Imatinib の成功に学ぶ分子標的治療薬の現状と将来

山田 尚

要約：一つの薬の出現は疾患概念を基本的に塗り替えることがある。Imatinib は間違いなくそのような薬である。慢性骨髄性白血病患者の予後に、そして QOL の改善に大きく貢献したばかりではなく、慢性骨髄性白血病患者分子病理の解明にも寄与した。しかし、imatinib の成功は次なる課題を我々に突きつけた。真に、慢性骨髄性白血病患者は imatinib によって治療を得ることができるのかどうかである。Imatinib の成功の理由を振り返り、将来的問題に対して何ができるかを考えてみたい。

はじめに

Imatinib mesylate は分子標的治療薬のパラダイムとなった医薬品であり、すでに薬価収載されて3年近くが経過した。多くの先生方にとっては馴染みのない薬かもしれないが、imatinib には分子標的治療薬としての長い歴史があるので興味ある知見が蓄積している。それらの知見は慢性骨髄性白血病患者の治療に留まることなく、その病態解析にも大きく貢献している。これらを踏まえて imatinib の分子標的治療薬としての現状、および、これからの問題点を検討したいと思う。

1. CML の臨床と imatinib

1) CML の病期

慢性骨髄性白血病 (chronic myelogenous leukemia) (以下 CML) は一般に思い浮かぶ白血病のイメージからは懸け離れたところがある。CML は臨床的には3病期に分けることができる。はじめは慢性期と呼ばれる期間で、患者は特別な訴えもなく経過する。しかし、血液学的には白血球や血小板の増加が見られ、最近では健康診断等で偶然に発見されることが多い。教科書的には脾腫が挙げられるが、触診で脾臓を触れることのできるような患者は稀である。それだけ、早期に発見されることが多いといえる。最後の病期が急性転化

といわれる。この病期には急性白血病と同様に骨髄は白血病芽球で占められ、腫瘍細胞の増加、貧血、血小板の減少などの血液学的な所見に加えて、発熱などの症状が認められる。基本的に、この病期の CML に対して有効な治療法はない。慢性期から急性転化に移行する時期が移行期といわれる。

2) CML の診断

たまたま行われた血液検査で白血球の増加が見つかり CML が疑われる。この様な場合には骨髄穿刺検査が行われ、染色体検査で Philadelphia 染色体 (Ph) が認められれば診断は確定する。Ph は Nowell らによって初めて発見された白血病関連の染色体異常である (1)。当初、関与している染色体が 21 番か 22 番染色体かが不明確だったが、Rowley によって 9 番染色体と 22 番染色体の相互転座であることが示された (2)。さらに、1980 年代半ばまでに 9 番染色体の ABL と 22 番染色体の BCR とが融合遺伝子を形成していることが証明された (3)。

3) CML の分子病理

CML の病因は BCR-ABL 融合遺伝子によって規定される。この融合遺伝子からは様々なシグナルが発せられる (図 1)。MAPK 系や PI3K/AKT 系は増殖・分化や細胞死の調節に関与し、アクチン系は腫瘍細胞の接着や播種性に関与している。

血球の産生調節は造血幹細胞を頂点とする階層構造で成り立つ。幹細胞から次の段階までに分化が決定された前駆細胞へと進み、さらに各成熟血球へと分化する。BCR-ABL を正常幹細胞に遺伝子導入すると CML 様の病態を作り出すことができるが、前駆細胞まで分化が決定付けられた細胞ではそのような病態を作ることができない。すなわち、CML の成立には造血幹細胞としての性質の上に、BCR-ABL 由来の性質が付加されることが必要である (図 2)。この状態の細胞にさらに付加的な変異が蓄積すると急性転化を迎

キーワード：慢性骨髄性白血病，白血球幹細胞，薬剤耐性

東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 分子遺伝学研究室 (〒105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8)

E-mail: hyamad@jikei.ac.jp 原稿受領日：2008 年 8 月 1 日，依頼原稿

Title: Current state and the future of molecular target drugs: lessons learned from the success of imatinib.

Author: Hisashi Yamada

図1 BCR-ABL による情報伝達路

図2 BCR-ABL 白血病幹細胞

BCR-ABL 変異が造血幹細胞に導入されることにより、増殖優位性が付与され、各成熟血球の増加につながる。二次的な変異が、幹細胞もしくは前駆細胞に起こると分化が抑制され、芽球の増加（急性転化）につながる。

えることになる。このような付加的な異常は幹細胞および前駆細胞にも起こることが可能である。

4) CML 治療

CML の治療は造血幹細胞移植か interferon (IFN) 治療が標準であると記載されていた（第 15 版，2001 年のハリソン内科学書）。IFN 以前には busulfan や hydroxyurea が使われたが、いずれも予後を改善することはできなかった。IFN と IFN に cytarabine (Ara-C) を加えた比較試験では IFN+Ara-C がやや優れていた。日本での造血幹細胞移植の結果では慢性期で約 6 割の患者に治癒が期待できる。しかし、移植の場合には全ての患者に適応があるわけではないし、治療関連と考えられる早期死亡率がかなり高いことが大きな問題である。

このような状況の中で imatinib の開発がなされた。1980 年半ばから、当時の Ciba-Geigy でキナーゼ阻害薬のスクリーニングが行われ、PDGF 受容体に特異的な阻害薬が発見された。その後の改変で PDGF 受容

体と ABL に特異的な低分子化合物ができあがった。CML 細胞に対する *in vitro* の結果は非常に良好であり、臨床試験へと進んだ(4)。Phase 1 研究では 25 mg からスタートして 1000 mg まで増量されたが最大耐用量の決定には至らなかった(5)。これを受けて、1 日、400 mg の経口投与が前治療に反応のなかった CML や移行期から急性転化を起こした症例に Phase 2 研究として投与された。結果は極めて有効であることを示すものであった。さらに、診断時の初回治療法としての有効性が Phase 3 で研究された。International Randomized Study of Interferon and STI571 study (IRIS 研究) と呼ばれるもので、CML に対する初回治療法として、imatinib と前述の IFN+Ara-C 併用療法との間で比較検討するものであった(6, 7)。本研究の特徴はそれぞれのアームから他のアームに乗り換えることが認められている点であり、慢性期 CML を考慮して Primary endpoint が disease progression に設定されている点である。世界 16 カ国、177 の病院において約半年間で各アーム 553 症例が登録された。平均観察期間 19 カ月の時点で纏められた結果は衝撃的であった(6)。はじめに、IFN の群から imatinib 群に乗り換えられえた症例が約 60% にのぼり、逆に imatinib から IFN 群への乗り換えはほとんどなかった。乗り換えの原因として最も多いものは IFN 治療に耐えられないことや CML の進行が挙げられた。副作用の結果にも両群の性格が現れ、IFN 群では全身倦怠や、うつ状態そして血液学的なものが多数を占めたが、imatinib 群では重篤なものはほとんどなかった。治療結果であるが血液学的な寛解は imatinib では 95.3%、に対して IFN+Ara-C では 55.5% であった。また、細胞遺伝学的な寛解は imatinib では 85.2% に対して IFN では 22.1% にとどまった。特筆すべきは IFN 群からの乗換えでも同様に良好な結果が得られている点である。全体として、予想される細胞遺伝学的な寛解は 12 カ月の時点で、imatinib が 84.4% であり、IFN が 30.3% であった。この研究はその後の 5 年間の経過観察の結果が報告された(7)。細胞遺伝学的寛解が 12 カ月以内の早期に得られた群では 97% の患者で病気の進行が見られないことが判明した。また、生存率では 89% であり、過去の結果で得られている IFN+Ara-C での 5 年生存率 68% から 70% をはるかに凌駕していた（図 3）。副作用の出現も、投与開始後早期に見られることが多く、投与 2 年目以降での副作用の出現は大きく減少した。現在、これらの結果を踏まえて imatinib は CML の初回第一選択薬として広く認められるに至った。

2. Imatinib の成功の鍵

Imatinib の成功には対象とした疾患、そして標的と

した分子の特異性が果たす役割が大きい。CML ははじめに示したように極めて単一の病因による疾患である。約 90% の患者は BCR-ABL によって引き起こされ、長期にわたる慢性期を経て急性転化し死にいたる疾患である。慢性期から急性転化への過程では分子遺伝学的にいくつもの変異の蓄積が必要である。変異に伴う増殖シグナルの多様化はそれ自体が imatinib 薬剤感受性の低下につながる。逆に、慢性期では BCR-ABL 融合遺伝子に対する増殖依存性が極めて強いことを意味する。分子標的治療薬について考えるときには細胞増殖が特定の遺伝子変異に強く依存している、いわゆる oncogene addiction の強い疾患を標的にすることが重要であることがわかる。臨床的にも急性転化後の CML 治療に対して imatinib の効果が極めて限定的なことはこれらの説に一致するものである。

標的となる分子について考えると、キナーゼのうちでもチロシンキナーゼは情報伝達の上流に位置していることが多い。このことは各キナーゼの働きが刺激に対して特異性が高いことを示している。たとえば MAPK のように様々な刺激に対して反応するような刺激伝達系の中核を担うキナーゼの場合、それを抑制することは様々な生物学的な反応、とりまなおさず予期せぬ副作用に結びつく可能性がある。imatinib の特徴の一つが薬剤としての安全性の高さであるがこの点が影響しているのであろう。

3. Imatinib 治療の問題点

1) Imatinib 耐性

他の多くの抗腫瘍薬で観察されるように imatinib に対する耐性も治療上大きな問題である。耐性獲得の機構にはいくつかの特徴が見られる。培養細胞株の実験では、BCR-ABL の過剰発現や増幅が認められたが、臨床検体ではキナーゼ活性領域を中心とした点突然変

異による耐性獲得が大多数である。キナーゼ領域に出現する点突然変異は既に約 60 種類に及ぶものが報告されている。このうちでも、Thr315Ile が最も多く全体の約 60% を占めている。また、この変異は imatinib 耐性の度合いが強く、臨床にきわめて問題となっている(8)。突然変異はその変異の出現時期も問題である。通常、後期慢性期や移行期では変異の出現頻度が高いことが知られているが、最近の研究では imatinib 投与以前にすでに耐性細胞が存在している症例が発見されている(9)。このことは、耐性を惹起する点突然変異が単純に薬剤選択の結果生じてきたものではなく、BCR-ABL 由来の腫瘍細胞としての細胞生物学的性質に強く関連していることを示唆している。Koptyra らは、BCR-ABL 陽性細胞は reactive oxygen species (ROS) の産生が高く、そのために酸化ストレスに伴う DNA 障害を起し易いためだと指摘している(10)。彼らはマウスの IL-3 依存細胞に BCR-ABL を導入して、その後、2 週間を経過した early と 10 週間を経過した late の細胞群に対して、ROS の産生、酸化ストレスの度合い、そして耐性の出現を検討した。後期の細胞では ROS の産生が極めて高く、また、この細胞では IL-3 非依存性が獲得されているので IL-3 非存在下での ROS の産生亢進が判明した。また、酸化ストレスによる 8-oxo-deoxyguanosin (8-oxoG) の取り込みも増えていた。このような細胞では imatinib に対する耐性株の出現率が亢進していた。このような状況を整理すると、BCR-ABL 自身に存在する内在性酸化ストレスの増大の結果、変異が高率に誘導され、その結果として既に慢性期の発症までに、imatinib 耐性につながるような白血病細胞が患者体内中に準備されていると考えられる。

耐性細胞出現への対策として最も考えられることは、耐性細胞に対しても有効な化合物の開発である。現在、数種類の薬が臨床試験中であるが、既に 2 つの薬剤が FDA の認可を受けて、imatinib 耐性の CML に対して使用可能である。Nilotinib は Novartis から発売されている薬で、imatinib の骨格を持ち、性質もよく似ている。Dasatinib は Bristol-Myers Squibb から出された薬で imatinib と比べいくつかの点で違いが見られる。大きな違いは、dasatinib は ABL 非活性型および活性型の両状態の BCR-ABL に結合できる点である。残念ながら両薬剤とも T315I 変異に対しては無効である。

4. CML は imatinib で治癒するか？

2007 年フランスのグループによって興味ある研究が発表された(11)。BCR-ABL 融合遺伝子が PCR レベルでも認められない状況を分子レベルでの寛解というが、そのような状態になってから 2 年間以上 ima-

図3 IRIS 研究における 5 年生存率 (文献 7 より一部改変)
Imatinib 治療を受けた患者の全死亡に対する 5 年生存率は 89%、CML に起因しない死亡や移植に関連した死亡を除いた (CML に起因した) 5 年生存率は 95% であった。40 歳未満での同種造血幹細胞移植例における生存率を参考に加えてある (日本造血幹細胞移植学会平成 19 年度全国調査報告書より)。

tinib を投与し、その後に imatinib を中止した症例における再発を検討した。12 症例を検討し、6 例で imatinib 中止後 1 から 5 ヶ月で BCR-ABL 陽性細胞が再出現していることが判明した。そのうち 2 例では imatinib 再投与後に再び BCR-ABL の消失が確認されている。さらに、BCR-ABL 陽性細胞が imatinib にどのように反応していくかが数学的に検討された(12)。Imatinib 投与に伴い、BCR-ABL は二相性に減少することが判明した(図 4)。初期の減少は急激であり、その後、緩やかな減少へと移行していた。先ほどの例でも示されるように、imatinib の投与中止に伴い、BCR-ABL の再増加が見られる例も存在した。

このような現象を説明するモデルとして白血病幹細胞の存在がある。Imatinib 投与初期に認められる急激な減少は BCR-ABL 陽性増殖細胞や成熟細胞の減少に伴う現象であり、その後の緩やかな減少は白血病幹細胞の影響と考えられる。成人造血幹細胞は骨髄においてニッチと呼ばれる微小環境の中で自己複製と増殖の平衡を維持している。このような幹細胞は通常細胞周期の休止期にあり活発な分裂は起こしていない。また、造血幹細胞では薬剤排出に関連する ATP-binding cassette transporter 遺伝子の発現が高く、抗腫瘍薬の細胞内濃度の維持が難しいことが知られている。臨床的に PCR を用いて成人の白血病細胞を検出する限界は 1×10^6 /個体といわれている。すなわち、患者の体の中に百万個の白血病細胞が残存していても分子生物学的完全寛解となるわけである。盛んに分裂している細胞は速やかに排除できても、白血病幹細胞といわれる腫瘍細胞の排除が非常に困難な理由である。当然の結果として imatinib をいつまで継続するかが問題である。幸いなことに、imatinib による副作用は投与開始の早

期に現れ、長期間投与が可能な場合には副作用の問題はほとんど報告されない。現状では、投与を継続せざるを得ない状況である。

5. 将来的取り組み

CML 腫瘍細胞に内在する性質から imatinib に対する薬剤耐性細胞の出現が避けられないこと、また、BCR-ABL 陽性白血病幹細胞を根絶することが極めて難しいことがわかる。このような耐性細胞および休止期の腫瘍細胞をいかに排除するかが今後のもっとも大きな課題である。

耐性細胞に対しては感受性を保持した新たな低分子化合物の開発が必要なことは明らかである。しかし、新規の化合物で有力なものが発見されたとしても、新たな耐性や白血病幹細胞に対する問題は残る。これらの問題を解決するには投与方法等の工夫が必要となる。従来から、化学療法は多剤併用を基礎として成果を挙げてきた。imatinib との併用薬剤が従来型の DNA 損傷型抗腫瘍薬であるか、他のカテゴリーに属する分子標的治療薬であるかは断定できない。しかし、いくつかの研究が併用の優位性を示している。とりわけ、白血病幹細胞が問題となるような場合にはクロマチンリモデリングを修飾するような分子標的治療薬と併用が有望ではないかと考えている(13)。ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬はクロマチンリモデリングを介して、様々な遺伝子発現変化を誘導する。標的となる遺伝子には細胞周期に関連した遺伝子、分化、細胞接着に関連した遺伝子等が含まれるので、これらの薬剤を初期から併用することで白血病幹細胞クローンを消滅できるのではないかと考えている。また、従来からの治療薬としては IFN が有用ではないかと考える。率は低い IFN により治療に到る症例は知られている。さらに、造血幹細胞移植を行う時期も新たな問題として提起される。慢性期 CML の第一選択薬としての imatinib に現状では問題はない。しかし、治療を獲得するためにどのような治療法が最適かは医療に関係するものに、等しく求められている大きな課題である。

文 献

- 1) Nowell PC, et al. Science. 1960;132:1497-1499.
- 2) Rowley JD. Nature. 1973;243:290-293.
- 3) Groffen J, et al. Cell. 1984;36(1):93-99.
- 4) Druker BJ, et al. Nat Med. 1996;2(5):561-566.
- 5) Druker BJ, et al. N Engl J Med. 2001;344(14):1031-1037.
- 6) O'Brien SG, et al. N Engl J Med. 2003;348(11):994-1004.
- 7) Druker BJ, et al. N Engl J Med. 2006;355(23):2408-2417.
- 8) Kantarjian HM, et al. Ann Intern Med. 2006;145(12):913-923.
- 9) Roche-Lestienne C, et al. Blood. 2002;100(3):1014-1018.
- 10) Koptyra M, et al. Blood. 2006;108(1):319-327.
- 11) Rousselot P, et al. Blood. 2007;109(1):58-60.
- 12) Michor F, et al. Nature. 2005;435(7046):1267-1270.
- 13) Kawano T, et al. Anticancer Res. 2004;24(5A):2705-2712.

図 4 BCR-ABL 陽性細胞の動態と再出現

Imatinib の投与に伴い、BCR-ABL 陽性細胞は急激に低下する。これは分化した細胞のアポトーシスを反映している(1st Phase)。しかし、その後の BCR-ABL 陽性細胞の減少は緩やかとなる(2nd Phase)。これは幹細胞および前駆細胞の感受性の低さと緩やかな再生が反映されている。PCR での検出感度以下であっても BCR-ABL 白血病幹細胞は生存しており、imatinib の休薬に伴い腫瘍細胞の再出現が起こる。