【解説】

幹細胞創薬

低分子による機能制御の可能性

市村通朗，宮地宏昌

近年，再生医療分野の進展は目覚ましく，なかでも胚性幹細胞（ES 細胞）による治療を目指した研究に大きな期待が寄せられている。一方，さまざまな組織に成体（体性）幹細胞が存在することがこの 10 年間で明らかとなり，従来の概念が覆された感がある。これら内在性の成体幹細胞の増殖，分化をコントロールすることで，障害された組織や器官を再生しようと多くの試みがなされている。そのうち薬剤，それもタンパク質性の因子ではなく，低分子によりその実現を目指す創薬研究（幹細胞創薬）について，その現状を解説し，将来を展望したい。

幹細胞とは，自己複製能（自分自身を複製する能力）と多分化能（機能をもつ多種類の組織細胞へ分化する能力）を有する細胞であり，受精卵から発生した内部細胞塊由来の胚性幹細胞（embryonic stem cell, ES 細胞）についてはよく知られている。近年，この胚性幹細胞の他に，我々ヒトの組織・臓器に組織特異的な成体幹細胞（体性幹細胞とも呼ばれる）が存在し，それぞれの組織の修復や恒常性の維持に寄与していることがわかってきた。たとえば，骨髄には最も研究が進んでいる造血幹細胞

のほか，骨，軟骨，腱，脂肪，筋肉などへの分化能力を有する間葉系幹細胞⁽¹⁾，未分化な ES 細胞に匹敵する多分化能を有する多能性体性前駆細胞（multipotent adult progenitor cells, MAPCs）⁽²⁾などの存在が報告されている。

再生医療において細胞そのものを用いる細胞治療については，我が国でも培養表皮や培養軟骨などの臨床治験が行なわれている。今後が期待されるアプローチではあるが，GMP 基準（Good Manufacturing Practice；医薬品の製造および品質管理に関する基準）を遵守した細胞処理センター（cell processing center）の設置が必要など，一般的な医療機関での臨床応用という観点から課題がある。一方，低分子薬剤により幹細胞の分化や増殖などの機能を制御することができれば，細胞治療においてより少量の幹細胞を有効に活用できると考えられる。さらに，内科的な治療法が可能となり特殊な設備が不要になる可能性もある⁽³⁾。ここでは，このような低分子による幹細胞あるいは前駆細胞の機能制御の試みについて，最近の知見を紹介したい。また最近，血液癌のみならず固形癌にもその存在が報告された癌幹細胞の治療標的としての可能性についても触れてみたい。

なお，“幹細胞”と“前駆細胞”を生物学的に厳密に定義し区別することは現状では難しいことから，本解説で

Stem Cell-Based Drug Discovery, Possibility of Functional Control via Low Molecular Weight Compounds
Michio ICHIMURA, Hiromasa MIYAJI, 協和発酵バイオフロンティア研究所

用語解説

分化転換 (transdifferentiation): 組織特異的な幹細胞が他の組織の幹細胞の性質に変化し、その後、その組織の機能性細胞（機能を発現する細胞）に分化する現象をいう。

幹細胞 (stem cell)/前駆細胞 (progenitor または precursor cell): 幹細胞とは、自己複製により自己とまったく同じ性質を有する細胞を生み出す能力

(自己複製能) と、1種類以上の機能性細胞に分化する能力(多分化能)を有する前駆細胞(ならびに機能性細胞)に分化する能力をもつ細胞のことをいう。前駆細胞は、幹細胞が機能性細胞に分化していく過程の、成熟機能性細胞の前段階にある細胞である。通常、幹細胞と比較して限られた分裂能力と、分化能しか有していない。幹細胞に真に特異的なマーカーは見いだされておらず、幹細胞と前駆細胞を明確に区別することはきわめて困難である。

は総称して幹細胞と記述し、細胞の性質から明確に区別できる、あるいは区別すべき場合は前駆細胞という用語を使用する。

神経再生およびそれに関わる低分子化合物

19世紀末からつい最近まで、約100年にわたって、「成体脳では神経系の細胞は最終分化を終えており、ニューロン再生は起こらない」と考えられてきた。しかし、ここ10年ほどの研究から、マウス、サルなどの成体脳の脳室下帯(subventricular zone, SVZ)および海馬歯状回(dentate gyrus, DG)に、自己複製能とニューロンやグリア細胞(アストロサイトおよびオリゴデンドロサイト)への分化能の両方を有する神経幹細胞(neural stem cell, NSC)の存在が明らかになってきた(図1-A)⁽⁴⁾。さらにヒトでも、抗癌剤プロモデオキシウリジン(BrdU)を投与した癌患者の剖検例から、成人脳内のSVZおよび海馬DGでニューロン新生が起こることが示された⁽⁵⁾。特に海馬新生ニューロンは、記憶や学習な

ど成人の脳の可塑性に重要な役割を果たしていることもわかってきた⁽⁶⁾。

1. 脳の疾患と神経再生

成体NSCの存在が明らかになってきたことから、アルツハイマー病(Alzheimer's disease)、パーキンソン病(Parkinson's disease)、ハンチントン病(Huntington's disease)といった神経変性疾患を神経再生との関連で捉える仮説が提唱された⁽⁷⁾。これらの疾患では、何らかの原因でその鍵となるニューロンが変性・脱落(細胞死)していく。生体はそれを補償しようとして神経再生を誘起し、変性と再生が一種の動的平衡状態にあると考えられる(図1-B)。たとえば、加齢に伴い神経再生能が低下し、失われたニューロンを補充できなくなり、この平衡状態が破綻した結果が神経変性疾患であるという考え方である。実際、患者の死後脳についての剖検から、アルツハイマー病患者においては海馬DG領域で、またハンチントン病患者ではSVZ領域で神経幹細胞(NSC)が増殖しニューロン分化が見られるとの報告がある⁽⁴⁾(パーキンソン病については未だ確定的な証拠はない)。これより成人に存在するNSCの増殖・分化を促進する方向を強化すれば、神経変性疾患の発症を遅らせることが可能であるし、さらには根本治療も視野に入ってくる。同様な神経再生が脳虚血時のニューロン死の際にも起こることが報告されており⁽⁹⁾、より広い意味での神経変性への治療薬を目指した創薬という観点で非常に勇気づけられる。

また、うつ病や統合失調症といった精神疾患においても神経新生が関与しているとの知見も出てきた⁽⁴⁾。特に、抗うつ薬として最も汎用されている、選択的セロトニン再取り込み阻害剤(SSRI)である fluoxetine (prozac) が、海馬DGでのNSCの数を増やす活性を有することが見いだされた⁽⁸⁾。最近のイメージング研究で、うつ病患者の前頭前野や海馬で萎縮が見られるとの報告もあり、SSRIの作用メカニズムとして神経新生が関与している可能性がある。また、SSRIの実際の薬効発現に

図1 ■ 成体ラット脳における各部位と神経幹細胞の存在する領域 (A)

LV: 側脳室, DG: 海馬歯状回, SVZ: 脳室下帯, Str: 線条体, CA1: 海馬CA1領域, (B): 神経再生と神経変性の動的平衡仮説

は服用開始後3~4週間を要することから、その作用が単にセロトニンの神経伝達のみならず、何らかの可塑的变化を伴っていることもその可能性を支持している。このように、精神疾患治療薬のターゲットとしての神経再生も興味深い。

2. 神経再生あるいは新生の動物レベルでの知見

中福らは神経再生に関する画期的な実験結果を報告している⁽⁹⁾。すなわち、ラットの一過性全脳虚血モデル（海馬CA1領域が選択的に変性・脱落する）において、虚血後2~5日間にタンパク質性増殖因子EGF (epidermal growth factor), FGF-2 (fibroblast growth factor)（これらはNSCの生存維持・増殖作用を有する）をミニポンプで側脳室（lateral ventricle, LV）に連続注入した。この状態でもその後海馬CA1領域のニューロンが失われた。しかし、1ヵ月後にはCA1領域に神経新生が見られ、その数は対照群の40%まで回復したという驚異的な結果である。質的にも（電気生理学的、行動学的）回復が見られたことから、新生ニューロンが障害を受けた部分でその神経回路に組み込まれ、機能的に神経再生が起こったことになる。

またGoldmanらは、SVZ領域のNSCからの神経新生について非常に興味深い研究を行なっている⁽¹⁰⁾。すなわち、成体ラットのLVへアデノウイルスベクターに組み込んだBDNF (brain-derived neurotrophic factor) および、NSCからの分化制御に関わるnoggin遺伝子を注入したところ、LVに近接した線条体で顕著なニューロン新生が確認され、それらは少なくとも2ヵ月生存し、かつmedium spiny neuron (MSN: 線条体の約

90%を占めるGABA (γ -アミノ酪酸) ニューロン) へと成熟していた。さらに興味深いのは、新生MSNが本来の投射先である淡蒼球へと軸索を伸ばしていたことである（淡蒼球部分へのFluo Gold注入による逆軸輸送で新生MSNがラベルされた）。上記遺伝子導入7週間後で新生MSNの70%が淡蒼球へ投射していると推定されている。この投射が実際に神経伝達という機能を果たしているのか否かについては、電気生理学的な解析データがなく不明であるが、充分機能している可能性はある。

このニューロンの新生はBDNF単独の導入・発現ではそれほど顕著ではなく、nogginを同時に発現させたときに非常によく起こった。これは、NSCからのグリアへの分化を促進するはたらきをもつBMP (bone morphogenetic protein) の活性をnogginが阻害し（nogginはBMPアンタゴニストタンパク質）、BDNFに反応しうるNSCのプールを増やしていることによると考えられる。環境さえ整えば成体においても線条体ニューロンが再生しうることを示したと言えよう。

3. ソニックヘッジホッグのアゴニスト

哺乳類において、ヘッジホッグタンパク質(Hh)は発生期の細胞の増殖・分化や器官形成過程で非常に重要な役割を演じている分子である。現在3種類のアイソホーム、すなわちソニック(Shh)、インディアン(Ihh)、デザート(Dhh)が知られている。そのうちShhは、脳において重要な役割を担っている。たとえばLaiらは、Shhが成体ラット海馬由来NSCの増殖を促進することを報告している(*in vitro*)⁽¹¹⁾。また、アデノウイルスベ

図2 ■ ヘッジホッグのシグナル伝達機構と各リガンド、阻害剤の作用点

クターによって *Shh* cDNA を成体ラット海馬 DG へ導入し *Shh* を高発現させたところ、その部分での NSC の増殖が約 3.3 倍に促進されたという (*in vivo*)。これは、成体海馬 DG において内在性 *Shh* が NSC の増殖に関与していることを示唆している。

Hh は、標的細胞上に互いに近傍に存在する膜タンパク質である、Patched (Ptc) と Smoothed (Smo) を介して作用する (図 2)。前者は 12 回膜貫通型、後者は G タンパク質共役 7 回膜貫通型受容体 (GPCR) 様構造を有し、Hh 非存在下では Ptc が Smo の機能を抑制している。この状況下でリガンドである Hh が Ptc に結合すると Ptc による抑制が解除され、Smo はシグナルを流し、最終的には転写因子 Gli の活性修飾により核内で標的遺伝子発現を促す (図 2)。

Curis 社の研究陣はこのシグナル伝達の知見をもとに、Gli 結合配列の下流にルシフェラーゼを連結したベクターを導入したレポーター細胞を構築し、約 14 万化合物の合成化合物ライブラリーをスクリーニングした。その結果、Hh アゴニスト活性を示す非ペプチド性低分子 Hh-Ag 1.1 を見いだした⁽¹²⁾。この 1.1 はレポーター系で EC_{50} 値 $3 \mu M$ であったが、誘導体合成により EC_{50}

値が 30~40 nM の Hh-Ag 1.2 (1) (図 3) を得た。また、構造は未開示だが Hh タンパク質そのものよりも低濃度 (1 nM) でアゴニスト作用を示す Hh-Ag 1.5 も見いだした。

本レポーター系において、1 は Hh 中和抗体の影響を受けなかった。また Smo 選択的阻害剤 cyclopamine (2) によって 1 のアゴニスト活性は阻害された。すなわち、1 は Hh アゴニスト非依存的であり、かつ Smo 依存的にアゴニスト活性を発現している (図 2)。さらにノックアウトマウスを用いて以下のような検証をしている。*Shh*⁻/*Shh*⁻, *Smo*⁻/*Smo*⁻ それぞれのホモ接合胎児においては、神経管の発生過程における形態異常が観察される。これらホモ接合胎児の妊娠マウスに 1 を投与したところ、*Shh*⁻/*Shh*⁻ 胎児の形態異常は抑制された。一方、*Smo*⁻/*Smo*⁻ 胎児の形態異常は抑制されなかった。このことは、1 が *Shh* の活性を代替できることを示している。この低分子による *Shh* のアゴニスト作用は、Smo が GPCR 様タンパク質であることから、低分子の標的としては理にかなっていると言えよう。もちろん GPCR でもアゴニストを見いだすのはなかなか困難である。

既述のように、*Shh* が成体 NSC の増殖を促すことか

図 3 ■ 幹細胞の機能を制御する化合物とその構造

ら、Curis社とその共同研究グループは、見いだした Shh アゴニスト Hh-Ag (どの化合物を使用したかは不明) を 8 週齢の成体マウスに 20 mg/kg, 3 日間連続で経口投与した。投与後、BrdU を腹腔内投与して分裂細胞をラベルし (BrdU は複製した DNA に取り込まれる) 脳切片を作製し BrdU⁺ 細胞を免疫染色した。その結果、対照群に比較し Hh-Ag 投与群においては、SVZ および DG の両領域において BrdU⁺ 細胞、すなわち NSC 数が有意に増加していた。また、両領域において、Shh よりその発現が亢進する転写因子 Gli1 の mRNA 量が Hh-Ag 投与群において上昇していることが RT-PCR により判明した。これらの結果は、Hh-Ag が NSC の Shh シグナルを活性化し、その結果それら細胞が分裂・増殖したことを示している⁽¹³⁾。今後、疾患モデルでの薬理活性の結果が待たれる。

膵β細胞の再生に関わる低分子化合物

1 型糖尿病 (インスリン依存型; 15 歳以下での発症が多い) の治療には膵臓ランゲルハンス島 (膵島) 移植が根治療法として期待されているが、ドナー不足が大きな課題であり、インスリンを分泌する膵 (島) β 細胞を対象とする再生医療が注目されている。また 2 型糖尿病 (インスリン非依存型; 成人糖尿病の大半) でも、β 細胞への分化促進による β 細胞量の増加がインスリン分泌を回復させ、病態の改善に寄与するものと期待される。

生体内には膵β細胞に分化しうる幹細胞が存在し、それらの膵β細胞への分化・新生を促進するタンパク質性因子として、BTC (betacellulin), HGF (hepatocyte growth factor), Act (activin) などが知られている⁽¹⁴⁾。ラット膵由来腫瘍細胞 AR42J 細胞は膵前駆細胞の性質を有しており、BTC+Act A あるいは HGF+Act A 処理により、インスリンを産生する細胞に分化する⁽¹⁵⁾。小島、梅澤らの研究グループは、AR42J 細胞の形態変化を指標に、膵β細胞への分化、新生を誘導する Act A 様の活性を有する低分子を探索し、conophylline (CnP) (3) を見いだした (図 3)⁽¹⁶⁾。3 は、タイやマレーシアを原産とする植物 (*Ervatamia microphylla*) の葉から抽出されたビンカアルカロイドの一種で、以前 ras を過剰発現させた細胞株 K-ras-NIH3T3 の形態を正常化させる化合物として見いだされていた⁽¹⁷⁾。

AR42J 細胞を CnP + HGF で処理すると、ActA + HGF 処理と同レベルのインスリン mRNA の誘導発現が認められ、また CnP+HGF 処理細胞の 20% 程度がインスリン陽性細胞に分化した。CnP+HGF は neuro-

genin 3, neuroD/Beta 2, Nkx 2.2 mRNA (前駆細胞から β 細胞への分化の過程で重要な転写因子) の発現を誘導した。3 は ActA と同様、p38 MAP キナーゼを活性化した。p38 阻害剤 (SB203580) は 3 による形態変化を完全に抑制し、インスリン産生も部分的に阻害された。以上の事実から、p38 MAP キナーゼが 3 によるインスリン産生細胞への分化に関与していることがわかった⁽¹⁶⁾。

3 の 2 型糖尿病における有用性を検証するため、ラット新生仔のストレプトゾトシン (STZ) 誘発糖尿病モデルを用いた評価が行なわれた⁽¹⁸⁾。3 の 5 μg/g を 1, 3, 5, 7 日に STZ 誘発糖尿病ラットに皮下投与し、対照群と血漿グルコース濃度を比較したところ、有意な低下が認められた。腹腔内投与によるグルコース負荷試験では、血漿グルコース応答の有意な改善が認められた。また、3 の投与により、インスリン含量、β 細胞量、転写因子 PDX-1 陽性導管細胞数および膵島様細胞塊 (islet-like cell cluster) 数の有意な増加が観察された。以上より、3 は内在性の前駆細胞の β 細胞への分化を誘導することで β 細胞数を増加させることが示唆された。

ケミカルバイオロジーを駆使したアプローチ

幹細胞の機能に関わるメカニズムやシグナル伝達系の解明を目指して、いわゆるケミカルバイオロジー、ケミカルジェネティックスといった手法⁽¹⁹⁾ (低分子有機化合物を使って細胞機能や特定のタンパク質機能を修飾し、そのレスポンスを指標に生命現象を解明する) を駆使したアプローチが Schultz らを中心とした研究グループで展開されている⁽²⁰⁾。実際には、まず合成化合物ライブラリーを対象として、各種の成体幹細胞、前駆細胞、ES 細胞あるいは器官の表現型を指標に、活性を有する化合物を見だし、次に、ゲノムワイドな遺伝子発現解析、アフィニティークロマトグラフィー、siRNA (small interfering RNA) などの技術により、これら化合物の標的分子探索や作用機序の解析を進めるといふ、フォワードケミカルジェネティックスが主体である。

1. ES 細胞の分化を誘導する低分子化合物

ラット心房性ナトリウム利尿ペプチドの転写制御領域にルシフェラーゼ遺伝子を連結したレポータープラスミドを導入したマウス胚性腫瘍由来 P19 細胞株を用いて、レポーター活性の誘導を指標に、心筋への分化を誘導する化合物を探索し、ジアミノピリミジン化合物 (cardiogenol A~D) を見いだした⁽²¹⁾。最も強い活性を示した cardiogenol C (4) (図 3) は、マウス ES 細胞を拍動する

心筋細胞に分化誘導した。また、免疫組織染色により心筋のマーカーである転写因子 (GATA-4, MEF2, Nkx 2.5) の発現も確認された。4 の作用機序および標的分子については明らかではない。

2. ニューロン分化を促進する低分子化合物

神経幹細胞の運命を決定する分子機構については、まだあまりよくわかっていないのが現状である。Ding らは Gage らと共同で、成体ラット海馬由来の神経前駆細胞 (neural progenitor cell, NPC) を使った cell-based assay 系*でニューロン分化を促進する低分子化合物 neuropathiazol (5) を見いだした (図 3)⁽²²⁾。5 は NPC の 90% 以上をニューロンへと分化させた (*in vitro*)。これほど高率に NPC をニューロンへ分化させる低分子化合物の報告は他にない。

5 はアストロサイトのマーカーである GFAP (glial fibrillary acidic protein) の陽性細胞への分化はほとんど誘導せず、NPC のニューロン系列への分化誘導に特異的である。また、5 の処理により、成熟したニューロンまで分化することもわかった。興味深いことに、LIF (leukemia inhibitory factor) および BMP-2 により誘導されるアストロサイトへの分化は、5 の処理により抑制された。いわゆる分化誘導活性を有するレチノイン酸 (RA) も同様にニューロン分化促進活性を示すが、その選択性が低く、また LIF と BMP-2 により誘導されるアストロサイトへの分化を抑制しないことから、RA と 5 の作用点は異なると推測される⁽²²⁾。

3. 成体組織細胞の脱分化を誘導する低分子化合物

分化した組織細胞を脱分化させた後に必要な細胞に再分化させることができれば、組織に極少量しか存在せず分離・同定が困難な幹細胞を扱う場合と比較し、必要量の細胞を調製して治療に用いる際に有利である。このようなアイデアのもと、筋管細胞に分化させたマウス C2C12 を、再度筋芽細胞に変化させる化合物として Schultz らは myoseverin を見いだした。しかし、myoseverin の作用は多能性の前駆細胞への脱分化によるものでなく、微小管に結合して構造を破壊し、細胞骨格を再構築することによるものであった⁽²³⁾。

そこで、筋芽細胞を多分化能を有する細胞へ真に脱分化させる化合物を見いだすため、C2C12 細胞を化合物処理した後、化合物を除去し骨分化条件で培養するという

2 段階のアッセイ法が考案された。その結果、そのような活性を有する化合物として 2,6-ジ置換プリン類の reversine (6) が見いだされた (図 3)⁽²⁴⁾。すなわち、C2C12 細胞を 6 で処理した後、化合物を除き、脂肪および骨芽細胞への分化条件で培養したところ、それぞれ脂肪細胞、骨芽細胞への分化が認められた。一方、C2C12 細胞を 6 で処理しない条件ではこのような分化が見られないことより、6 は筋芽細胞を多能性の幹細胞 (間葉系前駆細胞) へ脱分化させる活性を有することが示された。

このように 6 は非常に興味深い化合物ではあるが、その作用機序や標的分子については明らかでない。また、6 の脱分化活性に対して疑問を呈する報告もあることから⁽²⁵⁾、本化合物の活性に関してはさらなる検証が必要である。

4. 骨への分化を誘導する低分子化合物

外傷による骨損傷や腫瘍の切除に伴う骨欠損、歯周病に伴う歯槽骨の欠損などは、再生医療による治療が期待される重要な領域である。間葉系前駆細胞から骨芽細胞への分化を誘導する化合物を、骨芽細胞のマーカーであるアルカリホスファターゼ (alkaline phosphatase, ALP) の発現誘導を指標にしてアッセイした。マウス胎児中胚葉由来線維芽細胞 C3H10T1/2 (多能性を有する間葉系前駆細胞) を用い、2,6,9-トリ置換プリン類の purmorphamine (7) を見いだした (図 3)⁽²⁶⁾。7 は C3H10T1/2 細胞に対して ALP の発現誘導のみならず、骨細胞への形態変化、骨芽細胞への分化に重要な転写因子 Cbfa1/Runx2 の発現誘導を惹起し、骨芽細胞系列へ分化させた。さらに 7 は、マウス骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 の最終分化を促進し、マウス脂肪前駆細胞 3T3-L1 および前出の C2C12 に対しては BMP-4 と併用することで骨芽細胞系列への分化転換 (transdifferentiation) を誘導した。

7 の作用機序を探るためマイクロアレイ (GeneChip, Affymetrix) による解析が行なわれた⁽²⁷⁾。C3H10T1/2 細胞に化合物 7、BMP-4 および DMSO (対照) を添加し、経時的にマイクロアレイ解析を行なった。BMP-4 と 7 の遺伝子発現パターンには明らかな相違が認められたことから、7 と BMP のシグナル伝達経路は異なることがわかった。そこで、遺伝子発現データ解析により、7 の処理で特異的に発現が誘導される 29 遺伝子よりなるクラスターを抽出しパスウェイ解析を行なったところ、ヘッジホッグ (hedgehog; Hh) シグナル伝達経路が最も高いスコアを示した。

実際、前出のソニックヘッジホッグのアゴニストの項

*成体ラット海馬由来 NPC のニューロンへの分化を、ニューロンマーカー β III チューブリン (TuJ1) に対する蛍光抗体染色により直接検出する系

で記述した解析で用いたのと同様なレポーター系において、7はルシフェラーゼの誘導発現活性を示した。また、7はSmoに結合するHhアゴニストとしてその活性を発現していることも示された⁽²⁸⁾ (図2)。前出のShhアゴニスト1が7と同様な骨への分化促進活性があるのか、また逆に7が神経幹細胞の増殖促進活性を有するのか、といった点について、化合物の特異性という観点から興味をもたれるが、今のところ報告はない。

最近、7は*in vitro*でヒト骨髓由来間葉系細胞からの骨形成を促進すること、インプラントの素材であるチタン上で培養した場合も同様の骨形成促進効果を有することが報告され⁽²⁹⁾、骨疾患分野におけるヒトへの臨床応用の可能性が期待される。

造血幹細胞の動員 (局在性の制御)

AIDSの原因ウイルスHIVに対する抗ウイルス薬として、bicyclam [cyclam (1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane) が2つ連結した構造]、AMD3100 (AnorMED社) (8) は見いだされた (図3)⁽³⁰⁾。HIVは宿主T細胞に侵入する際に、T細胞上に発現する表面抗原CD4を受容体として認識するが、そのco-receptorとしてケモカイン受容体CXCR4 (GPCR) が機能している。8はそのCXCR4アンタゴニストとして作用し、ウイルス表面のグリコプロテインgp120とCXCR4との相互作用をブロックすることでHIVの宿主細胞への侵入を阻止する。8はCXCR4特異的アンタゴニストであり、他のケモカイン受容体に対しては作用しない。

この8についての抗HIV臨床試験における体内動態解析の過程で思わぬ活性が見いだされた。すなわち、8の単回投与 (80 µg/kg 静脈注射) 6時間後には投与前と比較してその約3倍まで、末梢血中の白血球数が増加した。この増加した白血球についてさらに解析したところ、8によって表面抗原CD34⁺である造血幹細胞 (hematopoietic stem cell, HSC) の数が増加していることが判明した。これは、8によって骨髓中に存在するHSCが末梢血中へ動員されたことを示すものと考えられる。

CXCR4の生体内リガンドはSDF-1 (stroma cell-derived factor-1, 別名CXCL12) であり、CD34⁺のHSC (CXCR4を発現している) を骨髓中に繋ぎ止める活性を有している。したがって、8はこのSDF-1の作用を切ることにより、HSCを血流へ方向づけ動員すると推定される。現在、癌患者に対する末梢血幹細胞移植において十分量の幹細胞が得られないことが臨床問題となっているが、8はそのような状況に対して有効である

可能性があることから、現在臨床試験 (Phase III) が進行中である。癌患者の支持療法として期待される。

癌幹細胞の創薬標的としての可能性

癌が幹細胞の性質を有する希少な細胞集団から発生するというコンセプトは、約150年も前に提唱された⁽³¹⁾。実際に増殖性の高い癌においても、癌を構成するごく一部の細胞のみが高い増殖性を示すことが*in vitro*および移植実験で示された⁽³²⁾が、癌細胞中の幹細胞様の性質を有する細胞 (癌幹細胞) の実態は長らく不明であった。最近になり、幹細胞生物学の急速な進展、移植に適した免疫不全マウスの開発、種々の表面抗原に対する抗体の取得やセルソーターなどの分離・検出器の飛躍的な発達により、種々の癌種で癌幹細胞の分離が報告されてきている。

Dickらは、免疫不全マウス (NOD/SCID マウス) を用いた異種移植系で癌幹細胞の存在を示した。すなわち、急性骨髄性白血病 (acute myelogenous leukemia, AML) 患者から分離した白血病細胞の中でAMLを発症させる能力を有する細胞 (SCID-leukemia-initiating cell, SL-IC) の頻度は、末梢血単核細胞10⁶あたりわずか0.2~100細胞であった。SL-ICには造腫瘍活性のみならず、分化した癌細胞を生み出す能力および自己複製能力も認められ、癌幹細胞としての性質を有することが示された。実際SL-ICは、造血幹細胞と同様にCD34⁺CD38⁻画分に濃縮されていた⁽³³⁾。また多発性骨髄腫においても、CD138⁻画分に癌幹細胞が濃縮されていることが報告され⁽³⁴⁾、ヒト血液癌における癌幹細胞の存在が示された。さらに最近、乳癌、脳腫瘍、前立腺癌などの固形癌にも癌幹細胞の存在が報告されている (表1)^(35~37)。

造血幹細胞などの成体幹細胞はATP-binding cassette (ABC) トランスポーターを介した薬剤排出能が強いことが知られており、蛍光色素Hoechst33342の排出能を指標にセルソーターを用いて幹細胞画分を濃縮することができる。同様の手法を用いて、培養癌細胞株から癌幹細胞様の性質を有する細胞の濃縮が可能であることが報告された⁽³⁸⁾。また、マウスにおいて肺癌の起源となりうる幹細胞 (bronchioalveolar stem cell, BASC) の存在が見いだされている⁽³⁹⁾。

従来の抗癌剤は、治療効果は認められるものの、再発や転移のため必ずしも延命に結びつかないといった問題点が指摘されている。この原因としては、抗癌剤の標的が分化した癌細胞であり、薬剤排出能が高く、静止期にある癌幹細胞に対しては効果が低い可能性が推測され

表 1 ■ ヒト臨床検体からの癌幹細胞の分離

癌の種類	マーカー	癌幹細胞としての性質	文献
急性骨髄性白血病	CD34 ⁺ /CD38 ⁻	NOD/SCID マウスへの移植により造腫瘍能を確認	(33)
多発性骨髄腫	CD138 ⁻	NOD/SCID マウスへの移植により造腫瘍能を確認	(34)
乳癌	CD44 ⁺ /CD24 ^{-/low} (ESA ⁺)	NOD/SCID マウスへの移植により造腫瘍能を確認	(35)
脳腫瘍	CD133 ⁺	NOD/SCID マウスへの移植により造腫瘍能を確認	(36)
前立腺癌	CD44 ⁺ /α ₂ β ₁ ^{hi} /CD133 ⁺	<i>in vitro</i> における高い増殖能 (自己複製能) と分化能を確認	(37)

ESA : epithelial-specific antigen

癌幹細胞は薬剤排出能が高く、静止期にあると考えられるため、多数を占める癌細胞が抗癌剤により死滅した後も生き残り、自己複製と分化を繰り返して再発にいたると想定される。また、癌幹細胞が転移した場合も同様に転移叢形成にいたると考えられる。癌幹細胞の増殖を抑制/阻害する薬剤には、癌の再発や転移の抑制のみならず癌の根治が期待される。

図 4 ■ 癌幹細胞を標的とする薬剤による癌の増殖/転移抑制モデル

る。癌幹細胞を標的とする薬剤を見いだすことができれば、転移や再発の抑制のみならず、単剤あるいは従来の抗癌剤との併用での癌根治の可能性が期待される (図 4)。今後、癌幹細胞研究の進展からブレイクスルーがもたらされ、その成果が医療に貢献する日が一日も早く来ることを願っている。

*

幹細胞に作用する低分子による創薬研究を中心に、最近の知見についていくつかのトピックスを概説した。このような試みは、ある意味で究極の医薬を目指すことにもなるが、一方でそのハードルがかなり高いことも事実である。幹細胞に関する基礎研究の進展に伴い、現在再生医療における様々なアプローチが急速に進められているが、それに相俟った形で幹細胞創薬が将来に実を結ぶことを大いに期待している。

文献

- M. F. Pittenger, A. M. Mackay, S. C. Beck, R. K. Jaiswal, R. Douglas, J. D. Mosca, M. A. Moorman, D. W. Simonetti, S. Craig & D. R. Marshak : *Science*, **284**, 143 (1999).
- Y. Jiang, B. Vaessen, T. Lenvik, M. Blackstad, M. Reyes & C. M. Verfaillie : *Exp. Hematol.*, **30**, 896 (2002).
- 桜田一洋, 市村通朗 : 実験医学, **21**(8), 174 (2003).
- G.-I. Ming & H. Song : *Ann. Rev. Neurosci.*, **28**, 223 (2005).
- P. S. Eriksson, E. Perfilieva, T. Björk-Eriksson, A.-M. Alborn, C. Nordborg, D. A. Peterson & F. H. Gage : *Nature Med.*, **4**, 1313 (1998).
- 久恒辰博, 戸塚祐介, 福田 諭 : 蛋白質 核酸 酵素, **51**(3), 249 (2006).
- R. J. E. Armstrong & R. A. Barker : *Lancet*, **358**, 1174 (2001).
- L. Santarelli, M. Saxe, C. Gross, A. Surget, F. Battaglia, S. Dulawa, N. Weisstaub, J. Lee, R. Duman, O. Arancio, C. Belzung & R. Hen : *Science*, **301**, 805 (2003).
- H. Nakatomi, T. Kuriu, S. Okabe, S. Yamamoto, O. Hatano, N. Kawahara, A. Tamura, T. Kirino & M. Nakafuku : *Cell*, **110**, 429 (2002).
- E. Chmielnicki, A. Benraiss, A. N. Economides & S. A. Goldman : *J. Neurosci.*, **24**, 2133 (2004).
- K. Lai, B. K. Kaspar, F. H. Gage & D. V. Schaffer : *Nature Neurosci.*, **6**, 21 (2003).
- M. Frank-Kamenetsky, X. M. Zhang, S. Bottega, O. Guicherit, H. Wichterle, H. Dudek, D. Bumcrot, F. Y. Wang, S. Jnones, J. Schulok, L. L. Rubin & J. A. Porter : *J. Biol.*, **1**, 10 (2002).
- R. Machold, S. Hayashi, M. Rutlin, M. D. Muzumdar, S. Nery, J. G. Corbin, A. Gritli-Linde, T. Dellovade, J. A. Porter, L. L. Rubin, H. Dudek, A. P. McMahon & G. Fishell : *Neuron*, **39**, 937 (2003).
- S. Bonner-Weir & G. C. Weir : *Nature Biotechnol.*, **23**, 857 (2005).
- H. Mashima, H. Shibata, T. Mine & I. Kojima : *Endocri-*

nology, **137**, 3969 (1996).

- 16) I. Kojima & K. Umezawa: *Int. J. Biochem. Cell B.*, **38**, 923 (2006).
- 17) K. Umezawa, T. Ohse, T. Yamamoto, T. Koyano & Y. Takahashi: *Anticancer Res.*, **14**, 2413 (1994).
- 18) T. Ogata, L. Li, S. Yamada, Y. Yamamoto, Y. Tanaka, I. Takei, K. Umezawa & I. Kojima: *Diabetes*, **53**, 2596 (2004).
- 19) 上杉志成: 現代化学, 12月号, 49 (2004).
- 20) S. Ding & P. G. Schultz: *Nature Biotechnol.*, **22**, 833 (2004).
- 21) X. Wu, S. Ding, Q. Ding, N. S. Gray & P. G. Schultz: *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 1590 (2004).
- 22) M. Warashina, K. H. Min, T. Kuwabara, A. H. Huynh, F. H. Gage, P. G. Schultz & S. Ding: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 591 (2006).
- 23) G. R. Rosania, Y. -T. Chang, O. Perez, D. Sutherland, H. Dong, D. J. Lockhart & P. G. Schultz: *Nature Med.*, **18**, 304 (2000).
- 24) S. Chen, Q. Zhang, X. Wu, P. G. Schultz & S. Ding: *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 410 (2004).
- 25) M. Perreira, J. -K. Jiang, A. M. Klutz, Z. -G. Gao, A. Shainberg, C. Lu, C. J. Thomas & K. A. Jacobson: *J. Med. Chem.*, **48**, 4910 (2005).
- 26) X. Wu, S. Ding, Q. Ding, N. S. Gray & P. G. Schultz: *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 14520 (2002).
- 27) X. Wu, J. Walker, J. Zhang, S. Ding & P. G. Schultz:

Chem. Biol., **11**, 1229 (2004).

- 28) S. Sinha & J. K. Chen: *Nature Chem. Biol.*, **2**, 29 (2006).
- 29) M. M. Beloti, L. S. Bellesini & A. L. Rosa: *Biomaterials*, **26**, 4245 (2005).
- 30) E. D. Clercq: *Nature Rev. Drug Discov.*, **2**, 581 (2003).
- 31) M. S. Wicha, S. Liu & G. Dontu: *Cancer Res.*, **66**, 1883 (2006).
- 32) B. J. P. Huntly & D. G. Gilliland: *Nature Rev. Cancer*, **5**, 311 (2005).
- 33) D. Bonnet & J. E. Dick: *Nature Med.*, **3**, 730 (1997).
- 34) W. Matsui, C. A. Huff, Q. Wang, M. T. Malehorn, J. Barber, Y. Tanhehco, B. D. Smith, C. I. Civin & R. J. Jones: *Blood*, **103**, 2332 (2004).
- 35) M. Al-Hajj, M. S. Wicha, A. Benito-Hernandez, S. J. Morrison & M. F. Clarke: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 3983 (2003).
- 36) S. K. Singh, C. Hawkins, I. D. Clarke, J. A. Squire, J. Bayani, T. Hide, R. M. Henkelman, M. D. Cusimano & P. B. Dirks: *Nature*, **432**, 396 (2004).
- 37) A. T. Collins, P. A. Berry, C. Hyde, M. J. Stower & N. J. Maitland: *Cancer Res.*, **65**, 10946 (2005).
- 38) T. Kondo, T. Setoguchi & T. Taga: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 781 (2004).
- 39) C. F. B. Kim, E. L. Jackson, A. E. Woolfenden, S. Lawrence, I. Babar, S. Vogel, D. Crowley, R. T. Bronson & T. Jacks: *Cell*, **121**, 823 (2005).

サイエンティストゲーム

成功への道 [正] / 若き科学者のための生き残り戦略 [続]

C.J. シンダーマン 著 / 山崎 昶 訳 四六判 / 税込定価 [正][続] 各 2200 円

科学者の世界も一つの社会である。大学・研究所などでの立居振舞いと人間関係の調整など、これから科学の社会に進む若い学生や、転機を迎えている科学者のための優れた教訓とガイドラインを示す。

居眠りの時間?

「掲載却下」が来たときはどうするか?

<主要目次>

[正] プロローグ / 科学戦略家入門 著述家としての科学者 / 演技者としての科学者 / 大群集を前にしての科学者 / コンサートマスターとしての科学者 / プロデューサー・ディレクターとしての科学者 / 交渉役としての科学者 / 科学の戦略家にとって兼合いの難しい問題 転機にある科学者 / 権力を握る科学者 / 惑える科学者 / 科学の戦略家にとって特別に興味のある問題 科学の世界での女性と男性の役割の評価 / 外部の権力との付き合い方 / 企業の世界との関係 / エピローグ

[続] プロローグ / 一人前と呼ばれるまでに / 象牙の塔の中での立居振舞い / キミは指導教授とうまくやっているか? / 賢明なる女子大学院生 / 舞台の上の若手の科学者 / 舞台裏での若き科学者 / 若き科学者の小規模の会合 / 人世の節目 (カット) を生き残るために / 募集を応募 / 科学の仕事場の特性 / 科学における知的な取引と妥協 / 科学のプロフェッショナルファザード / 科学者の役割の変化 / エピローグ

学会出版センター 〒113-0033 東京都文京区本郷 6-2-10 Tel.03-3814-2001/Fax.03-3814-2002