糖鎖と癌治療

特集 DDSのシーズ——糖とDDS

大山 力・羽瀨友則^{*1)}、加藤哲郎^{*2)}

Carbohydrate-based anti-cancer drug

Carbohydrate molecules such as glycoprotein, glycolipid, and proteoglycan being expressed on cell surface alter during carcinogenesis but also play important roles in cancer invasion and metastasis. Here, we reviewed the recent advances in glycobiology for cancer treatment. Cancer treatment utilizing glycobiology techniques is categorized as 1) inhibition of carbohydrate chain synthesis, 2) inhibition of lectin which specifically reacts with a carbohydrate structure, 3) activation of innate immunity, 4) antibody drugs raised against carbohydrate chain, and 5) cancer vaccines. Some of these techniques have been approved by the U.S. Food and Drug Administration. Several companies and academic institutions are conducting clinical trials of carbohydrate based anti-cancer drugs, which could be a promising approach because of its minimal side effect.

細胞膜の表面に発現する糖蛋白質、糖脂質、プロテオグリカンなどの複合糖質(糖鎖)は、発癌過程において大きく変化するのみならず、癌の浸潤・転移においても重要な役割を果たしている。糖鎖を利用した癌治療薬は、糖鎖と特異的に結合するレクチンの阻害剤、糖蛋白質糖鎖を標的にした抗体医薬品、糖鎖による自然免疫系の活性化、糖鎖の合成阻害剤、糖鎖を利用した癌ワクチンなどにわけられる。これらのなかには、米国 Food and Drug Administration からすでに医薬品に認可されているものがあるほか、臨床試験段階にあるものもいくつかある。副作用が軽微な治療薬になると期待され、今後の開発研究が加速する分野である。

Chikara Ohyama・Tomonori Habuchi^{*1)}, Tetsuro Kato^{*2)}

key words : carbohydrate, cancer treatment

細胞表面に発現する糖鎖は、細胞の癌化に伴って質的・量的に大きく変化するだけでなく、癌の浸潤や転移においても重要な役割を果たすことから、治療への応用に関心が高まっている^{1,2)}。糖鎖の合成阻害、糖鎖による免疫担当細胞の活性化、糖蛋白質糖鎖を標的にした抗体医薬品、糖鎖を利用した癌ワクチンなど、糖鎖を癌治療に応用する試みが活発に行われ、すでに医薬品として認可されているものもある^{3,4)}。

感染症の領域では、糖鎖あるいは糖鎖の機能を利用した医薬品がすでに数種類上市され、臨床の場で効果を上げている。インフルエンザ予防治療薬のリン酸オセルタミビル(タミフル[®])、ザナミビル(リレ

ンザ[®])、抗真菌剤のミカファンギンナトリウム(ファンガード[®])などはその好例である。また、腎性貧血の治療薬である赤血球造血因子(エリスロポエチン)は糖蛋白質で、生物活性糖鎖の含有量を高めて、効果持続時間を3倍にした次世代エリスロポエチンが開発されている。

このように糖鎖を利用した創薬は、種々の疾患の治療薬として実績を上げており、癌治療の領域でも大きな可能性を秘めている。本稿では、癌の浸潤・転移における糖鎖の役割を概説し、糖鎖を利用した癌治療・創薬に関する最近の動向を紹介したい。

糖鎖(複合糖質)と糖鎖生物学

糖質にはグルコースやフルクトースなどの単糖、ラクトース、スクロースなどの二糖、エネルギー源の貯蔵物質であるグリコーゲンのほかに、生体構成

^{*1)} Department of Urology, Akita University School of Medicine, 1-1-1 Hondo, Akita 010-8543, Japan ☎ 010-8543 秋田市本道1-1-1 秋田大学医学部泌尿器科学教室

^{*2)} Akita Prefectural Health Care Center, 6-6 Senshu Kubota Machi, Akita 010-0874, Japan ☎ 010-0874 秋田市千秋久保町6-6 秋田県総合保健センター

図 1 糖鎖と糖鎖生物学

図 2 糖鎖変化による転移能亢進と
糖鎖模倣ペプチドによる転移抑制

B16 F1 はマウス尾静脈注入してもほとんど肺転移を形成しない(上段)。Fucosyltransferase-III の遺伝子を導入して sialyl Lewis X を過剰発現させると、多数の転移結節を形成する(中段)。過剰発現した糖鎖を模倣したペプチドを予め注射しておく、肺血管内皮細胞の E-セレクトインとの接着が阻害され、転移は抑制される(下段)。

event として捉えられ、転移を有する例ではむしろ発現が低下する⁶⁾。

このように、糖蛋白糖鎖あるいはその糖鎖を合成する糖転移酵素の発現の意義は、癌種によって異なるようである。したがって、癌の浸潤や転移と糖鎖との関係を解明するには、糖鎖の役割を個々の癌ごとに調べていく必要がある。

もう一方の糖蛋白糖鎖 O-glycan の branching enzyme として癌と密接な関連があるのは、core 2 構造を形成する core 2 GnT (C2 GnT) である。C2 GnT は GnT-V と同様に β -1-6 分岐糖鎖を形成し、その発現は種々の癌において転移能に相関している。よく知られているのは、C2 GnT の発現が大腸癌の深達度やリンパ節転移能とよく相関することである⁷⁾。このほかに、癌の転移に関与する糖鎖構造として sialyl Lewis X (sLe^x) が知られている。sLe^x 構造は

分子として働く複合糖質と総称される糖蛋白質、糖脂質、プロテオグリカンがある。本稿で取り上げる“糖鎖”はこの複合糖質である。

ヒトのゲノム構造が明らかになり、遺伝子から翻訳される蛋白質の機能解明が重要な研究課題になっている。ところで、膜蛋白や細胞外蛋白質のほとんどは、糖鎖が付加することによってその機能が調節される。また、糖鎖自体が直接生理活性を発揮する場合もある。このように、糖鎖は生命現象に広く関与していることから、糖鎖(複合糖質)の構造と機能を解析する糖鎖生物学の重要性が認識されつつある(図 1)。

癌の浸潤・転移における糖鎖の役割

癌細胞が増殖し、周囲組織や脈管に浸潤して遠隔転移を形成する過程には、増殖因子、接着因子、プロテアーゼ、免疫レセプターなど数多くの分子が関与するが、糖脂質や糖蛋白質も大きな役割を果たしている。糖蛋白糖鎖はその構造から N-glycan と O-glycan に大別できる。N-glycan の branching enzyme のなかでも、N-acetylglucosaminyltransferase GnT-III (GnT-III) と GnT-V は、細胞癌化に関連する糖転移酵素として注目されてきた。たとえば、GnT-V とその産物である分岐した N-glycan は、大腸癌において転移能とよく相関する⁵⁾。一方、肝細胞癌においては、GnT-V の発現は癌化の early

糖脂質, *N*-glycan ならびに *O*-glycan に発現するが, 大腸癌の浸潤性とリンパ節転移能に関連する sLe^x の carrier molecule は, *O*-glycan であると報告されている⁷⁾.

糖脂質は, 疎水性のセラミドと親水性の糖鎖を有する両親媒性分子群であり, 癌の浸潤と転移, 細胞接着, シグナル伝達, 神経の伸長, 免疫反応などにおいて重要な役割を果たしている. かつてメラノーマ関連抗原として同定された GM 2 や GD 2 は, 酸性糖脂質・ガングリオシドであり⁸⁾, これを標的にした治療薬の開発も行われている⁹⁾.

筆者らは, 糖転移酵素遺伝子導入によって作成した糖鎖改変モデルを用いて, これら転移関連糖鎖の発現様式を検討している. その実験成績の 1 例を, ここに紹介してみたい(図 2).

マウスメラノーマ B 16 F 1 は, マウス尾静脈注入してもほとんど肺転移を形成しないが, fucosyl-transferase-III 遺伝子を導入して sLe^x を過剰発現させると, 多数の転移結節を形成する¹⁰⁾. sLe^x と肺血管内皮細胞の E-セレクトインの接着が亢進するためであると考えた. そこで, 過剰発現した糖鎖を模倣したペプチドを合成して予め注射しておく, 肺血管内皮細胞の E-セレクトインとの接着が阻害され, 転移が抑制された¹¹⁾. この所見は, 糖鎖が癌の転移形成に重要な役割を担うことを示しており, 今後さらに基礎研究を積んでいけば, 転移予防法として臨床応用される可能性を秘めている.

糖鎖を利用した癌治療

糖鎖分子の発現制御, 分子標的化, 構造の修飾, 免疫賦活作用などによって, これを癌の治療に応用しようとする試みが活発に行われている. すでに医薬品として上市されているものもあるが, 現在, 臨床試験が進行あるいはほぼ終了している糖鎖関連癌治療薬について, その主なものを表 1 に示した. これらは, 糖鎖と特異的に結合するレクチンの阻害剤, 糖蛋白糖鎖をターゲットにした抗体医薬品, 糖鎖による natural killer T (NKT) 細胞活性化を利用したもの, 糖鎖合成阻害剤, 糖鎖を利用した癌ワクチンなどに大別される(図 3).

表 1 臨床試験中の癌治療用糖鎖医薬品(文献³⁾を改変)

メーカー	適応症	構造	臨床研究
SafeScience	癌	ペクチン誘導体	Phase II
GLYCODesign	腎癌	スワインソニン誘導体	Phase II
Progenics	メラノーマ	GD 2/KLH	Phase III
Progenics	癌	GM 2/GD 2/KLH	Phase I/II
Austin Res. Inst.	乳癌	マンナン/ムチン構造	Phase III
Progen Indus.	癌	硫酸化オリゴ糖	Phase I
Biomira	転移癌	sialyl Tn	Phase III
	乳癌	globo-H	Phase I

1. レクチン阻害剤

ある特定の糖鎖構造を認識する蛋白質はレクチンと称される. ガレクチン-3 は, β ガラクトシドに特異的なレクチンであり¹²⁾, 大腸癌, 乳癌, 前立腺癌などの転移に関与する. ペクチンは柑橘類から抽出された多糖類で, ガレクチン-3 の機能阻害作用を有し¹³⁾, 抗腫瘍薬として臨床試験が行われている.

2. 糖蛋白糖鎖をターゲットにした抗体医薬品

ハーセプチン(トラスツズマブ)は, 乳癌に過剰発現している糖蛋白質 HER-2(human epidermal growth factor receptor type 2)のモノクローナル抗体であり¹⁴⁾, 1998 年, 乳癌治療薬としては世界初のヒト化モノクローナル抗体治療薬として FDA から認可された. 抗体が抗原エпитープと結合することによって, 抗体依存性細胞傷害活性を発揮するもので, テーラーメイド医薬品の先駆けとされている¹⁵⁾.

このように癌細胞表面には, 抗原性を発揮する糖鎖が多量に発現しており, これをターゲットにした抗体医薬品は次世代創薬として注目されている. 最近, 協和発酵は, 抗体依存性細胞傷害活性がきわめて高い抗体を産生する技術を開発した. 抗体を構成する *N*-glycan のフコース含有量を減らすことによって, NK 細胞, 単球, マクロファージなどへの抗体の結合能を増強する技術である.

3. 糖鎖による NKT 細胞活性化を利用した癌治療

T 細胞, B 細胞, NK 細胞について第 4 のリンパ

図 3 糖鎖を利用した癌治療薬と作用機序

球として見いだされた NKT 細胞は、抗腫瘍免疫機構において重要な役割を果たしている。糖脂質である α -galactosyl ceramide (α -GalCer) が樹状細胞 (dendritic cell) の CD1d 分子上に提示されると、これが NKT 細胞のターゲット分子になり、その結果 NKT 細胞が活性化されることが明らかにされた¹⁶⁾。

α -GalCer はもともと海綿から抗腫瘍物質として単離された天然物質である。キリンビール医薬探索研究所創薬グループは、天然型 α -GalCer をモチーフとして合成した誘導体のうち、*in vivo* 抗腫瘍活性を指標にして合成型 α -GalCer (KRN 7000) を開発した。この KRN 7000 は、各種腫瘍モデルに対して高い抗腫瘍効果を発揮し¹⁷⁾、すでにオランダにおいて phase I clinical study が終了している¹⁸⁾。対象が進行症例であったため臨床効果は十分ではなかったが、副作用はほとんどなかった。癌種を限定するとともに、早期癌を対象にした治験成績に期待がかけられる。

4. 糖鎖合成阻害剤

Swainsonine は *N*-glycan の糖鎖伸長に参与する α -マンノシダーゼ II の阻害剤であるが、そのアナログを腎腫瘍の治療に応用する試みがある¹⁹⁾。セラミドからグルコシルセラミドへの合成経路を阻害す

る D-PDMP (1-phenyl-1-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol) は、ルイス肺癌の転移抑制効果や、メラノーマ細胞の細胞外マトリックス蛋白への接着抑制効果を持つが²⁰⁾、臨床レベルの検討には至っていない。

5. 糖鎖を利用した癌ワクチン

癌細胞は正常細胞には存在しないか、あるいは、きわめて微量しか存在しない糖鎖を発現することがあるので、これをワクチンとして応用する試みがある。このような癌特異糖鎖抗原には、大腸癌、肺癌、乳癌などに発現するムチン型糖鎖の Tn ならびに sialyl-Tn²¹⁾、メラノーマや神経芽細胞腫におけるガングリオシド GM 2, GD 2 と GD 3²²⁾、乳癌、卵巣癌、前立腺癌における globo-H²³⁾ などがある。

Memorial Sloan Kettering Cancer Center では、これら糖鎖抗原に keyhole limpet hemocyanin (KLH) を担体として結合させた複合体の臨床試験が行われている。一例をあげると、1995 年から 2000 年にかけて、卵巣癌と乳癌の進行症例 70 例について sialyl-Tn-KLH の臨床試験が行われ、重篤な副作用がなく、化学療法との併用で有用性を示唆する成績を得ている²⁴⁾。

近年における糖鎖生物学の進歩は、糖鎖が癌の発生進展に深く関与していることを明らかにするとともに、このような糖鎖の機能を利用した抗腫瘍薬の開発研究を加速させつつある。

糖鎖には多種多様の分子があり、それぞれが免疫系も含めた多様な過程で腫瘍の発生進展に関与している。したがって、糖鎖関連抗腫瘍薬には多彩な抗腫瘍作用機序が想定され、また副作用が軽微とされることから、有望な医薬品開発分野になると考えられる。市販に至ったものはまだ少ないが、phase III段階にあるものも数種あり、有用な糖鎖関連抗腫瘍薬が、今後相ついで開発されてくると期待される。

文 献

- 1) Hakomori S: Tumor malignancy defined by aberrant glycosylation and sphingo(glyco)lipid metabolism. *Cancer Res* 56: 5309-5318, 1996.
- 2) Fukuda M: Possible roles of tumor-associated carbohydrate antigens. *Cancer Res* 56: 2237-2244, 1996.
- 3) Service RF: After the fall. *Science* 291: 2340-2341, 2001.
- 4) 地池芳文, 千葉靖典: 糖鎖工学を利用した創薬技術. ポストゲノム時代の糖鎖生物学がわかる. (谷口直之・編), 羊土社, 東京, 2002, p 122.
- 5) Murata K, Miyoshi E, Kameyama M, Ishikawa O, Kabuto T et al.: Expression of N-acetylglucosaminyl transferase V in colorectal cancer correlates with metastasis and poor prognosis. *Clin Cancer Res* 6: 1772-1777, 2000.
- 6) Ito Y, Miyoshi E, Sakon M, Takeda T, Noda K et al.: Elevated expression of UDP-N-acetylglucosamine: α -mannoside β 1,6 N-acetyl-glucosaminyltransferase is an early event in hepatocarcinogenesis. *Int J Cancer* 91: 631-637, 2001.
- 7) Shimodaira K, Nakayama J, Nakamura N, Hasebe O, Katsuyama T: Carcinoma-associated expression of core 2 beta-1,6-N-acetylglucosaminyl-transferase gene in human colorectal cancer: role of O-glycans in tumor progression. *Cancer Res* 57: 5201-5206, 1997.
- 8) Tsuchida T, Saxton RE, Morton DL, Irie RF: Gangliosides of human melanoma. *J Natl Cancer Inst* 78: 45-54, 1987.
- 9) Hakomori S: Tumor-associated carbohydrate antigens defining tumor malignancy: basis for development of anti-cancer vaccines. *Adv Exp Med Biol* 491: 369-402, 2001.
- 10) Ohyama C, Tsuboi S, Fukuda M: Dual roles of sialyl Lewis X oligosaccharides in tumor metastasis and NK cell recognition. *EMBO J* 18: 1516-1525, 1999.
- 11) Fukuda MN, Ohyama C, Lowitz K, Matsuo O, Pasqualini R et al.: A peptide mimic of E-selectin ligand inhibits sialyl Lewis X-dependent lung colonization. *Cancer Res* 60: 450-456, 2000.
- 12) Dudas SP, Yunker CK, Sternberg LR, Byrd JC, Bresalier RS: Expression of human intestinal mucin is modulated by the beta-galactoside binding protein galectin-3 in colon cancer. *Gastroenterology* 123: 817-826, 2002.
- 13) Nangia-Makker P, Hogan V, Honjo Y, Baccarini S et al.: Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin. *J Natl Cancer Inst* 18: 1854-1862, 2002.
- 14) Baseiga J, Albanell J: Mechanism of action of anti-HER2 monoclonal antibodies. *Ann Oncol* 12: 35-41, 2001.
- 15) Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V: Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 344: 783-792, 2001.
- 16) Kawano T, Cui J, Koezuka Y, Toura I, Kaneko Y et al.: CD1d-restricted and TCR-mediated activation of valpha 14 NKT cells by glycosylceramides. *Science* 278: 1626-1629, 1997.
- 17) Nicol A, Nieda M, Koezuka Y, Porcelli S, Suzuki K et al.: Human invariant valpha 24+ natural killer T cells activated by alpha-galactosylceramide(KRN 7000) have cytotoxic anti-tumour activity through mechanisms distinct from T cells and natural killer cells. *Immunology* 99: 229-234, 2000.
- 18) Giaccone G, Punt CJ, Ando Y, Ruijter R, Nishi N et al.: A phase I study of the natural killer T-cell ligand alpha-galactosylceramide(KRN 7000) in patients with solid tumors. *Clin Cancer Res* 8: 3702-3709, 2002.
- 19) Granerus M, Engstrom W: The effects of glycosylation inhibitors on the proliferation of a Wilms tumour cell line. *Anticancer Res* 20: 689-692, 2000.
- 20) Inokuchi J, Momosaki K, Shimeno H, Nagamatsu A, Radin NS: Effects of D-threo-PDMP, an inhibitor of glucosylceramide synthetase, on expression of cell surface glycolipid antigen and binding to adhesive proteins by B16 melanoma cells. *J Cell Physiol* 141: 573-583, 1989.
- 21) Ragupathi G, Coltart DM, Williams LJ, Koide F, Kagan E et al.: On the power of chemical synthesis: immunological evaluation of models for multiantigenic carbohydrate-based cancer vaccines. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 13699-13704, 2002.
- 22) Ragupathi G, Livingston PO, Hood C, Gathuru J, Krown SE et al.: Consistent Antibody Response against Ganglioside GD2 Induced in Patients with Melanoma by a GD2 Lactone-Keyhole Limpet Hemocyanin Conjugate Vaccine plus Immunological Adjuvant QS-21. *Clin Cancer Res* 9: 5214-5220, 2003.
- 23) Wang ZG, Williams LJ, Zhang XF, Zatorski A, Kudryashov V et al.: Polyclonal antibodies from patients immunized with a globo H-keyhole limpet hemocyanin vaccine: isolation, quantification, and characterization of immune responses by using totally synthetic immobilized tumor antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 2719-2724, 2000.
- 24) Holmberg LA, Oparin DV, Gooley T, Sandmaier BM: The role of cancer vaccines following autologous stem cell rescue in breast and ovarian cancer patients: experience with the STn-KLH vaccine(Theratope(R)). *Clin Breast Cancer* 4: 144-512, 2003.