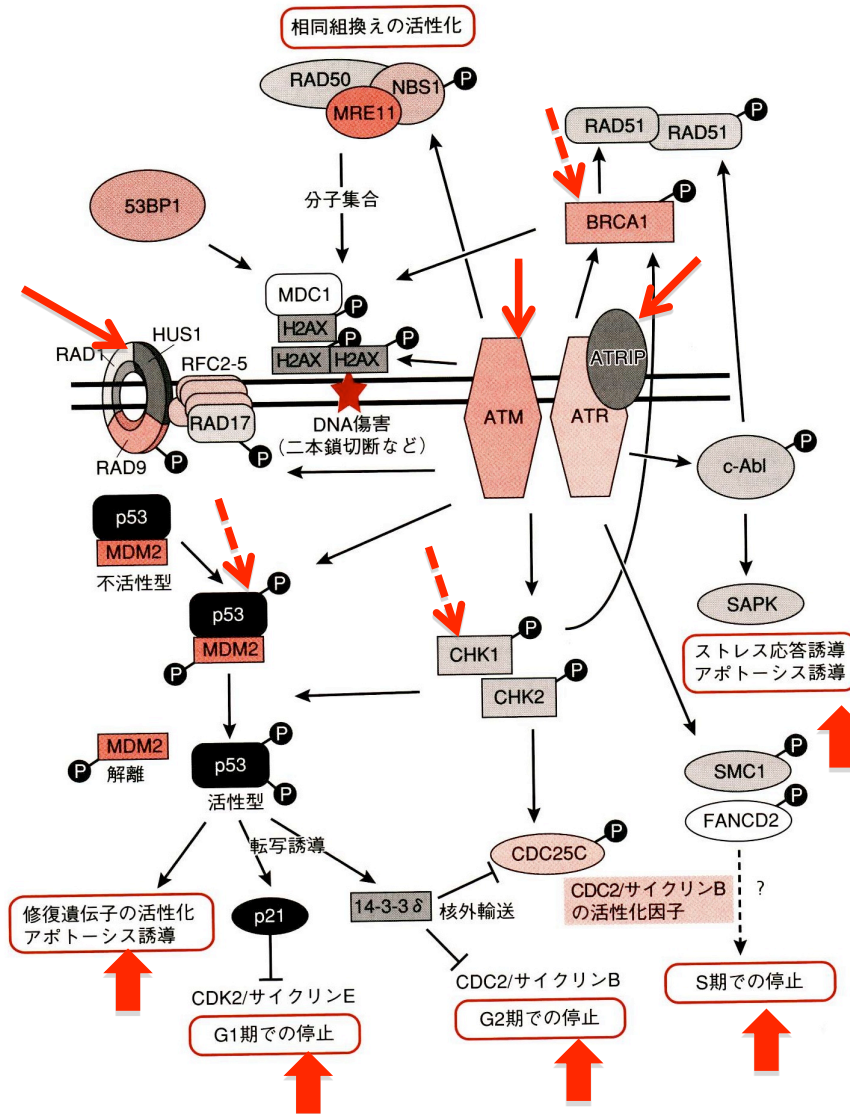
チロシンキナーゼ阻害剤

薬剤	標的キナーゼ	疾患
グリベック	bcr-ablチロシンキナーゼ	慢性骨髄性白血病 Ph1+ALL
イレッサ	EGF受容体チロシンキナーゼ	消化管間質腫瘍 非小細胞肺癌
タルセバ	EGF受容体チロシンキナーゼ	非小細胞肺癌
スプリセル	bcr-ablチロシンキナーゼ	慢性骨髄性白血病 Ph1+ALL
スーテント	PDGFRチロシンキナーゼ VEGFRキナーゼ KITキナーゼ	消化管間質腫瘍 腎がん
タイケルプ	上皮成長因子受容体(EGFR) Her2/neu	Her2過剰発現乳癌
タシグナ	bcr-ablチロシンキナーゼ	慢性骨髄性白血病 Ph1+ALL

従来の抗がん剤と分子標的薬の違い

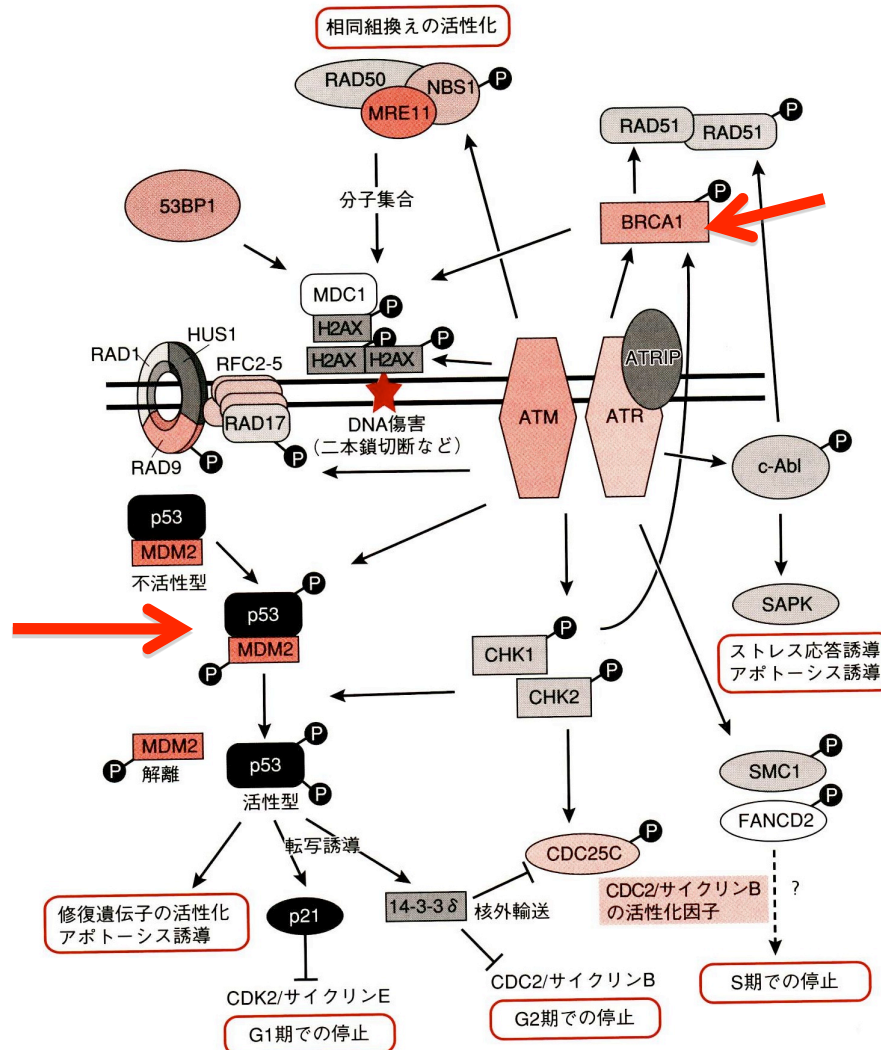
	従来の抗がん剤	分子標的薬剤
作用機序	DNA合成・細胞分裂 増殖過程を阻害	癌細胞の増殖・転移などに 関与する分子を阻害
癌細胞への特異性	低い	高い
長期投与	できない	できる
副作用(全般)	重篤なものが多い	特殊な副作用
骨髄抑制	高頻度	ほとんどない
心毒性、腎毒性	高頻度	薬により特異的
脱毛、口内炎	高頻度	薬により特異的
悪心、嘔吐	高頻度	消化器症状が出る場合も

DNA損傷時のシグナル伝達



1. 損傷認識には、RAD17などから構成される損傷認識クランプ・クランプローダー複合体、ATM、ATR/ATRIP複合体が働く。
2. ATMやATRキナーゼが活性化されると、下流のp53、BRCA1、CHK1、CHK2やRAD9などが活性化される。
3. 最終的には、細胞周期の停止が起こって、DNA損傷を修復したり、修復不可能な場合にはアポトーシスを誘導する。

DNA損傷時のシグナル伝達



BRCA1は、乳がんの癌抑制遺伝子として発見された遺伝子である。BRCA1は、2本鎖切断などのDNA障害を修復するための複合体を構成する蛋白であり、この遺伝子の異常はDNA修復の阻害をもたらす。

P53は最も有名な癌抑制遺伝子で、DNA損傷時に細胞周期を止めて、DNA修復までの時間を稼いだり、DNA修復が不可能な場合には、アポトーシスを誘導して、欠陥のある細胞を排除する働きをしている。

小括その2

1. 癌原遺伝子産物は、正常細胞が増殖する際に使われているシグナル伝達分子であることが多く、癌遺伝子産物は突然変異によって常時活性化して増殖シグナルを常にONにしている。
したがって、癌遺伝子産物を標的とする治療法は、正常細胞の増殖をストップする可能性がある。
2. 癌抑制遺伝子の働きは、DNA損傷などの細胞障害がおこった際に、細胞周期をストップさせて損傷の修復をする時間が稼ぐことにある。また、修復できなかった場合には、アポトーシスで障害細胞を取り除くことにある。したがって、癌抑制遺伝子の機能喪失は、DNA変異の入った細胞の増殖を許して、遺伝子変異の積み重ねによる癌化を可能にする。

イレッサ

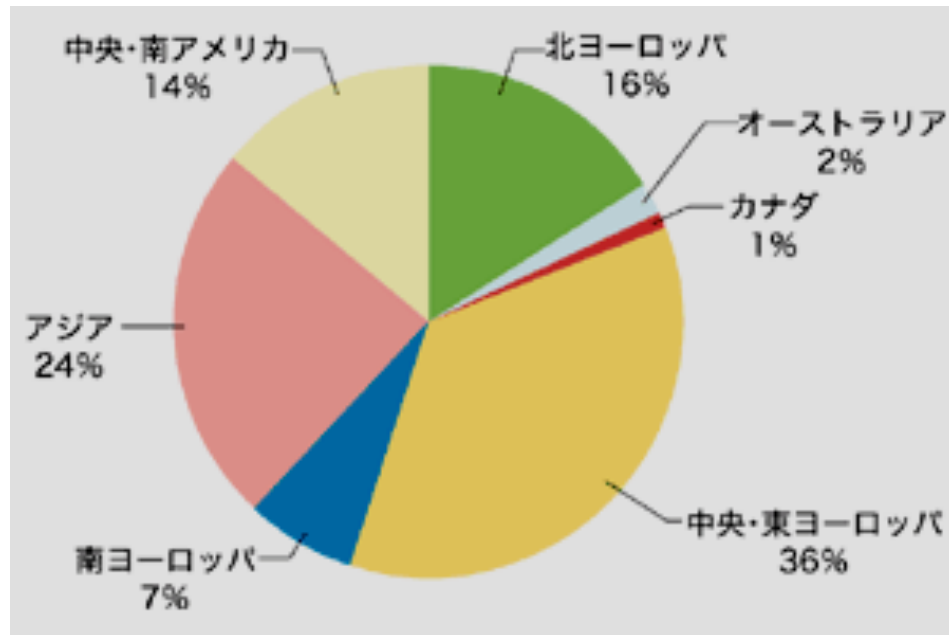
イレッサ®(一般名:ゲフィチニブ)は、アストラゼネカ社が合成、開発したはじめての上皮成長因子受容体(EGFR)チロシンキナーゼ阻害剤。2002年7月に世界に先駆けて日本で承認販売された。市販後本剤投与が原因と思われる重篤な間質性肺炎/急性肺障害が次々と報告され、「ゲフィチニブ使用との関連が疑われている急性肺障害・間質性肺炎等の副作用発現状況」によると、1473 例が報告され、うち588人が死亡した。

イレッサの光と影

(イレッサ年表)

2002年1月	世界のどの国よりも先に、日本でイレッサの承認申請
2002年7月	日本で世界初のイレッサ承認。
2002年10月	イレッサの副作用による間質性肺炎で死亡13人と新聞記事。
2002年12月	1998年2001年11月までの間のイレッサによる重篤な副作用事例が82例(内・死亡27人)あることを報告していた(厚労省へ)
2003年5月	アメリカFDAがイレッサ承認。
2004年12月	米・FDA・食品医薬品局が「イレッサは延命効果がない」と声明文を発表。
2005年1月	アストラゼネカ社イレッサ・ヨーロッパでの承認申請取り下げ。
2005年2月	薬害イレッサ・東京訴訟の第一回裁判が開かれた。
2005年5月	イレッサの臨床試験で、又も延命効果なしの報告(アメリカ)。
2006年4月	中外製薬が非小細胞肺癌治療薬タルセバを承認申請。 タルセバはヒト上皮増殖因子受容体1型(EGFR／HER1)を標的として開発された低分子の分子標的治療薬。
2006年9月	副作用件数・1708件、うち死亡者数・676名に。
2007年2月	イレッサに延命効果なし・国内の試験においても延命効果なし。

イレッサの光と影



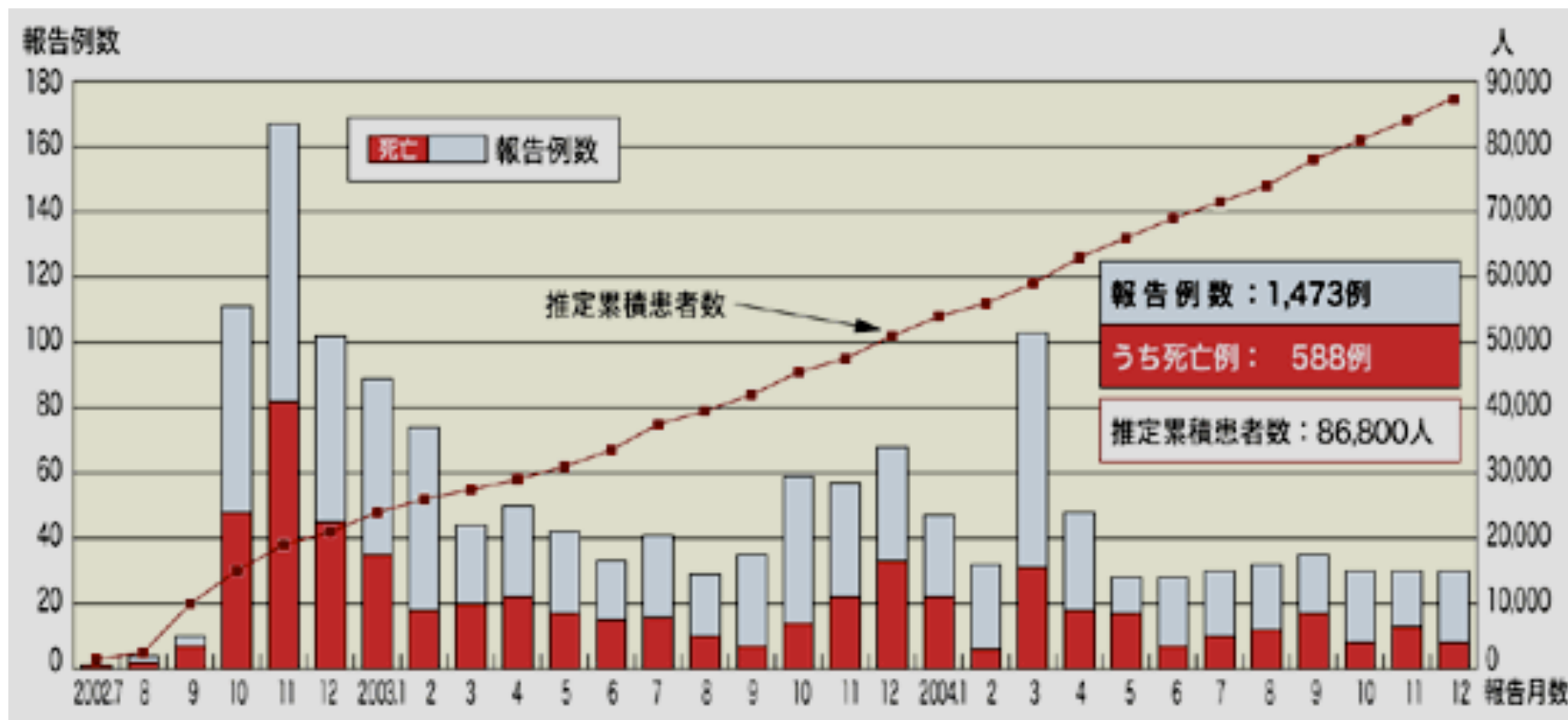
日本、欧米の協力で行った第3相試験の結果

奏効例／奏効率評価 可能症例 (イレッサ群)	奏効率 (95%信頼区間)
東洋人 26／209	12.4% (8.3、17.7)
東洋人以外 51／750	6.8% (5.1、8.8)

東洋人以外の患者では効果がなく、2004年末、英国のアストラゼネカ株式会社が「イレッサに延命効果はなかった」と発表した。ただし、東洋人に対しては延命効果が期待されるとしている。

癌サポート情報センター(<http://www.gsic.jp/index.html>)

イレッサの副作用



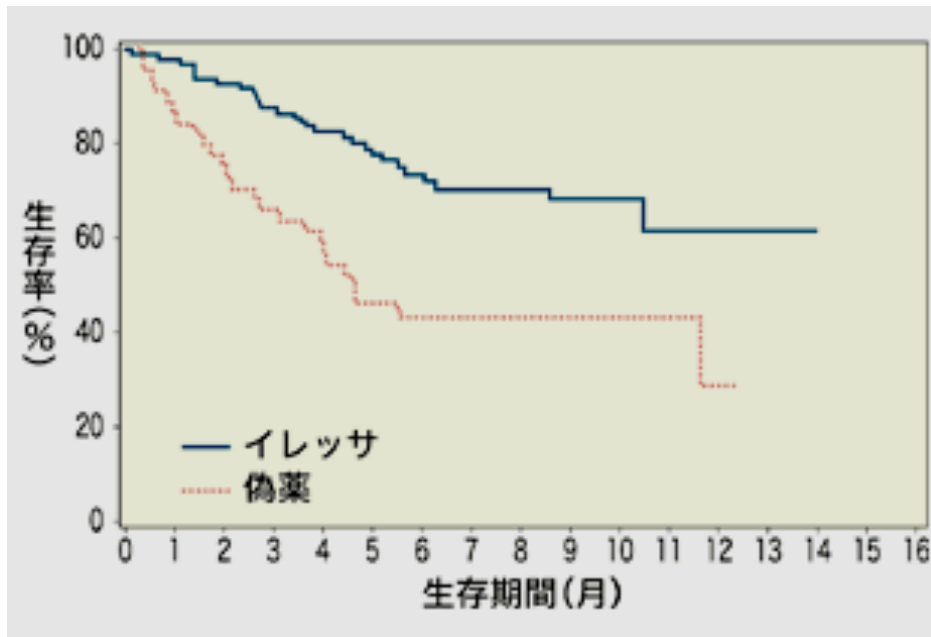
厚生労働省、医薬品医療機器総合機構に報告されているイレッサ服用との関連が疑われている急性肺障害・間質性肺炎等の副作用の発現状況(報告日による集計)

癌サポート情報センター(<http://www.gsic.jp/index.html>)

非小細胞肺癌に効果を示す抗がん剤の間質性肺炎などの頻度

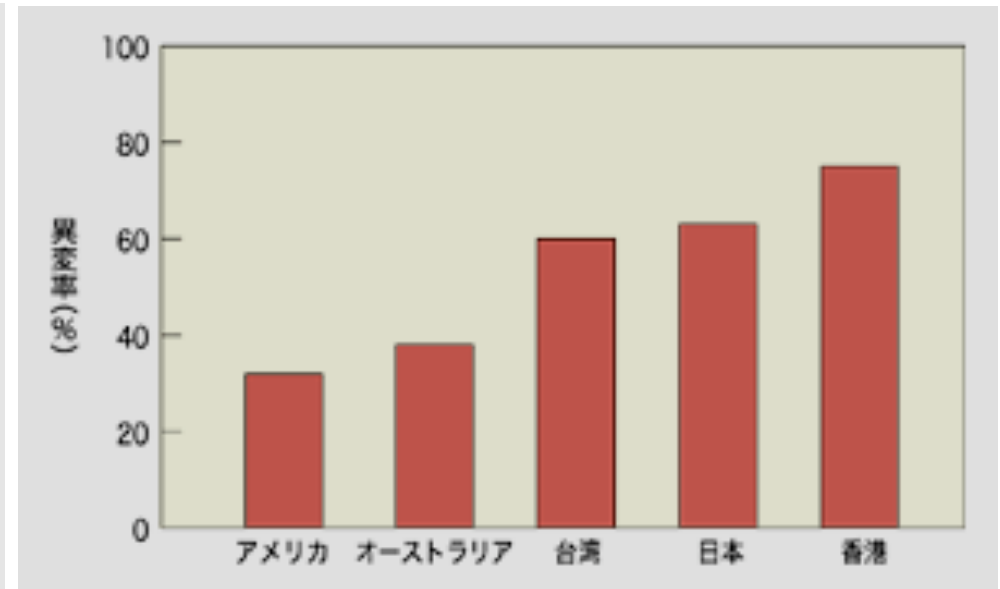
一般名	調査名	間質性肺炎	肝障害	重篤な下痢	白血球減少
ゲフィチニブ	添付文書	1-10%	10%以上	1%未満	(－)
	プロスペクティブスタディ	5.8%			
	ケースコントロールスタディ	3.98%			
ドキシタキセル	添付文書	0.2%	頻度不明	(－)	65.3%
パクリタキセル	添付文書	0.5%	4.4%	(－)	59.7%
塩酸ゲムシタビン	添付文書	1.4%	頻度不明	(－)	13.0%
カルボプラチン	添付文書	0.1%	頻度不明	(－)	56.4%
シスプラチン	添付文書	0.1%	頻度不明	(－)	36.5%
塩酸イリノテカン	添付文書	0.9%	1.1%	44.3%	73.4%

イレッサはEGFR変異の多い東洋人の非喫煙者には効果的



東洋人の非喫煙者に限ってはイレッサ服用群の生存率に明らかな有意差が認められた。

イレッサの薬価: 約6800円/日



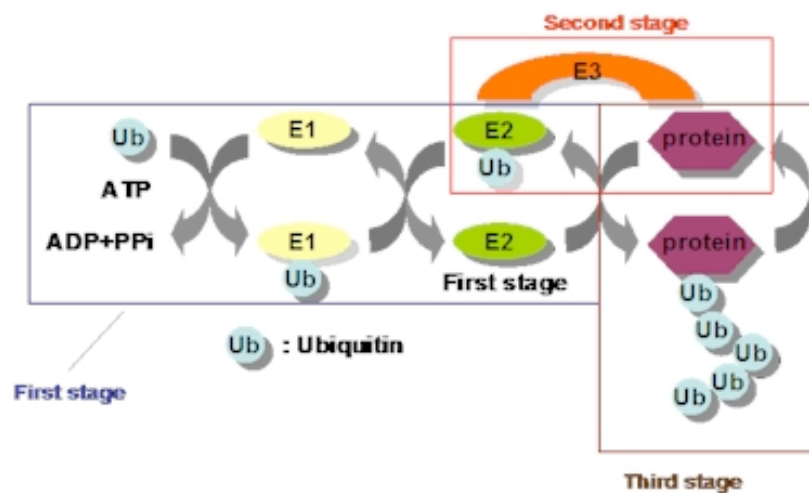
2004年9月、ポルトガルで開催された世界肺がん学会における発表。アメリカ、オーストラリアの変異率が20～30%台なのに対し、台湾、日本、香港ではいずれも60%以上の高率を示している。

ゲフィチニブ投与ガイドライン(日本肺癌学会)

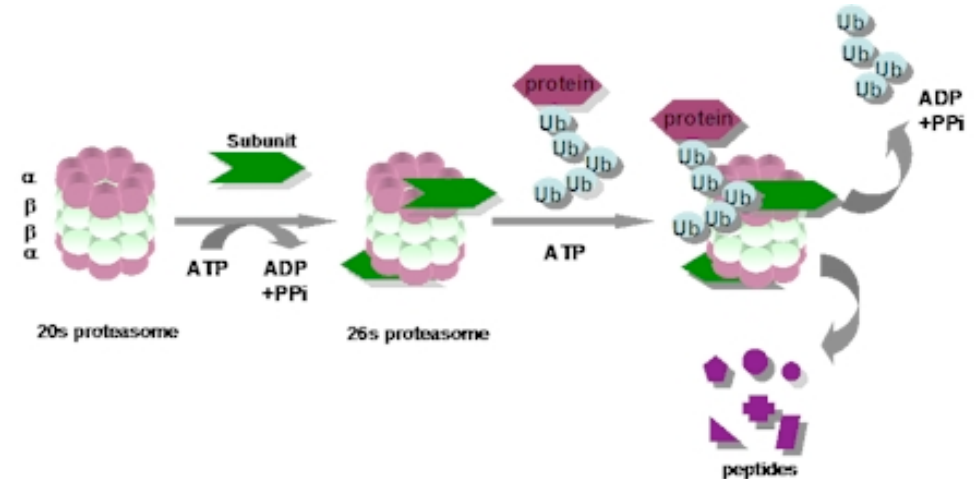
1. 本剤添付文書の「効能・効果」に記載されている適応症である「手術不能又は再発非小細胞肺癌」を厳守すること。
2. 「1. 化学療法未治療例における有効性及び安全性は確立していない、2.術後補助療法における有効性及び安全性は確立していない」ため、これらの症例に対しては実地医療としては本剤を使用すべきではない。
3. 実地医療においては化学放射線療法後に本剤を維持療法として投与すべきでない。
4. ゲフィチニブ投与により利益(延命、症状改善、腫瘍縮小効果)が得られる可能性の高い患者群が明らかにされてきた。すなわち、腺癌、女性、非喫煙者、日本人(東洋人)、EGFR の遺伝子変異を示す症例である。今後本剤投与にあたっては、本剤から利益を得られやすいこれら患者群に投与することが推奨される。(本剤投与例全例に予め EGFR 遺伝子変異の有無を測定し、本剤投与の適応を決定するほどの確実性・現実性は現時点ではないと判断するのが妥当である。)
5. 本剤と他の抗悪性腫瘍剤や放射線治療との同時併用における有効性と安全性は証明されていないので、実地医療としては本剤を単剤で投与すること。

蛋白の分解によるシグナル伝達機構

ユビキチンは76アミノ酸からなり、酵母からヒトにいたるまで真核細胞に普遍的に存在する小さなタンパク質。ユビキチンは標的タンパク質（合成ミスを起こしたり、寿命を迎えたタンパク質など）に複数個付加することにより「このタンパク質を壊してくれ！！」という分解シグナルとして働く。

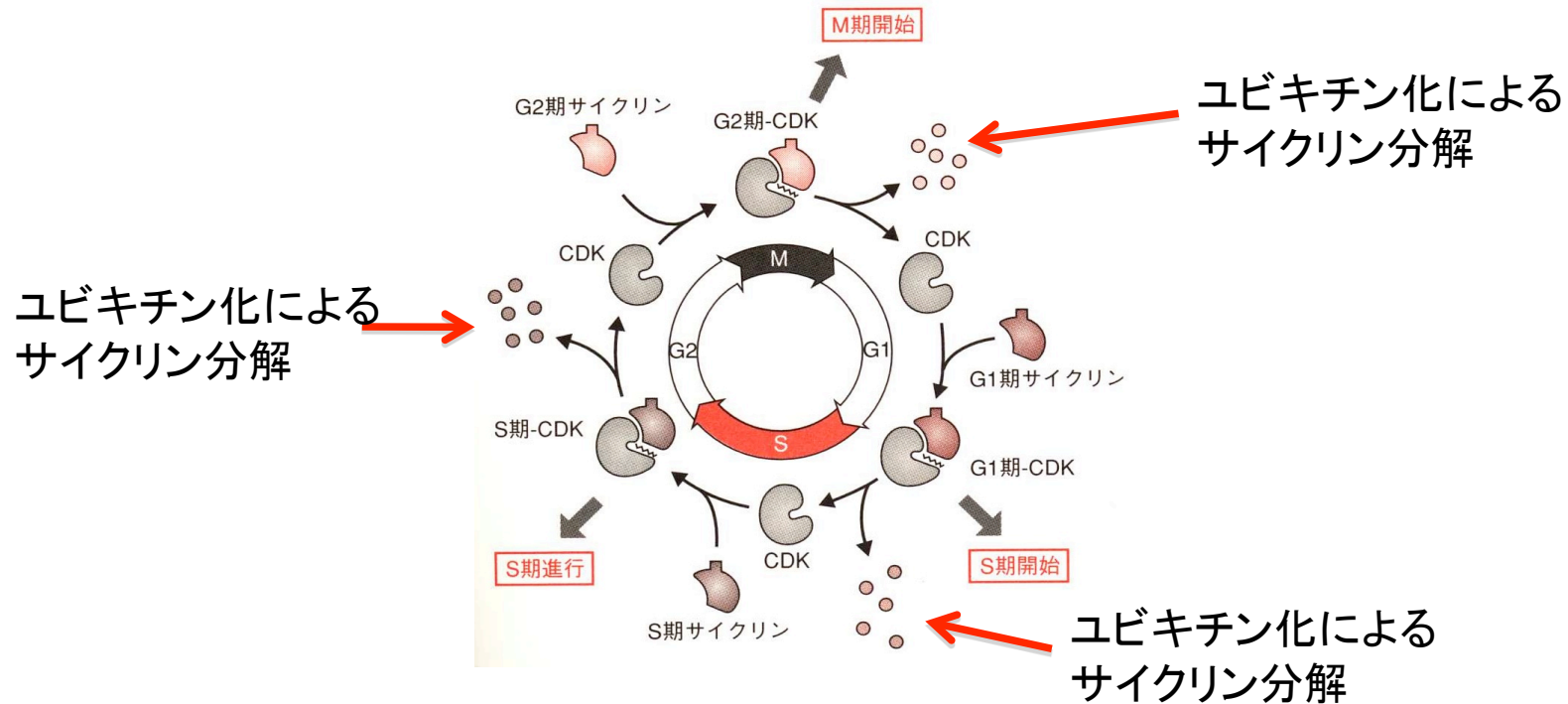


ユビキチンの付加システム



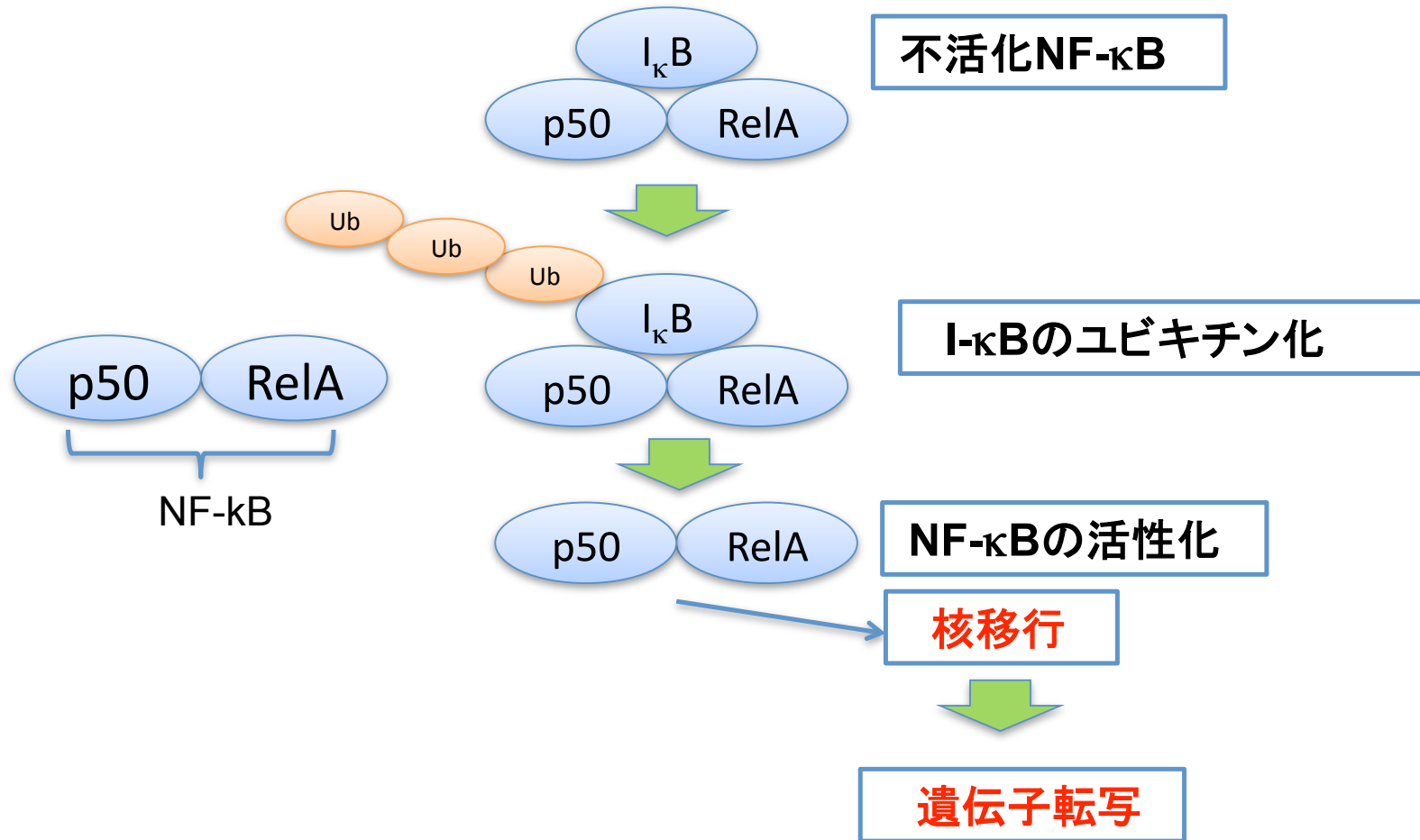
プロテアソームによる分解

細胞周期とユビキチン・プロテアソーム系



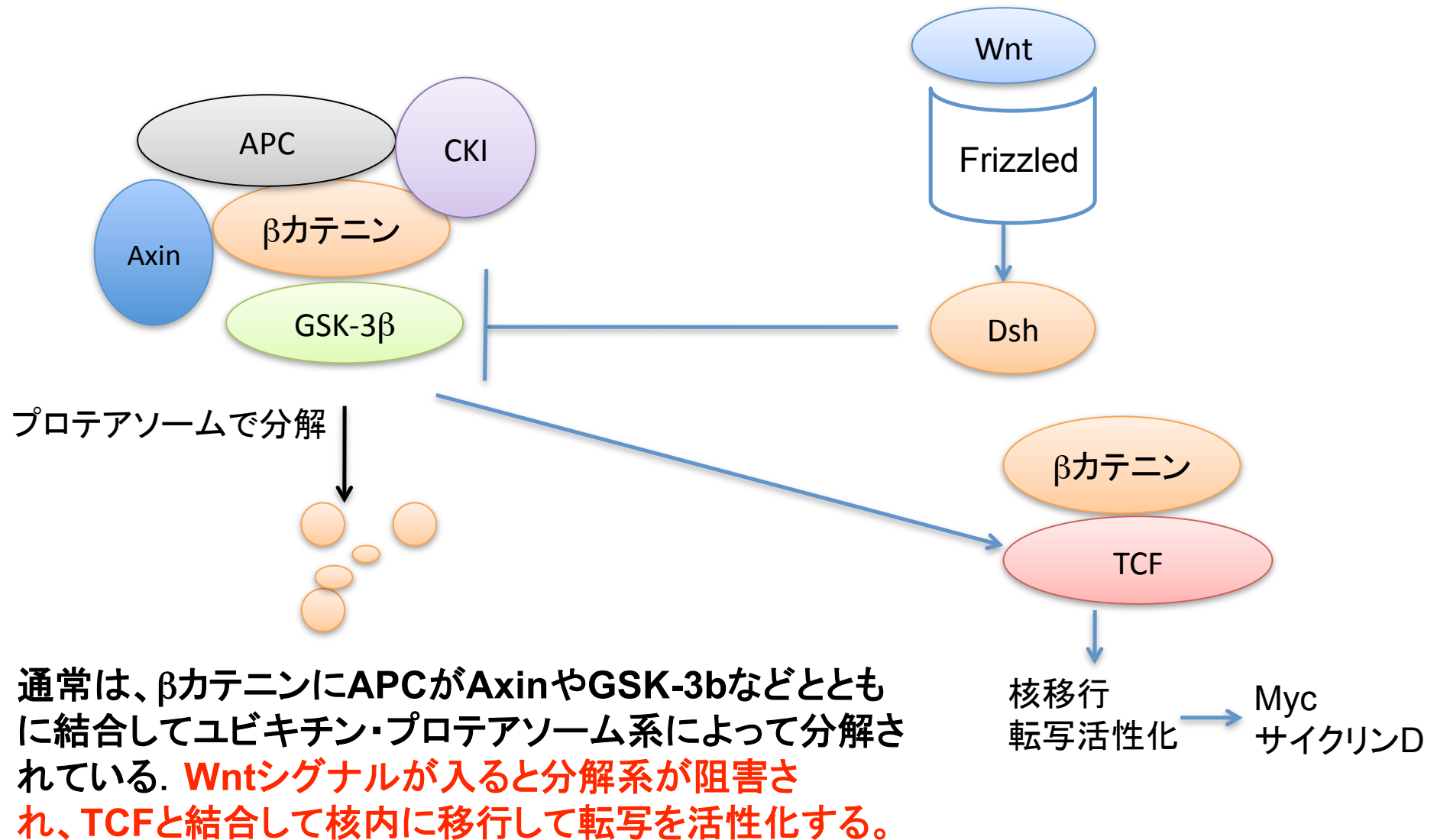
分裂を止めていた細胞が休止期から増殖を開始すると、まずサイクリンDが発現する。サイクリンDとCDK4/6複合体がRbタンパクをリン酸化して不活化して、E2F転写因子をRbタンパクから解放する。解放されたE2FがS期サイクリンであるサイクリンEなどの転写を促進して、S期への進行をすすめる。増殖シグナルがなくなると、サイクリンがユビキチン・プロテアソーム系で分解され、細胞周期が停止する。

NF- κ Bの活性化とユビキチンシステム



NF- κ Bの活性化は、抑制蛋白であるI- κ Bのユビキチン化・プロテアソームによる分解系を介して行われる。

癌抑制遺伝子APCの機能とユビキチンシステム

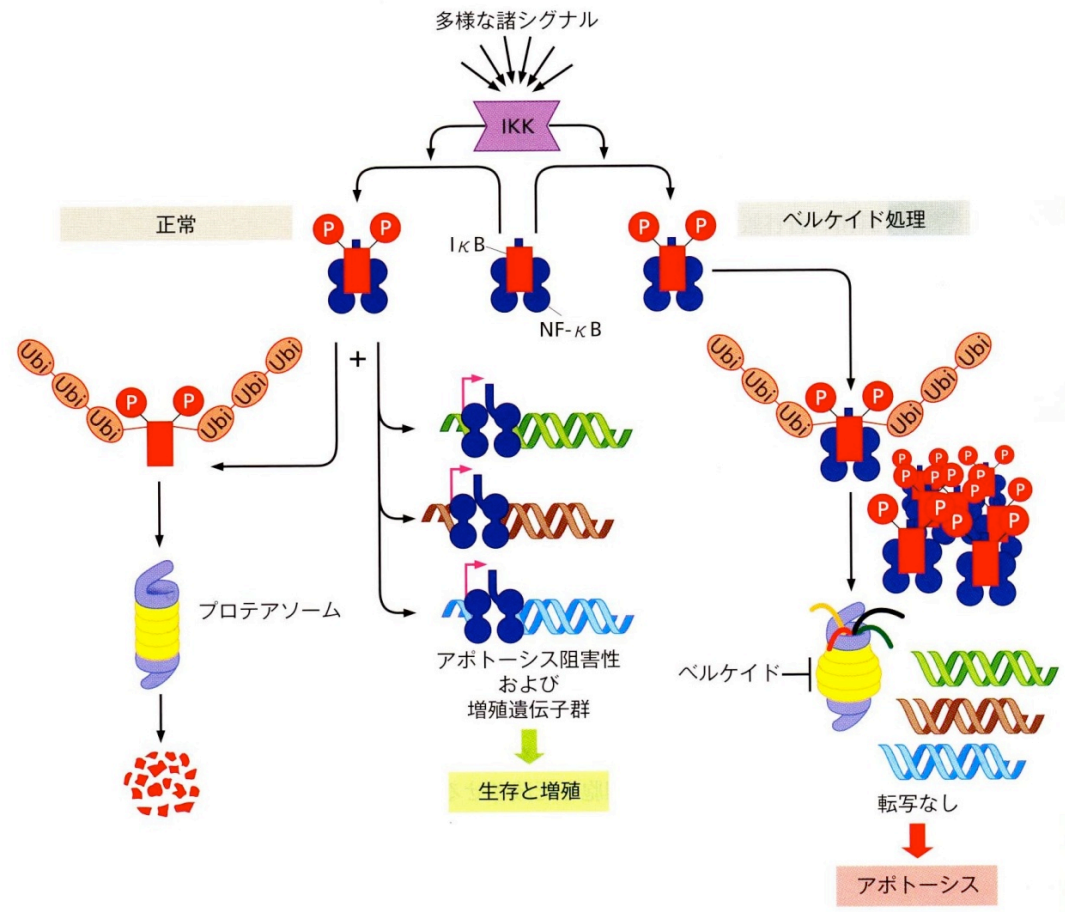


小括その3

1. ユビキチン・プロテアソームシステムによってサイクリンの分解が起こり細胞周期が停止する。
2. ユビキチン・プロテアソームシステムによってI- κ Bの分解が誘導されて、NF- κ Bの活性化が起こり、細胞の増殖や蛋白合成などが活性化する。
3. ユビキチン・プロテアソームシステムによって β -カテニンの分解が起こり、Wntシグナルによる細胞増殖などがブロックされている。

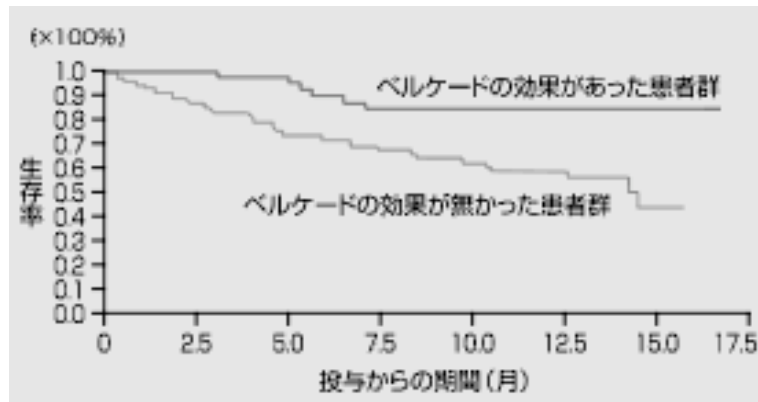
ユビキチン・プロテアソームシステムは細胞内の様々な機構に複雑に関係しており、分子標的としては不適切か？

ボルテゾミブ（ベルケード）の作用機序

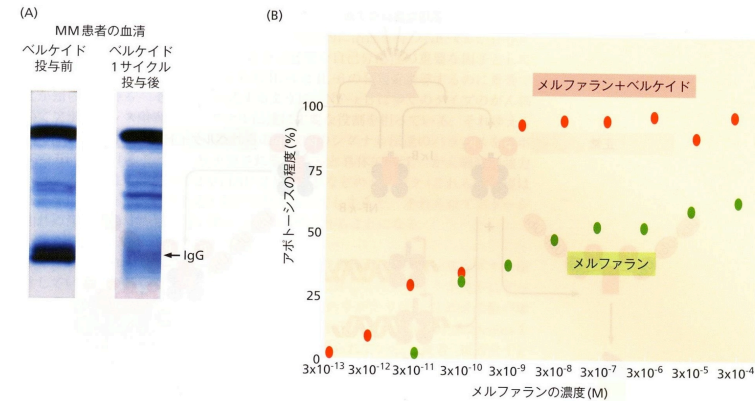


ベルケードはプロテアソーム阻害剤で、細胞増殖に必要な転写因子NFkappaBの増加が阻害されるために、増殖できないばかりか不要なたんぱく質の蓄積のために細胞死をもたらす。

ボルテゾミブの効果



再発・難治性多発性骨髄腫に対して、ベルケードのみを投与する単独療法が検討された。結果として、投与を受けた約1割の人にがん細胞の消失(完全寛解)、ないしはそれに近い状態が得られた(完全+部分寛解率10パーセント)。また、何かしらの効果があった3割以上の人では、生存期間が長くなった。



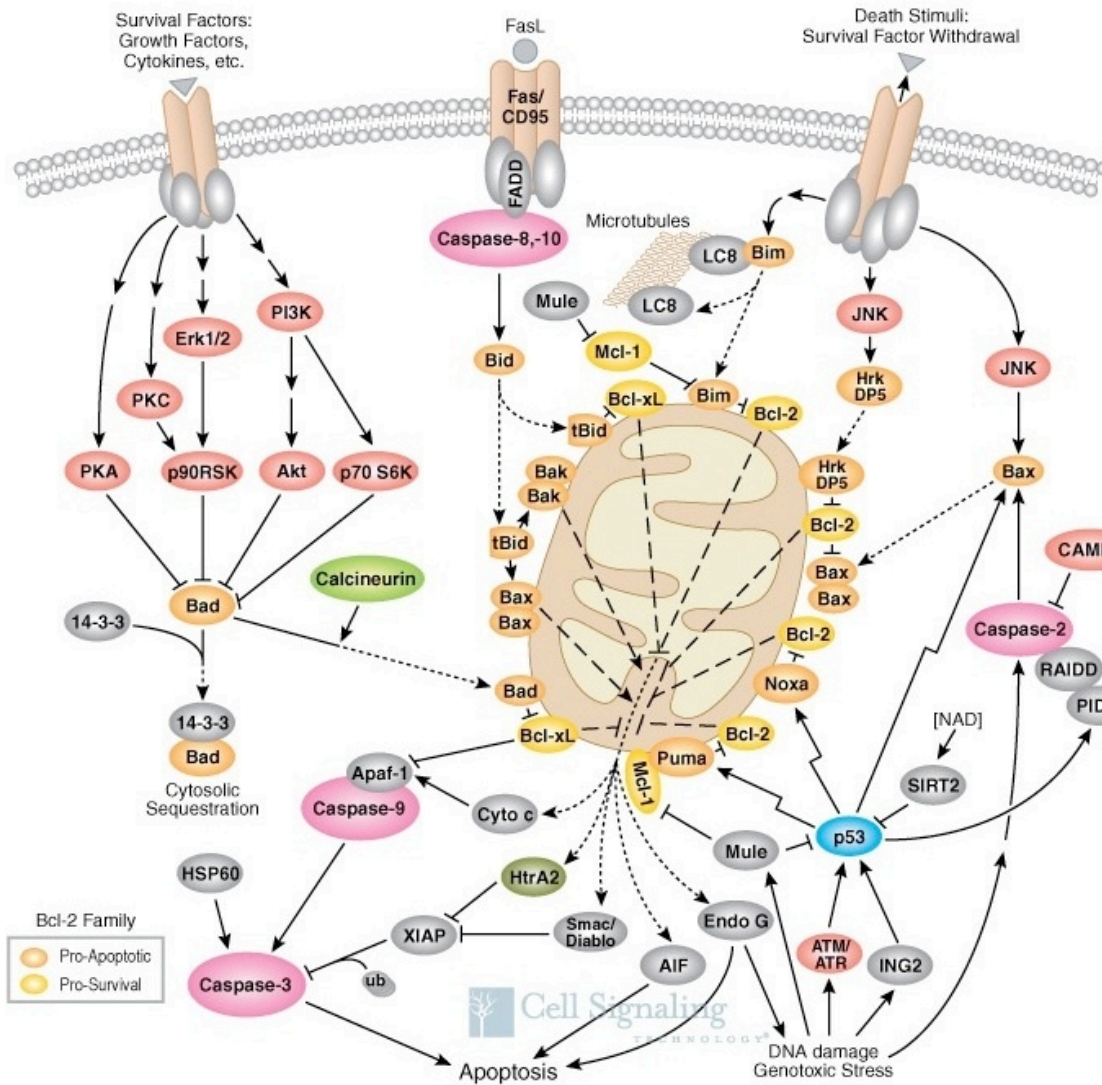
左上の図:ベルケードを8回投与された患者の血清中のM蛋白の減少を示す。
右上の図:メルファラン単独及びメルファラン+ベルケードで試験管内でMM細胞を処理すると、明らかに併用群でアポトーシスする細胞が増加した。

細胞の生存・増殖のメカニズム

1. 細胞の生存を保証するエネルギー代謝
2. 増殖のメカニズム(シグナル伝達)
3. 細胞死のメカニズム(シグナル伝達)
4. 癌幹細胞仮説

癌だけに特異的なものなのか？
正常細胞も使う共通の機構なのか？

アポトーシスシグナル



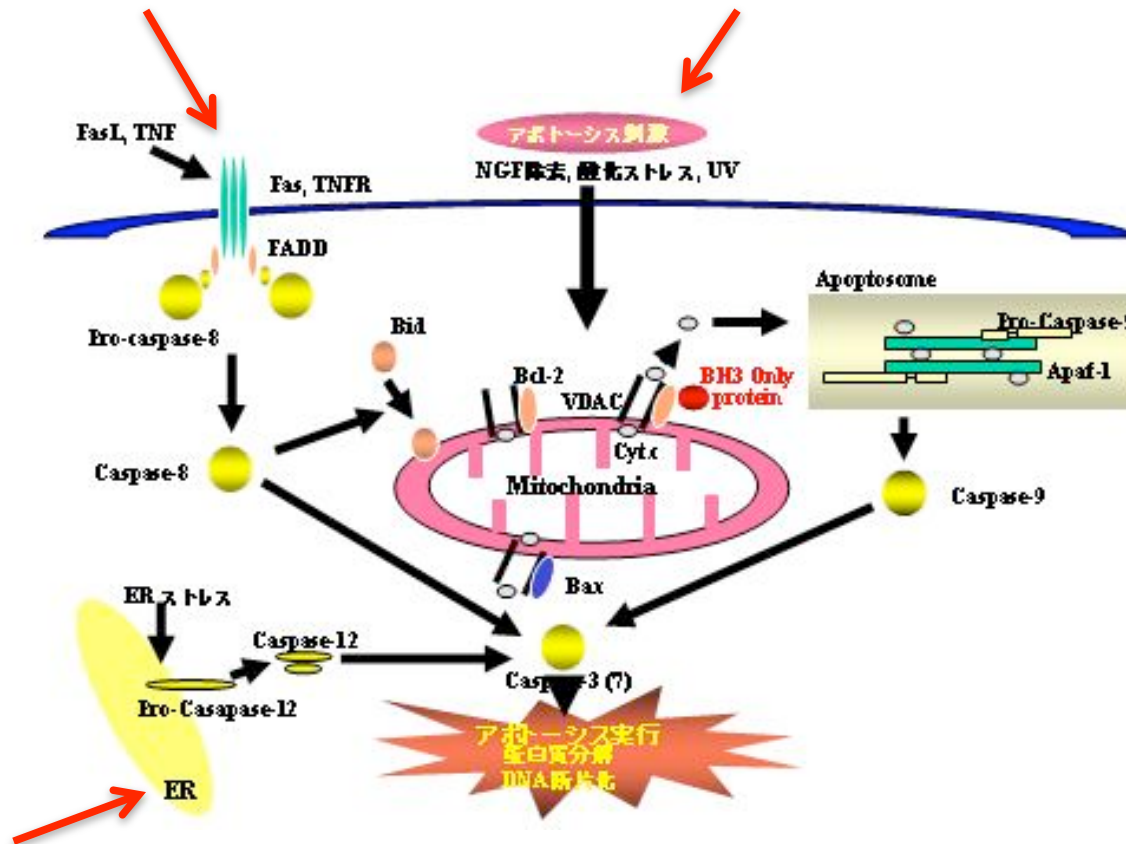
アポトーシスシグナルをミトコンドリアを中心にまとめた図だが、数多くの因子が関与していることがわかる。

主な経路は、

1. デスレセプター
2. 生存シグナルの除去
3. DNAダメージ／Genotoxic stress

アポトーシスを阻害するシグナルとして生存シグナルがある。

アポトーシスの主な経路

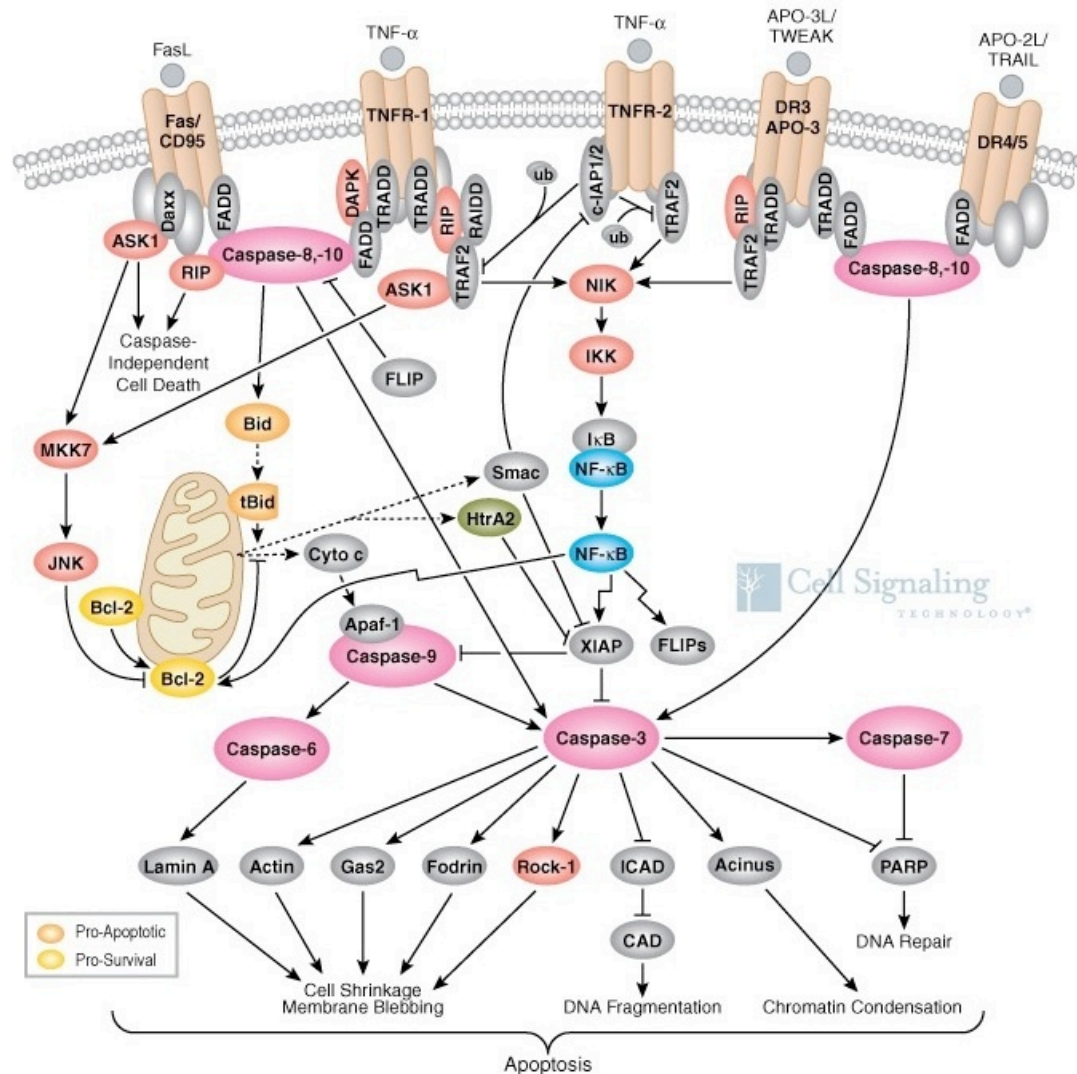


主な経路

1. Death receptorを介する経路
会合蛋白FADDを介してcaspase8の活性化\caspase3の活性化
2. 増殖因子除去、DNA障害などのアポトーシス誘導刺激経路
ミトコンドリアからのチトクロムCの放出\caspase9の活性化\caspase3の活性化
3. ERストレス(小胞体ストレス)経路
caspase12の活性化\caspase3の活性化

アポトーシスの最終実行部隊へのシグナルはカスパー3に収斂する。カスパー3の下流にCADなどの実行部隊がDNAを切断する。

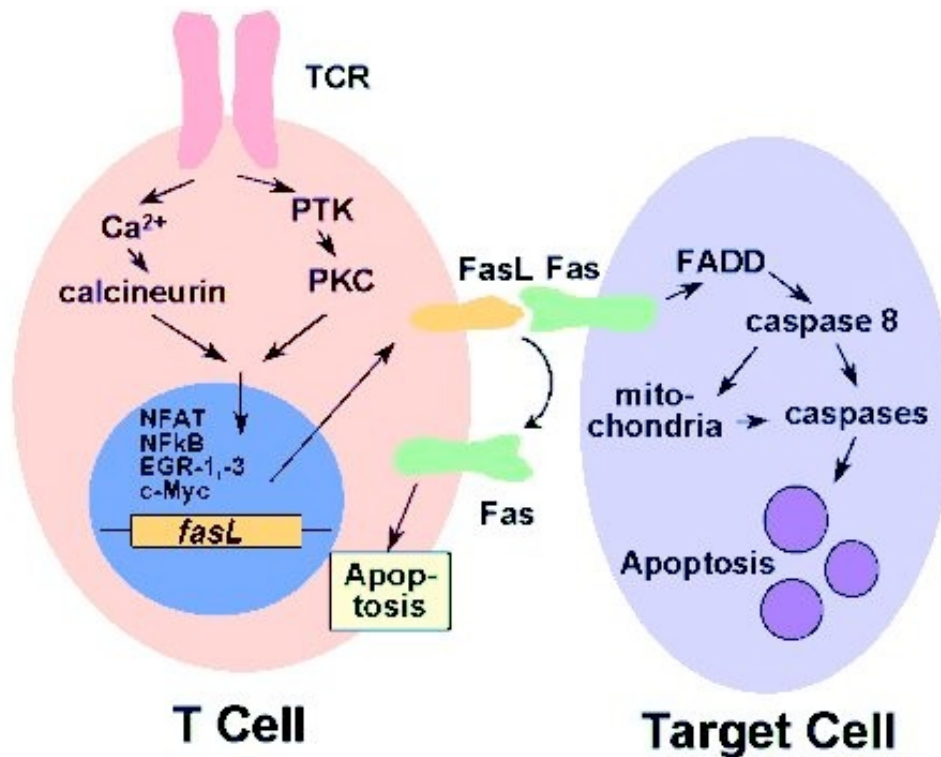
デスレセプターを介したアポトーシス



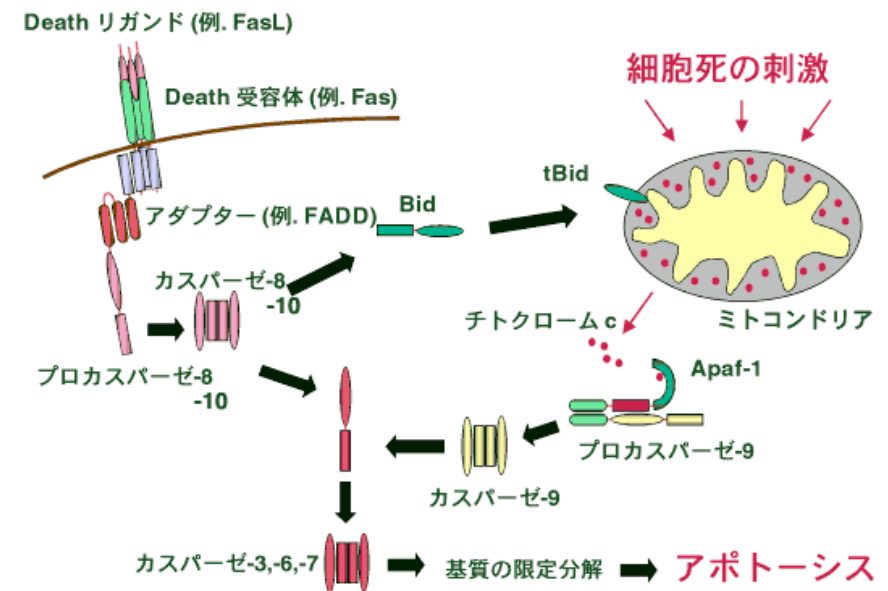
デスリガンド／デスレセプター経路として4種類が知られている。FasL の結合は Fas の三量体形成を引き起こし、アダプター蛋白である FADD を介してカスパーゼ-8 をリクルートする。カスパーゼ-8 は多量体化して活性化する。カスパーゼ-8 は2つの並行なカスケードを介してアポトーシスを刺激する: 直接的にカスパーゼ-3 を消化・活性化する、もしくは、プロアポトーシス Bcl-2 ファミリーである Bid を消化する。切断された Bid (tBid) はミトコンドリアへ移動し、シトクロム c の放出を引き起こし、続いてカスパーゼ-9、-3 を活性化する。

細胞障害性T細胞の殺細胞メカニズム

-FASL/FASの役割-



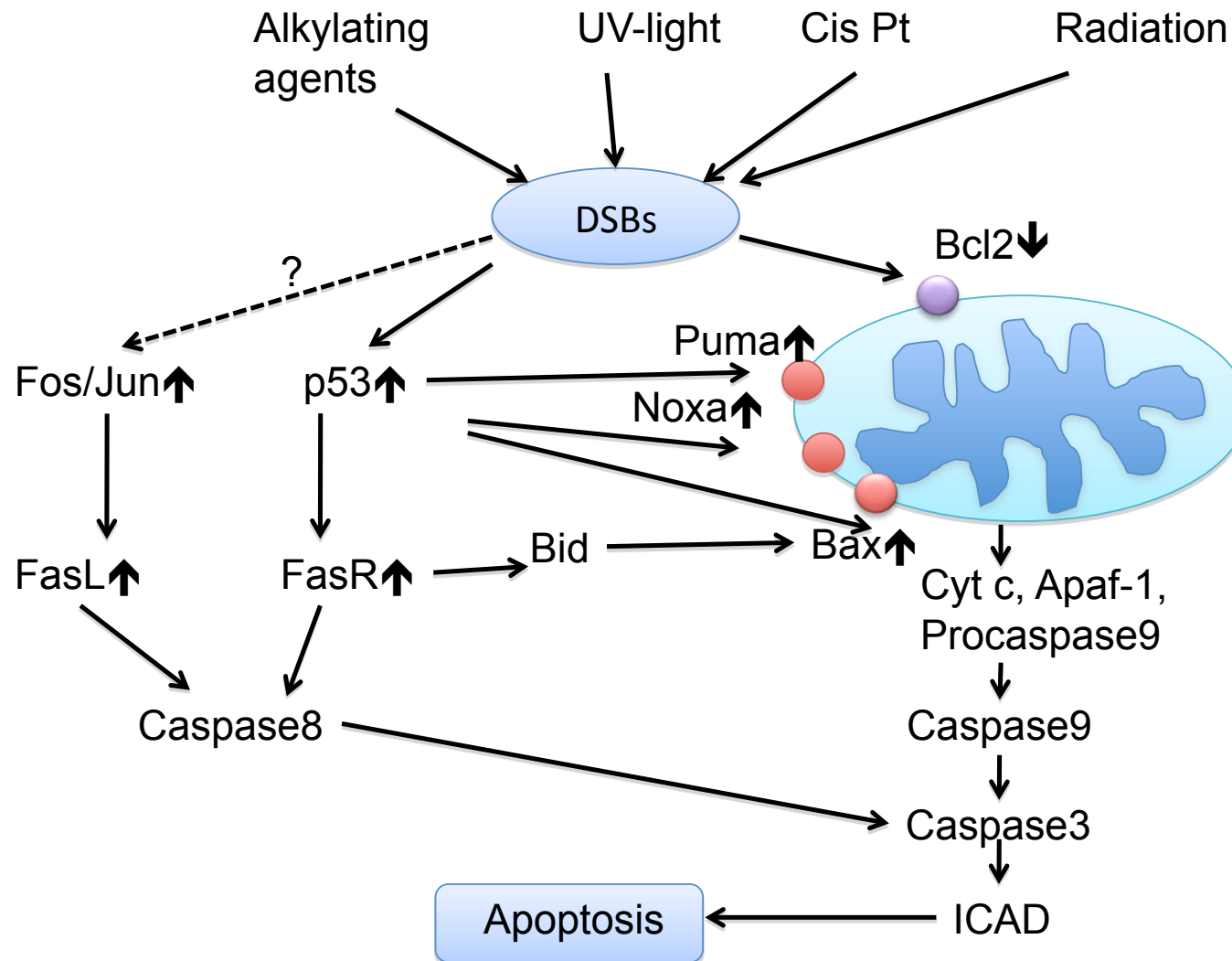
ウイルスなどに感染した細胞を認識した細胞障害性T細胞は、FASLを発現してFASL/FAS経路で標的細胞のアポトーシスを誘導.



2つの経路

- 1)カスパーゼ8-10の活性化\カスパーゼ3の活性化\アポトーシス
- 2)カスパーゼ8-10の活性化\BiDの分解\ミトコンドリアからのチトクロームC放出\カスパーゼ9の活性化\カスパーゼ3の活性化

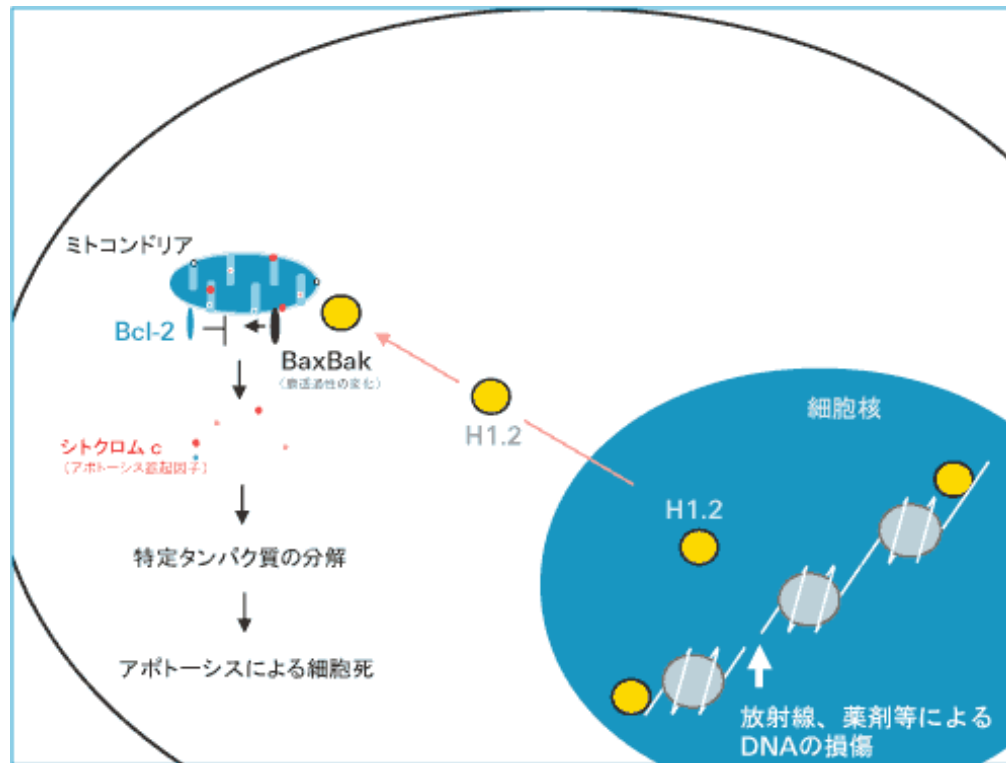
抗癌剤、放射線によるアポトーシス



DNA損傷によるアポトーシス誘導機構には不明な点が多い。DNA損傷後のp53活性化を介してPumaや Noxaなどの proapoptotic蛋白が誘導されてアポトーシスに至る経路が有名である。

しかし、p53^{-/-}でもアポトーシスを起こすことが知られており、この経路に関与する可能性のあるものとして、Fos/Junを介する経路などが知られている。全貌は明らかではない。

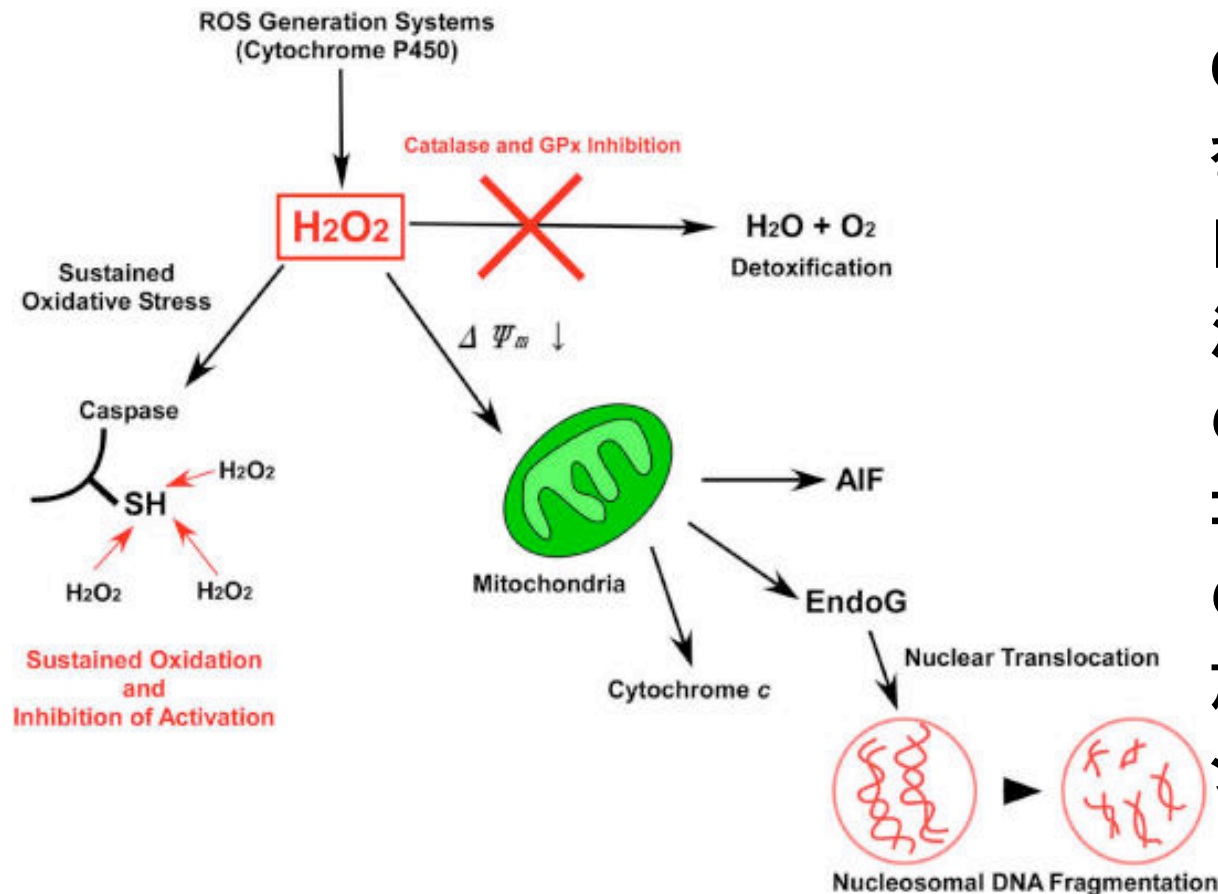
DNA障害時のアポトーシス誘導機構（仮説）



DNAに2重鎖切断が入るとリンカーヒストンH1.2が核外に漏出し、ミトコンドリアの膜透過性亢進を誘導する。その結果、ミトコンドリア内部に格納されているアポトーシスを惹起する複数の因子が放出され、カスプーシスの活性化を介してアポトーシスが誘導される。

Tsujimoto et al., Cell. 2003 Sep 19;114(6):673-88.

抗がん剤のアポトーシス誘導機構(仮説)

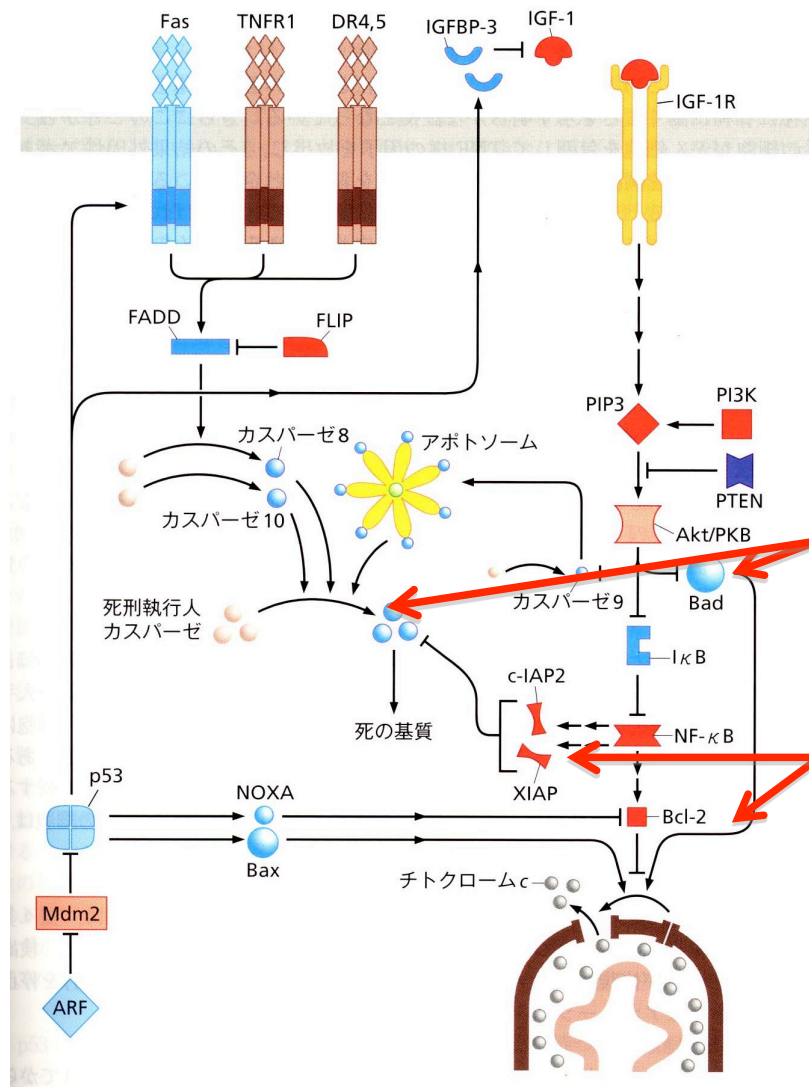


Cisplatinなどの活性酸素を産生する抗がん剤のアポトーシス誘導機構のモデル
活性酸素種がミトコンドリアの膜電位を低下させて、ミトコンドリアからのチトクロムcの放出、Endonucleaseの放出などを介してアポトーシスを誘導する。

ヒトの腫瘍で見つかるアポトーシス阻害性変化

変化	アポトーシス阻害機序	腫瘍タイプ
CASP8のメチル化	デスレセプターシグナルの阻害	SCLC, 小児腫瘍
CASP3の抑制	死刑執行人カスパーゼの不活化	乳癌
ERKの活性化	カスパーゼ8の発現抑制	多くの癌
ERKの活性化	Bcl2の分解からの保護	多くの癌
Rafの活性化	Badの隔離	多くの癌
PI3Kの活性化	Akt/PKBの活性化	胃腸管
NF-kBの活性化	アポトーシス阻害遺伝子の誘導	多くの癌
P53の変異	アポトーシス促進遺伝子の転写	多くの癌
IAP遺伝子の増幅	カスパーゼ3及び7のアンタゴニスト	食道癌、子宮頸癌
Bcl-2の高発現	ミトコンドリアの流路の閉鎖	ヒト腫瘍の半分
IGF-1/2の高発現	Akt/PKBの活性化	多くの癌
Akt/PKBの活性化	アポトーシス促進Bcl-2様蛋白の不活化	多くの癌
FLIPの高発現	カスパーゼ8活性化の抑制	多くの癌
PTENの不活化	Akt/PKBの活性化	膠芽腫、前立腺癌

癌細胞のアポトーシス阻害戦略



アポトーシス促進蛋白や活性の減少を青で示し、アポトーシス阻害性蛋白や活性の増加を示した。

アポトーシス促進蛋白であるcaspase3の抑制やAkt/PKB活性化に続くアポトーシス促進蛋白Bad蛋白の不活化などを示す。

アポトーシス阻害蛋白であるBcl-2やIAP蛋白の高発現を示す。

小括その4

1. アポトーシスシステムは、古い細胞や異常な細胞の除去を介した多細胞生物の恒常性保持に働いている。
2. アポトーシス誘導経路には大きく分けて3つあり、デスレセプターを介する経路、ERストレスを介する経路、増殖因子除去やDNA障害などのアポトーシス誘導経路がある。
3. 癌細胞では多くのアポトーシス阻害性変化が認められる。
4. 抗がん剤や放射線などのDNA障害を誘導する処理によるアポトーシス誘導機構には解明されていない点が存在する。

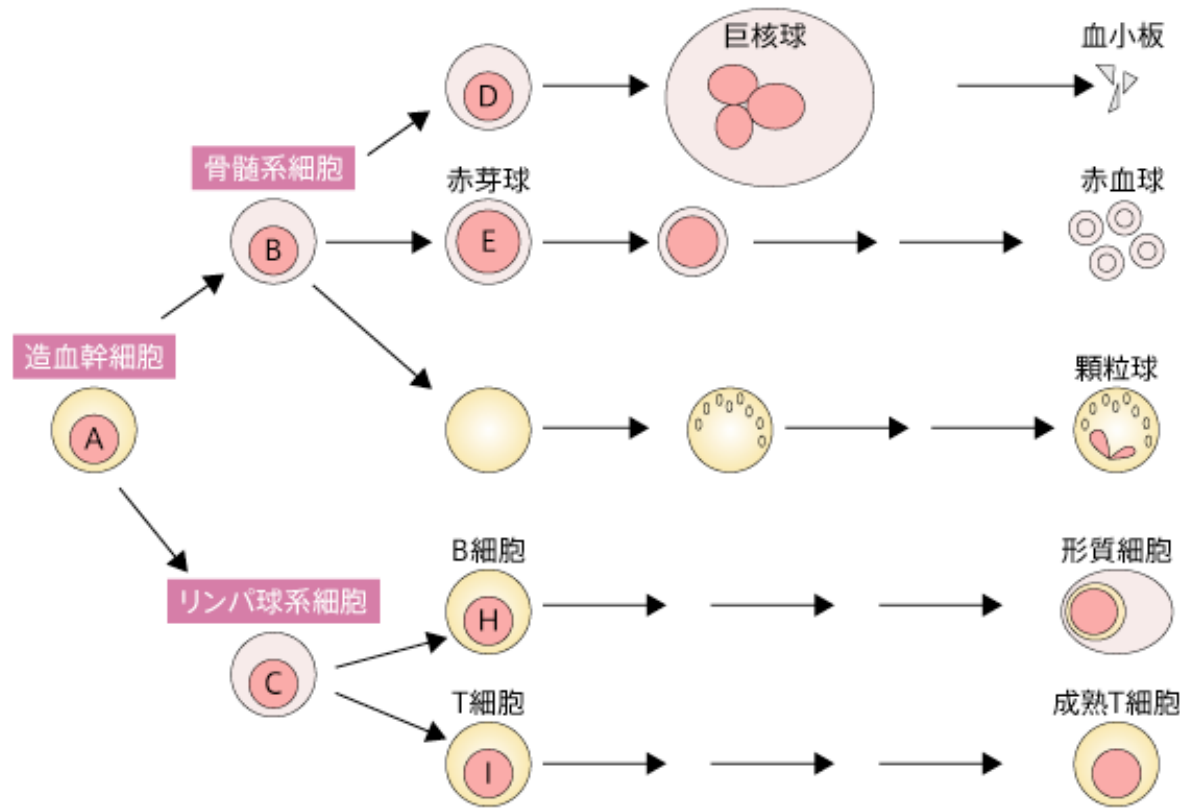
細胞の生存・増殖のメカニズム

1. 細胞の生存を保証するエネルギー代謝
2. 増殖のメカニズム(シグナル伝達)
3. 細胞死のメカニズム(シグナル伝達)
4. 癌幹細胞仮説

癌だけに特異的なものなのか？
正常細胞も使う共通の機構なのか？

造血幹細胞による血球系の維持

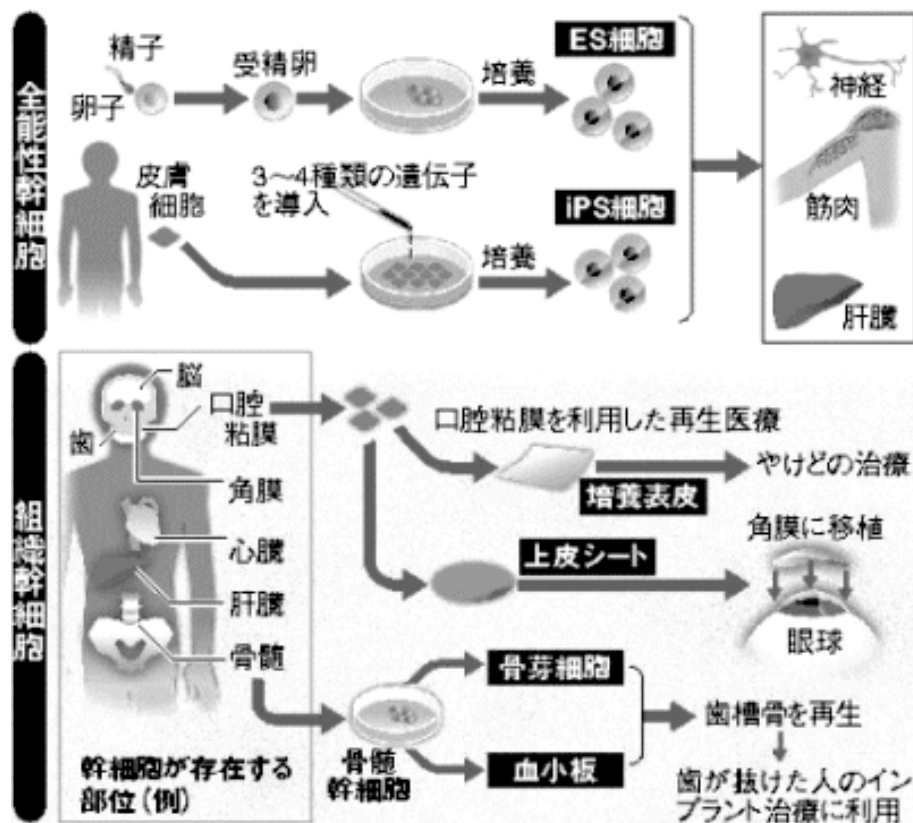
—正常な生体における幹細胞の意味—



血球細胞は毎日 10^{12} 個以上が失われていくが、造血幹細胞の増殖と分化によって血球減少をきたさずに数を維持している。造血幹細胞は、リンパ球や好中球、マクロファージ、赤血球などすべてに分化しうる多能性を保持している。

幹細胞システムの生体における役割と臨床応用

—正常な生体における幹細胞の意味—



生体の各臓器は、古い細胞が脱落して新しい細胞によって取り換えられて機能を維持している。これらを担当しているのが、組織幹細胞と呼ばれる万能性を失った幹細胞である。

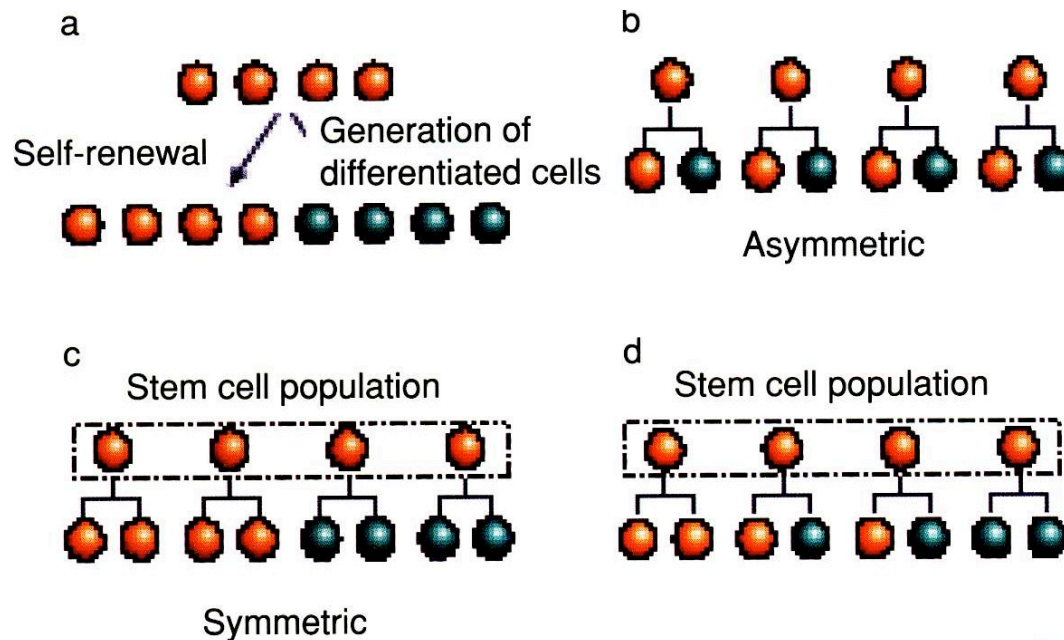
一方、受精卵やES細胞、iPS細胞（人工多能性幹細胞）など万能性を保持した幹細胞がある。

癌幹細胞仮説

- がん細胞集団が均一の細胞から構成されているのではなく、少数の細胞でもがんの移植可能な細胞集団と多数の細胞を移植してもがんの発生を見ない細胞集団に分けられることがわかっていた。
- 少数の細胞でがん移植を可能とする細胞集団を純化して、細胞表面マーカーを調べてみると、組織幹細胞とよく似た表面マーカーを示した。
- これらの事実から、正常幹細胞のアナロジーでがん幹細胞の存在が想定された。
- **癌幹細胞の定義**
 - 自己複製能**：細胞分裂によって分化した細胞以外に自分と同等の細胞も生み出す能力
 - 多分化能**：1種類の細胞系ではなく様々な細胞系への分化能

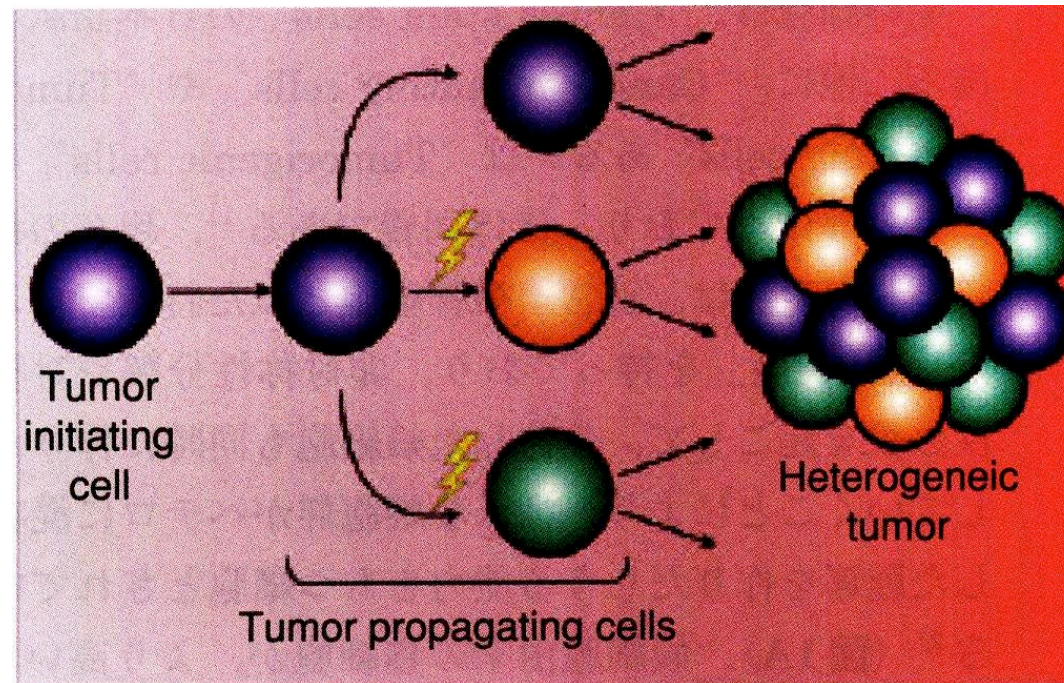
癌幹細胞の定義

癌幹細胞とは、ヘテロな集団の中で自己複製能を持って、少数細胞の移植によって癌を形成できる細胞をさす。



a. 幹細胞の性質として、自己複製能と多分化能を持つことが必要である。細胞分裂する際に、一方が未分化で一方が分化した細胞に分裂することを非対称分裂と呼ぶ。娘細胞が2つとも同じ性格であれば、対称分裂と呼ぶ。実際の癌では、この対称分裂と非対称分裂が混在している。

癌幹細胞からヘテロながん組織が形成されるモデル



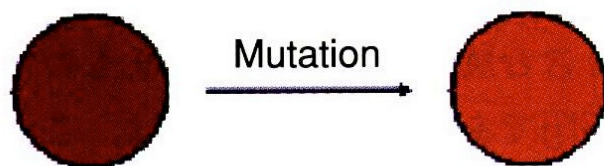
癌幹細胞からヘテロな細胞集団をつくる過程では、一部の細胞は分裂によってより分化した形質を獲得し、一部の細胞は遺伝子異常が付加されてより悪性の細胞に変化し、いくつもの、分化レベルも増殖能も異なる細胞集団を形成する。中には新しく生まれたより悪性の細胞集団が、選択されて新しい癌幹細胞になることもある。

癌幹細胞の治療抵抗性

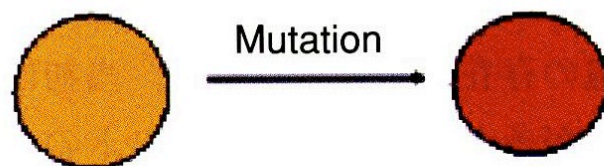
1. 細胞周期にはいっていない細胞が少なく、抗癌剤に抵抗性を示す。
2. 幹細胞の周囲に腫瘍微小環境を構成する支持細胞が存在し、生存シグナルを与えており、抗癌剤に抵抗性を示す。

正常幹細胞と癌幹細胞の関係は？

a Normal stem cells Cancer stem cells

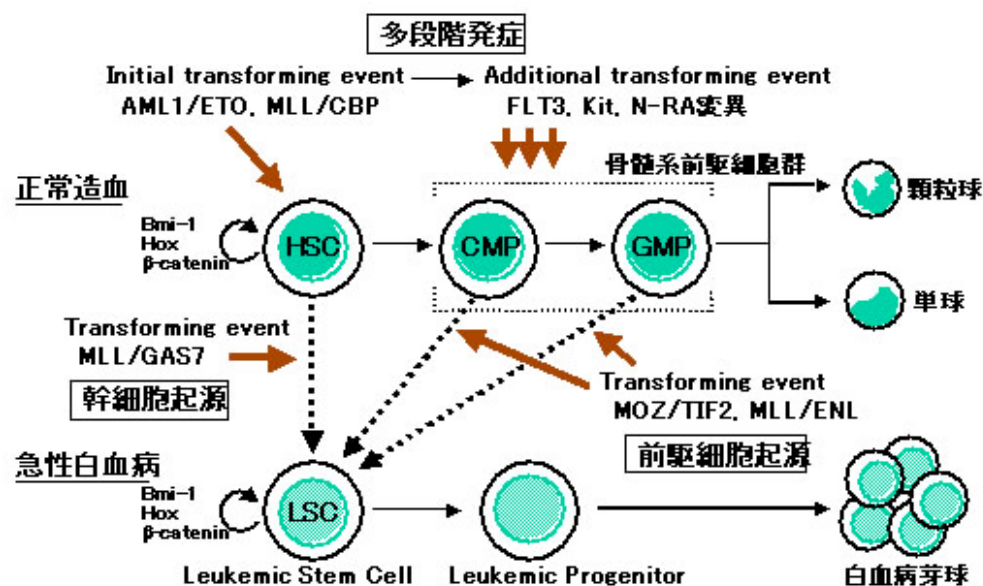


b Progenitor cells Cancer stem cells



No self-renewal potential

Gain self-renewal potential



当初は、正常幹細胞に遺伝子異常が入り、癌幹細胞に変化すると考えられてきた。最近では、iPS 細胞のように分化した細胞に遺伝子を導入することで幹細胞を作製できることから、自己複製能を持っていない前駆細胞などでも癌幹細胞になれるのではないかと考えられている。**白血病では前駆細胞が白血病幹細胞になれる。**

白血病、乳癌の癌幹細胞と正常幹細胞の性状

	正常幹細胞	癌幹細胞
白血病	CD34+CD38-Thy-1+	CD34+CD38-Thy-1+
乳癌	CD44+CD24 ^{low/-}	CD44+CD24 ^{low/-}

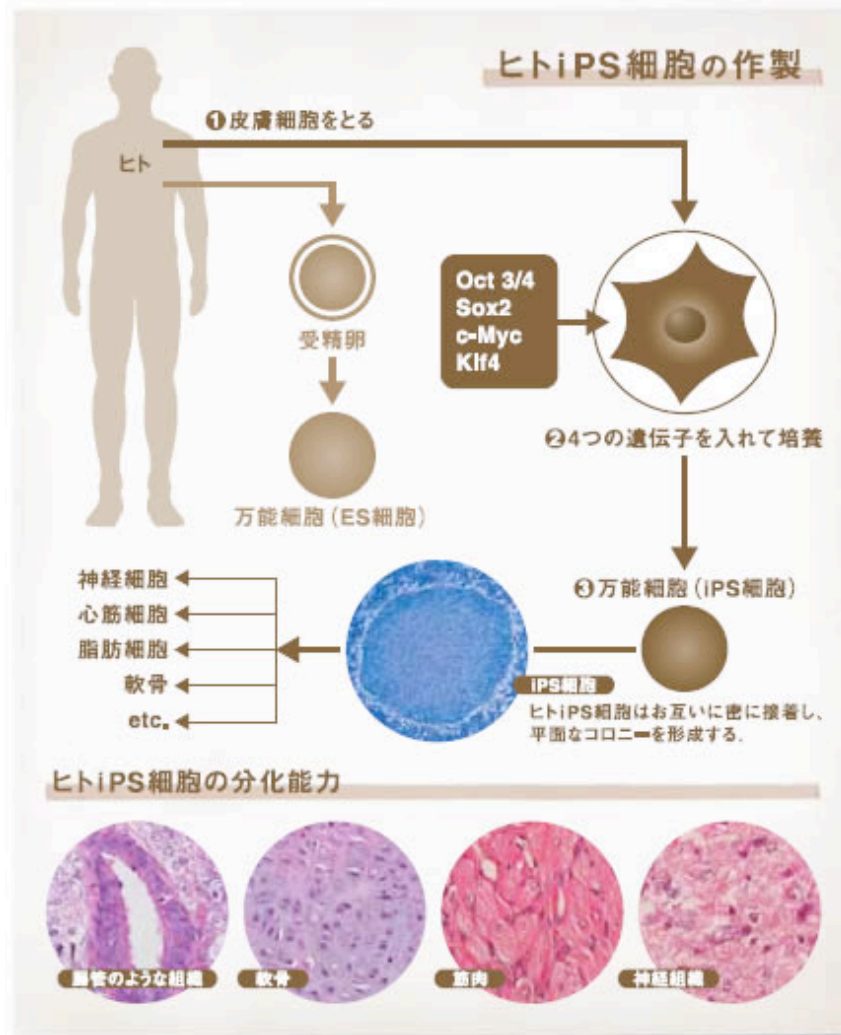
上記のデータは、がん化が正常幹細胞レベルでおこっており、癌幹細胞も同じ性格を保持していることを示唆する。

しかしながら、iPS細胞のように分化した細胞から癌化に伴って、遺伝子の変異が入って未分化な細胞に脱分化する可能性も否定はできない。

小括その5

1. 癌幹細胞仮説は、抗がん剤によって99.9%の癌細胞を殺しても0.01%でも残存すると再発するという癌化学療法に限界をよく説明できる。
2. 癌幹細胞仮説は、今後の治療法の開発には癌幹細胞という少数の特殊な細胞集団を標的として探索すべきであることを示唆する。
3. 幹細胞に遺伝子変異が積み重なって、がん組織を形成していくという仮説は、「幹細胞は、ほとんど細胞周期停止状態であり、頻回の分裂をくり返さない」という幹細胞の特徴とは矛盾している。

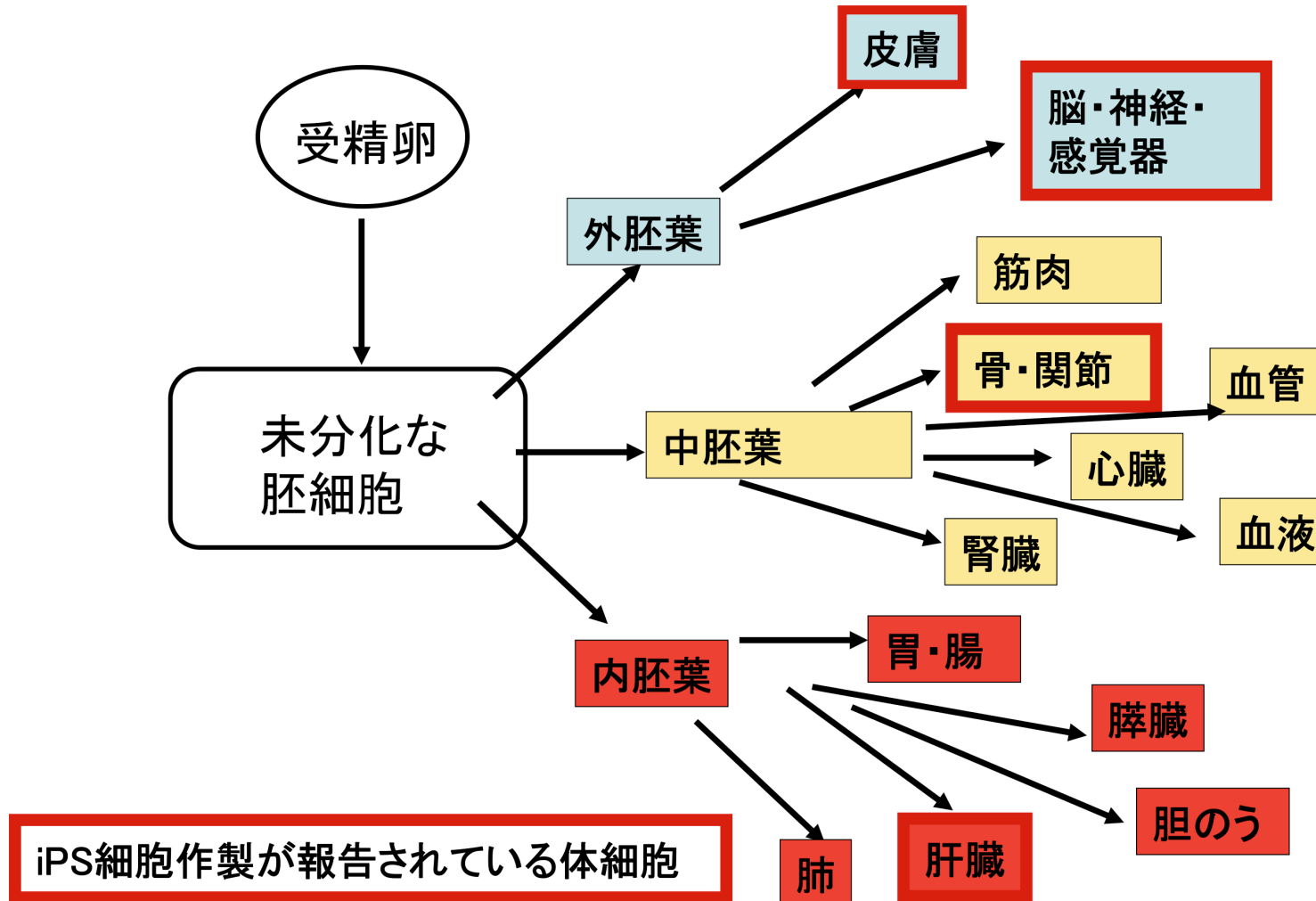
再生医療を取り込んだがん治療



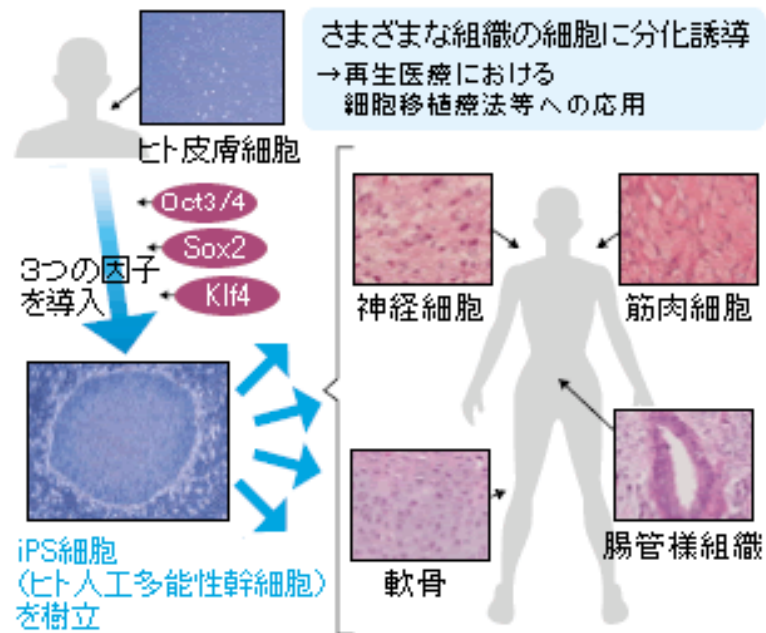
iPS細胞 (Induced pluripotent stem cells) は、体細胞 (主に線維芽細胞) へ数種類の遺伝子 (転写因子) を導入することにより、ES細胞 (胚性幹細胞) に似た分化万能性 (pluripotency) を持たせた細胞のことを指す。

本人の多能性幹細胞を利用できることから、移植に伴う免疫排除などの問題を考慮する必要がなく、再生医療の実現化が期待されている。

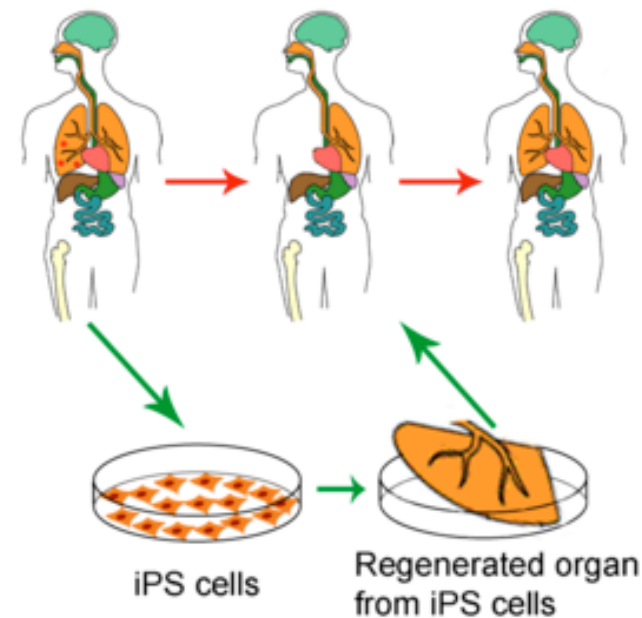
細胞の分化(プログラムに従った細胞の変化)



iPS細胞を用いた再生医療の実際

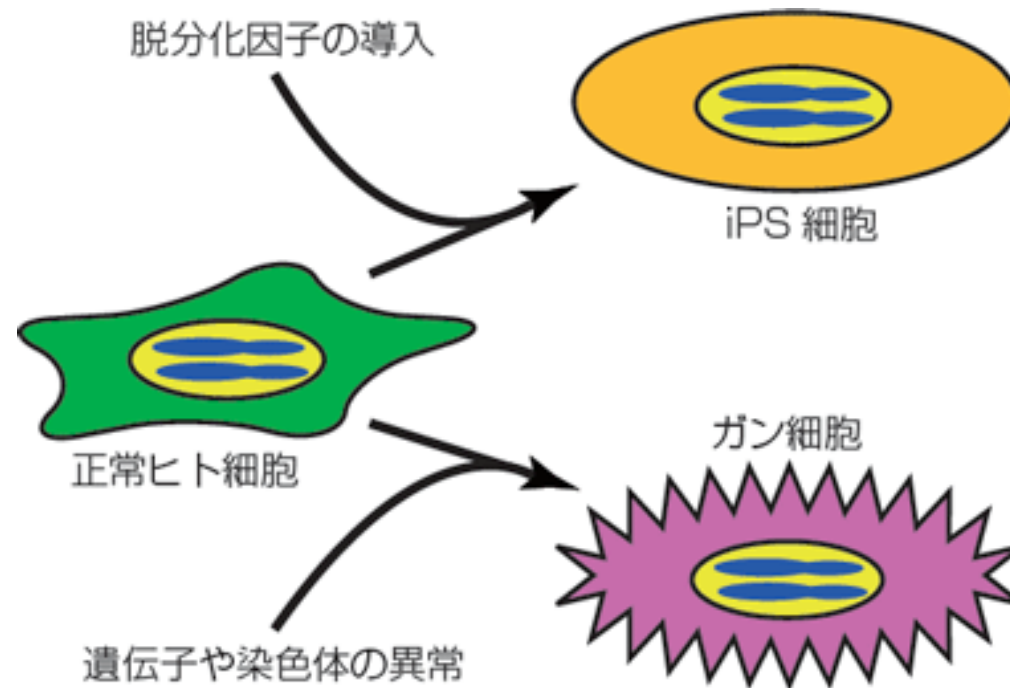


iPS細胞を臓器に移植して分化再生を期待する細胞療法.



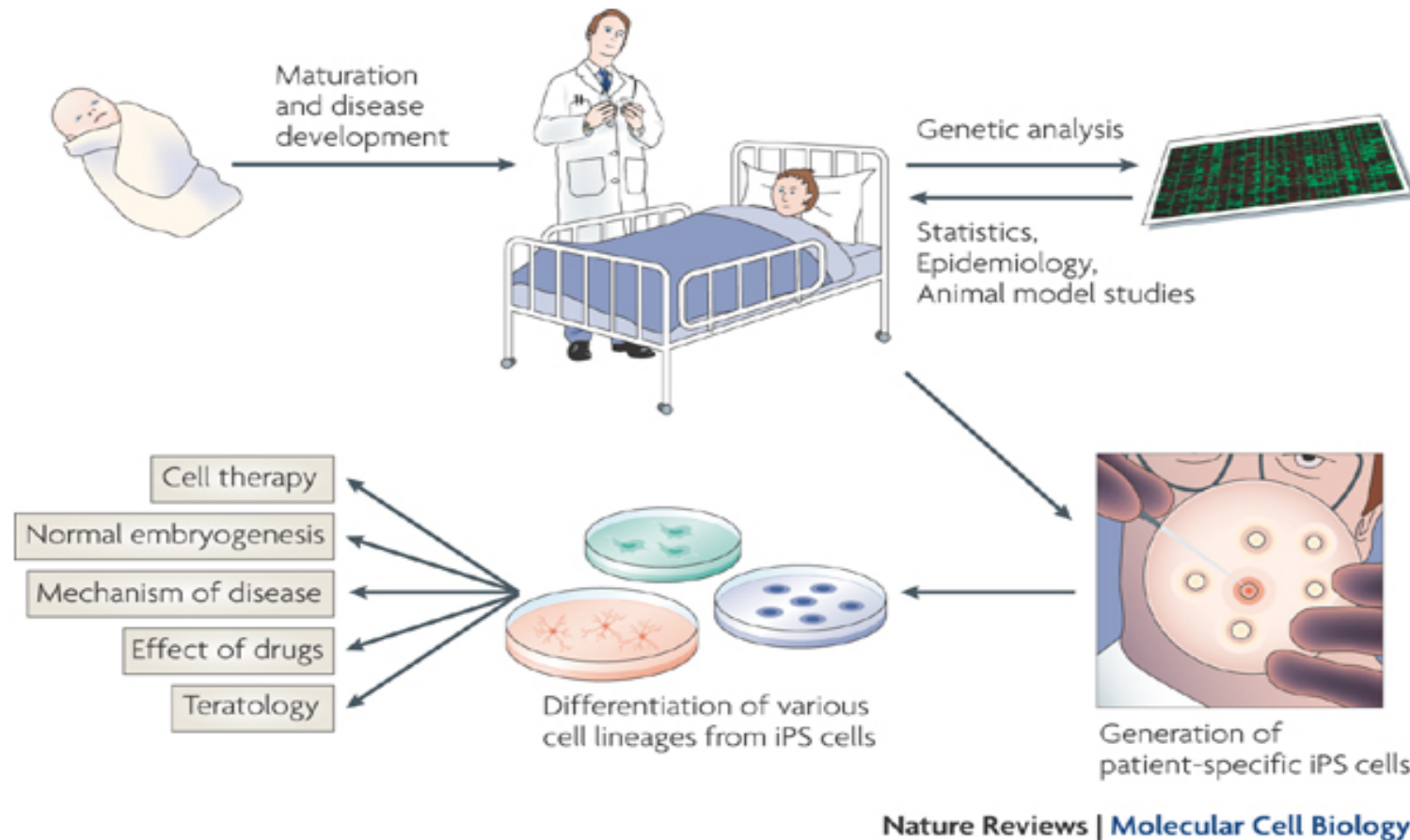
iPS細胞を試験管内で培養して臓器を再形成させて移植する移植療法.

iPS細胞樹立のメカニズム



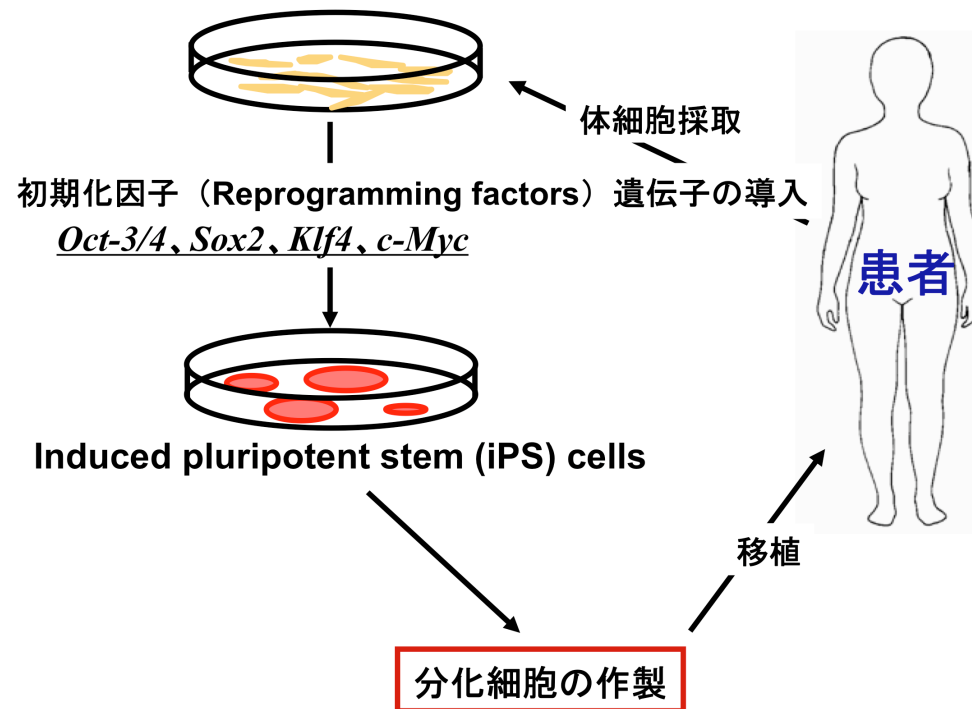
有限の寿命を持つ正常ヒト細胞から出現したiPS細胞（いわゆる万能細胞）やガン細胞は無限の寿命を持っている（細胞の不老化）。細胞寿命を決めている遺伝プログラムはいまだ解明されていない。iPS細胞は癌化への第一歩を踏み出した細胞かも知れない。

iPS細胞を用いた疾患原因・治療法の探索



特殊な疾患患者からiPS細胞を樹立し、正常細胞との違いを分子生物学的に探索し、新しい治療法の開発に結びつける事を狙っている。

iPS細胞を用いた再生医療



9

体細胞に遺伝子を導入してiPS細胞が樹立される可能性は0.1%以下であり、この段階で不死化した細胞を選択している可能性がある。
そして不死化した細胞は、癌化の第一ステップを進んでしまったとも考えられる。

iPS細胞の医療応用に伴う問題点

1. コスト：現在の技術水準に基づいて治療が必要な患者毎にiPS細胞を樹立することを想定するとコストが膨大となる。

2. がん化のリスク：iPS細胞作製に際し導入される初期化因子には、c-MycやKlf4など細胞のがん化との関連が指摘されている分子がある。iPS細胞に由来する分化細胞を移植した後、移植した細胞中で初期化因子が再活性化し、さらに、がんが生じる危険性が指摘されている。

iPS細胞そのものが、不死化した細胞であり、正常の幹細胞は決して分化させずに培養する事は不可能とされている。