がん治療標的としてのがん幹細胞と標的薬剤の探索

馬 島 哲 夫

**Cancer Stem Cells (CSCs) as a Rational Therapeutic Cancer Target,
and Screening for CSC-targeting Drugs**

Tetsuo Mashima

*Division of Molecular Biotherapy, Cancer Chemotherapy Center, Japanese Foundation for
Cancer Research; 3-8-31 Ariake, Koto-ku, Tokyo 135-8550, Japan.*

(Received September 6, 2016)

The emergence of drug resistance is a major obstacle to the successful pharmacological treatment of cancer. Tumor heterogeneity is one of the key factors underlying drug resistance. Cancer cell heterogeneity in tumors is caused by genetic mutation and by the existence of cancer stem cells (CSCs). CSCs are defined as a subpopulation of highly tumorigenic cancer cells with self-renewal activity. It has been reported that various types of cancer involve CSCs, and that CSCs are generally resistant to anticancer drugs. Therefore, CSC-targeting agents could allow for more effective pharmacological treatment of cancer. Using a comprehensive gene expression study and functional genomic approach, we are trying to identify CSC-specific survival factors, as well as candidate compounds that interfere with CSC-selective survival signaling. These CSC-targeting drugs could be promising new therapeutic agents which would suppress the emergence of drug-resistant cells and enhance the effect of antitumor agents.

Key words—cancer stem cell; therapeutic target; functional genomics**1. はじめに**

がん治療において、転移浸潤などのために外科的切除が適用できないがんや再発がんの治療等では、薬物療法が不可欠である。がんの薬物療法においては、古典的な化学療法剤とともに近年、がん選択的に発現するシグナル分子を標的とした分子標的薬が臨床現場に導入され、これらが治療成績の向上につながっている。しかしながら、こうした薬物療法では、多くの場合、薬物治療後ある一定期間の後に、薬剤抵抗性となったがんが再発する。この薬剤耐性の機序としては、薬剤投与の過程で、がん細胞に遺伝子変異などが生じ、これが原因となって薬剤抵抗性を獲得する、いわゆる「獲得耐性」が主要因と考えられてきた。しかし近年、腫瘍組織を形成するがん細胞には多様性があることが明らかになり、この腫瘍組織内のがん細胞の不均一性が、薬剤抵抗性や

再発に大きく寄与していることがわかってきた。すなわち、腫瘍中のがん細胞に薬剤抵抗性の細胞が既に存在し、それが選択されて薬剤投与後に残存し、再発に寄与するという考え方である。

2. 制がん剤抵抗性・再発の要因としてのがん幹細胞

腫瘍内の細胞不均一性は、主に以下の2つの要因により生じると考えられている。1つは、遺伝子変異の多様性である。がん細胞はゲノムが不安定であるため、多くの遺伝子変異がゲノム上に蓄積されているが、腫瘍組織内の個々のがん細胞は異なる遺伝子変異を有する細胞集団であり、この中で薬剤耐性に係わる変異を有する細胞が、薬剤投与後早期に出現する薬剤抵抗性に係わるということが実際に示されている。¹⁾

他方、腫瘍内の細胞不均一性は、このような遺伝子変異のみによらず、細胞の可塑性にも起因すると考えられており、その制御のキーとなるのが、がん幹細胞、ないしは幹細胞様のがん細胞である。腫瘍内には、高い自己複製能・多分化能・高い造腫瘍性を備えた少数の細胞が存在することが、白血病や乳

公益財団法人がん研究会がん化学療法センター分子生物治療研究部 (〒135-8550 東京都江東区有明 3-8-31)
e-mail: tmashima@jfc.or.jp

本総説は、日本薬学会第136年会シンポジウム S06 で発表した内容を中心に記述したものである。

Fig. 1. Combinational Treatment of Antitumor Agents and Cancer Stem Cell (CSC)-targeting Agents as a Strategy to Prevent Tumor Recurrence

がんなど多くの固形がんで報告されており、これらの細胞は、がん幹細胞と呼ばれている。²⁾ このがん幹細胞は、細胞増殖が遅く休止状態にあることや薬剤トランスポーターが高発現していることが報告されており、これらにより種々の制がん剤に抵抗性であると考えられている。したがって、がん幹細胞を選択的に抑制する薬剤を開発し既存の制がん剤等と併用することができれば、薬剤抵抗性の出現が抑えられ、治療成績の大きな向上が期待されと考えられている (Fig. 1)。

3. がん幹細胞選択的な生存因子や標的薬剤

がん幹細胞については、これまでの研究から、特異的に発現するマーカー分子やシグナル分子が報告されている。細胞表面抗原である CD44、とくにそのスプライシング・バリエーションである CD44v は、多くのがん種においてがん幹細胞マーカーとされる。CD44v は、シスチン・トランスポーターである xCT と結合し、シスチンの取り込みを亢進して、細胞内の抗酸化物質であるグルタチオン生成を促進し、酸化ストレスの抑制やがん幹細胞の生存に係わることが示されている。³⁾ またこの xCT の選択的な阻害剤であるスルファサラジンは、がん幹細胞である CD44v 陽性細胞に選択的な作用を示すことから現在、その臨床試験が進められている。そのほかにも、STAT3 経路等を標的としてがん幹細胞に作用する薬剤であるナプカシン (BBI608) や、がん幹細胞の維持に重要な役割を果たす maternal embryonic leucine zipper kinase (MELK) 阻害剤である OTS167⁴⁾ などが、臨床試験中である。ただし、がん幹細胞がどのような細胞内シグナル伝達や生存因子によって維持されているのかについては、いま

だ不明な点が多い。特に、がん幹細胞のマーカー分子やその性質は、がん種によって様々であることから、がん種毎、あるいは同一のがん種においてもサブタイプ毎に、がん幹細胞の性質やその違いを明確にしていける必要がある。その上で、がん幹細胞特異的な生存維持機構の更なる解明やそれを標的とした薬剤の探索や開発が重要であると考えられる。

4. 前立腺がん幹細胞の生存因子とその生存経路に作用する薬剤探索

筆者らは、わが国において急増している前立腺がんや主要ながんである消化器がん等のがん細胞株や患者腫瘍組織から取得したがん細胞を用いて、薬剤抵抗性に係わるがん幹細胞分画の分離・同定を進めるとともに、新しい治療ターゲット分子の同定を目指して、がん幹細胞の選択的な生存因子の探索を行っている。前立腺がんにおいては、がん幹細胞の性質を持つ細胞として CD44/CD133 陽性細胞や、CD151/CD166/TRA1-60 陽性細胞などが同定されている。前立腺がんの多くはアンドロゲン（男性ホルモン）受容体を発現しており、アンドロゲン依存性増殖を示す。このため、その薬物療法にはアンドロゲン依存性シグナル伝達経路を阻害する抗アンドロゲン薬が用いられる。しかし前立腺がん幹細胞は、アンドロゲン依存性シグナルが低下しているため、これらの薬物に抵抗性であるとされている。筆者らは、CD151/TRA1-60 陽性細胞を前立腺がん細胞より分離し、それががん幹細胞の性質である高い腫瘍形成能やスフェア増殖能を持つことを確認した。さらに、RNAi スクリーニングにより、CD151/TRA1-60 陽性細胞の増殖・生存に選択的に係わる分子を探索した。その結果、前立腺がん幹細胞の選

Fig. 2. Decrease of Cancer Stem Cell Population by TRIB1 Inhibition

Prostate cancer PC3 cells were infected with virus expressing shRNAs targeting TRIB1 or control shRNA. Percentage of cancer stem-like CD151/TRA1-60 cells in PC3 cells were examined. Error bar indicates S.D. of the data.

沢的生存因子としてシグナル伝達のアダプター分子である tribbles pseudokinase 1 (TRIB1) を同定した。⁵⁾ TRIB1 の short hairpin RNA (shRNA) による発現抑制は、前立腺がん細胞内の CD151/TRA1-60 陽性細胞率を減少させ (Fig. 2), さらに腫瘍形成を抑制した。また、前立腺がんにおいては、TRIB1 の下流のシグナル分子として、小胞体ストレスシャペロンである glucose-regulated protein 78 (GRP78/Bip) が係わっていることも見出した。前立腺がん腫瘍組織における TRIB1 発現を検討すると、その発現には不均一性が認められ、一部の細胞において TRIB1 が高く発現していた。さらに最近、前立腺がん腫瘍組織における TRIB1 高発現が再発・転移と相関することも示されている。⁶⁾ したがって、TRIB1 は前立腺がん幹細胞の生存維持に係わり、がんの再発を規定する分子であると考えられる。

TRIB1 はまた、転写因子 CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) の発現制御や mitogen-activated protein (MAP) キナーゼ経路の制御に係わり、白血病などのがん遺伝子としての役割も報告されている。⁷⁾ こうしたことから TRIB1 は、がんにおける有望な治療標的分子であると考えられる。一方、薬剤探索においては一般に、酵素活性を持ち、阻害剤が開発し易い ‘druggable target’ 分子とそうでない分子があるとされている。TRIB1 はシグナル伝達のアダプター分子であり、特定の酵素活性を持たないため、TRIB1 分子自体を標的とした薬

剤の探索は容易ではない。そこで筆者らは現在、TRIB1 が制御する生存シグナルに作用する化合物の探索を進めている。これに関しては、近年、web 上で利用可能な公的データベースが拡充しており、化合物に関しても、米国ボストンの Broad Institute による Connectivity Map (<http://portals.broadinstitute.org/cmap>)⁸⁾ や、筆者らの構築した制がん剤関連遺伝子発現データベース JFCR_LinCAGE (link between chemotherapeutic agent and gene expression) (http://scads.jfcr.or.jp/db/cs/index_j.html)⁹⁾ など、薬剤の標的分子経路を反映する遺伝子発現変動データ (遺伝子シグネチャー) やそれに基づく解析ツールが構築されてきた。筆者らは、前立腺がん細胞において、TRIB1 を発現抑制した際に変動する遺伝子群 (遺伝子シグネチャー) を取得した。さらに、これを各種 website における化合物処理後の変動遺伝子シグネチャーと重ね合わせ、その類似性を検索することで、前立腺がん幹細胞において、TRIB1 を介した生存シグナルに作用する化合物の探索を進め、候補化合物を見出している。

5. まとめ

がんの不均一性やその要因としてのがん幹細胞を治療標的とした薬剤は、既存の制がん剤の効果を増強するとともに、薬剤耐性の出現や再発を抑える薬剤として今後期待される。しかし、がん幹細胞のバイオロジー自体、まだまだ十分に明らかでないところが多い。このような基礎知見の拡充を通じて、薬剤開発のための基盤情報構築の推進につなげていければと考えている。

謝辞 本研究は、公益財団法人がん研究会がん化学療法センター分子生物治療研究部において、清宮啓之部長を始めとするメンバーの方々のご指導やご協力の下に進められたものであり、ここにすべての共同研究者、研究協力者の方々に深謝いたします。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Hata A. N., Niederst M. J., Archibald H. L., Gomez-Caraballo M., Siddiqui F. M., Mulvey H. E., Maruvka Y. E., Ji F., Bhang H. E.,

- Radhakrishna V., Siravegna G., Hu H., Raoof S., Lockerman E., Kalsy A., Lee D., Keating C. L., Ruddy D. A., Damon L. J., Crystal A. S., Costa C., Piotrowska Z., Bardelli A., Iafrate A. J., Sadreyev R. I., Stegmeier F., Getz G., Sequist L. V., Faber A. C., Engelman J. A., *Nat. Med.*, **22**, 262–269 (2016).
- 2) Magee J. A., Piskounova E., Morrison S. J., *Cancer Cell*, **21**, 283–296 (2012).
- 3) Ishimoto T., Nagano O., Yae T., Tamada M., Motohara T., Oshima H., Oshima M., Ikeda T., Asaba R., Yagi H., Masuko T., Shimizu T., Ishikawa T., Kai K., Takahashi E., Ima-mura Y., Baba Y., Ohmura M., Suematsu M., Baba H., Saya H., *Cancer Cell*, **19**, 387–400 (2011).
- 4) Alachkar H., Mutonga M. B., Metzeler K. H., Fulton N., Malnassy G., Herold T., Spieker-mann K., Bohlander S. K., Hiddemann W., Matsuo Y., Stock W., Nakamura Y., *Oncotar-get*, **5**, 12371–12382 (2014).
- 5) Mashima T., Soma-Nagae T., Migita T., Kinoshita R., Iwamoto A., Yuasa T., Yonese J., Ishikawa Y., Seimiya H., *Cancer Res.*, **74**, 4888–4897 (2014).
- 6) Lin Z. Y., Huang Y. Q., Zhang Y. Q., Han Z. D., He H. C., Ling X. H., Fu X., Dai Q. S., Cai C., Chen J. H., Liang Y. X., Jiang F. N., Zhong W. D., Wang F., Wu C. L., *Int. J. Cancer*, **135**, 541–550 (2014).
- 7) Yokoyama T., Nakamura T., *Cancer Sci.*, **102**, 1115–1122 (2011).
- 8) Lamb J., *Nat. Rev. Cancer*, **7**, 54–60 (2007).
- 9) Mashima T., Ushijima M., Matsuura M., Tsukahara S., Kunimasa K., Furuno A., Saito S., Kitamura M., Soma-Nagae T., Seimiya H., Dan S., Yamori T., Tomida A., *Cancer Sci.*, **106**, 909–920 (2015).