

抗アポトーシス蛋白を標的とした前立腺癌治療の可能性

新井誠二、大津晃、澤田達宏、鈴木和浩

群馬大学大学院医学系研究科 泌尿器科学

はじめに

転移性前立腺癌の多くは、アンドロゲン除去療法を開始してから数年以内に治療抵抗性を獲得する。これら去勢抵抗性前立腺癌に対して、新規抗アンドロゲン製剤やタキサン系抗癌剤などが効果を示すが、その奏効期間は限られており、新規治療法の開発が求められている。

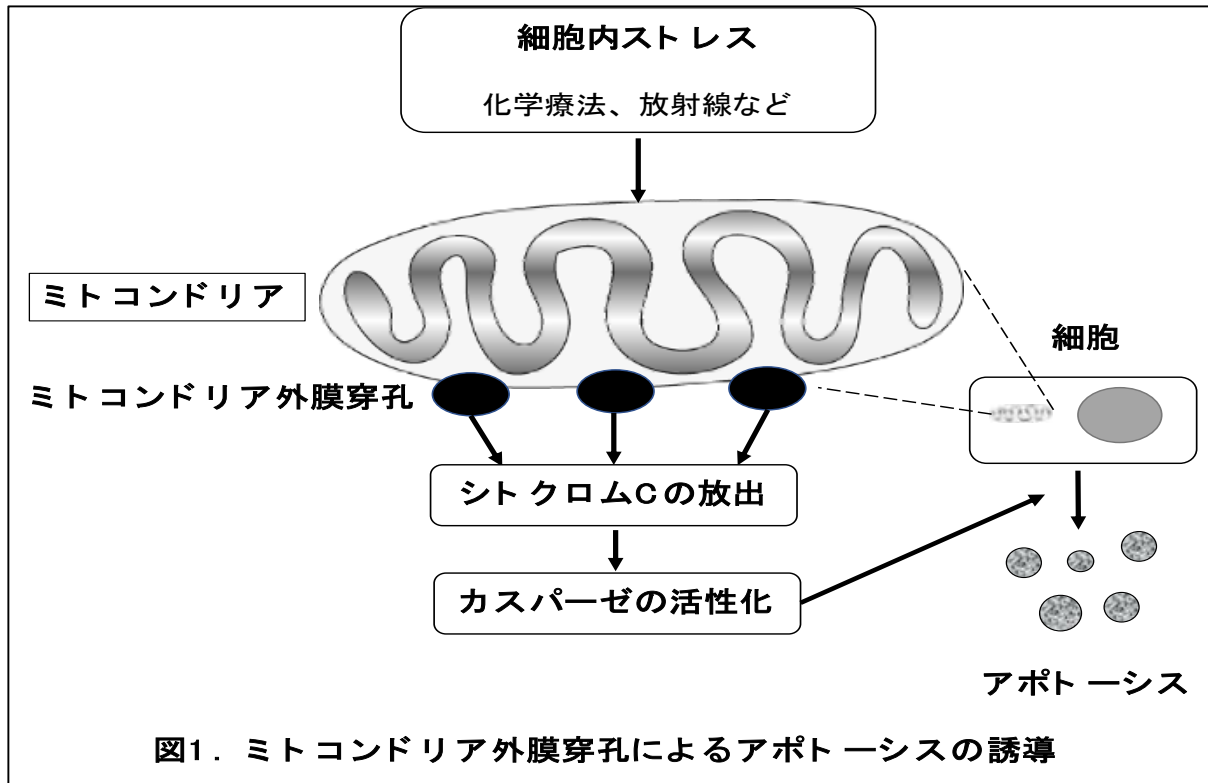
近年、アポトーシスを抑制する BCL2 ファミリー蛋白（抗アポトーシス蛋白）を標的とした治療法が血液癌で臨床応用されてきた。我々のグループは、前立腺癌に対する新規治療標的として、この抗アポトーシス蛋白に着目し研究を行ってきた。本稿では、癌細胞におけるアポトーシス抵抗性メカニズムを説明し、続いて抗アポトーシス蛋白を標的とした薬剤（BH3 ミメティクス）、これを用いた前立腺癌治療の可能性について紹介する。

Key Words : 前立腺癌、アポトーシス、MCL1、BH3 ミメティクス、MARCH5

癌細胞におけるアポトーシス抵抗性メカニズム

1) 正常細胞におけるアポトーシス制御

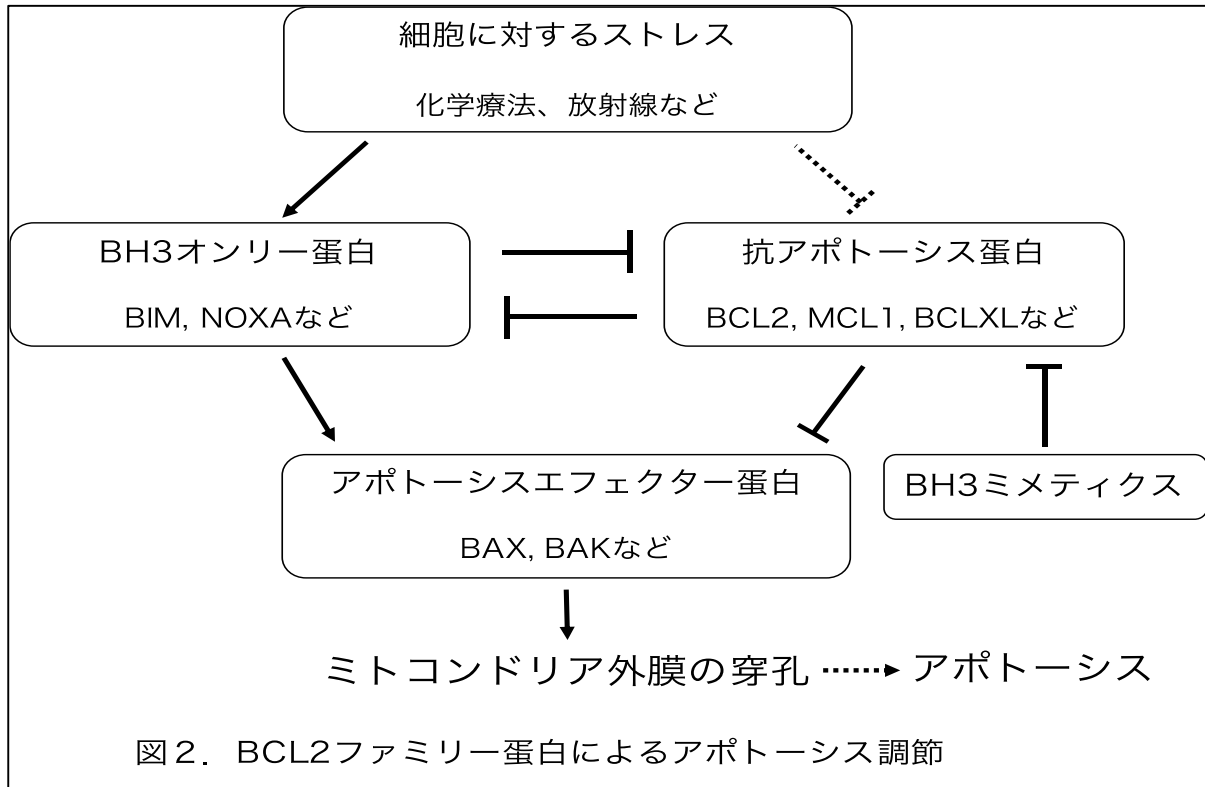
癌細胞におけるアポトーシス抵抗性メカニズムを理解するためには、まず正常細胞がどのようにアポトーシスを制御しているのかを知ることが大切である。アポトーシスは、生体において正常細胞がダメージを受けた際、その細胞が適切に取り除かれるために重要な役割を果たしている細胞死の一形態である⁽¹⁾。アポトーシスの一連の流れとして、まず修復不能なダメージを受けた細胞で、ミトコンドリア外膜の穿孔が起こり、電子伝達系の一部であるシトクロム C がミトコンドリアから細胞質内に放出される。放出されたシトクロム C はカスパーゼと呼ばれる蛋白分解酵素を活性化し、これが細胞内器官を分解する。細胞は、その後アポトーシス小体という小胞に解体される（図 1）。



2) BCL2ファミリー蛋白によるアポトーシス調節

細胞の運命（アポトーシス）を決定づけるステップであるミトコンドリア外膜の穿孔には、ミトコンドリア外膜に存在する BCL2 ファミリー蛋白が重要な役割を果たす⁽¹⁾。BCL2 ファミリー蛋白は、アミノ酸配列に BCL2 Homology ドメイン（BH ドメイン；BH1、BH2、BH3、BH4）を有する蛋白群で、アポトーシスを阻害する抗アポトーシス蛋白とアポトーシスを誘導する蛋白（アポトーシス促進蛋白）に分けられる。アポトーシス促進蛋白は、さらにミトコンドリア外膜の穿孔に直接的に働くアポトーシスエフェクター蛋白と BH3 ドメインのみで構成される BH3 オンリー蛋白に分けられる。

通常の細胞では、抗アポトーシス蛋白がアポトーシスエフェクター蛋白に結合（機能阻害）することで、ミトコンドリア外膜の穿孔を抑制している。しかし、修復できないダメージを受けた細胞では、BH3 オンリー蛋白が増加し、これが抗アポトーシス蛋白に結合し、その機能を阻害する。さらに、増加した BH3 オンリー蛋白が、アポトーシスエフェクター蛋白にも結合することでこれを活性化し、ミトコンドリア外膜の穿孔に始まるアポトーシスの一連のカスケードを引き起こす（図2）。



3) 癌細胞におけるアポトーシス抵抗性メカニズム

癌細胞が死を逃れる仕組みの一つとして、抗アポトーシス蛋白の増加によるアポトーシス抵抗性の獲得が報告されている⁽¹⁾。アポトーシス抵抗性を獲得した癌細胞においても、抗癌剤や放射線など細胞への深刻なダメージにより BH3 オンリー蛋白が上昇する。しかし、これら癌細胞では、増加した BH3 オンリー蛋白を中和するのに十分な量の抗アポトーシス蛋白が存在する結果、アポトーシスには至らず生存し続けることが可能となる。

抗アポトーシス蛋白を標的とした薬剤 (BH3 ミメティクス)

1) BH3 ミメティクスの開発

抗アポトーシス蛋白の発現を増加させることでアポトーシス抵抗性を獲得した癌細胞は、増加した抗アポトーシス蛋白に依存しながら生存していると考えられる。そのため、これら抗アポトーシス蛋白の阻害剤は癌細胞に対して致死的効果をもたらす可能性が考えられる。BH3 ドメインの立体構造を模倣した小分子化合物である BH3 ミメティクスは、抗アポトーシス蛋白に結合することで、その機能 (ミトコンドリア外膜穿孔の抑制) を阻害し、癌細胞にアポトーシスを誘導する。現時点で、BCL2 阻害剤 (ベネトクラクス)⁽²⁾、BCL2/BCLXL 阻害剤 (navitoclax)⁽³⁾、MCL1 阻害

剤 (S63845, AZD5991, AMG176) (4-6)などの BH3 ミメティクスが、前臨床あるいは実臨床で使用されてきている。

2) BH3 ミメティクスの副作用

BH3 ミメティクスの副作用として、正常細胞に対する影響が挙げられる。特に骨髄細胞は影響を受けやすい臓器であり、navitoclax の副作用として BCLXL 阻害による血小板減少が知られている⁽⁷⁾。一方、成人の正常細胞の多くは、癌細胞に比べてアポトーシスエフェクター蛋白の発現が低いと報告されており⁽⁸⁾、BH3 ミメティクスを投与した際、癌細胞に比べてアポトーシスを起こしづらいことも示唆されている。臨床応用においては、間欠的投与など投与スケジュールを調整することで、骨髄細胞へのダメージを減らせる可能性がある。

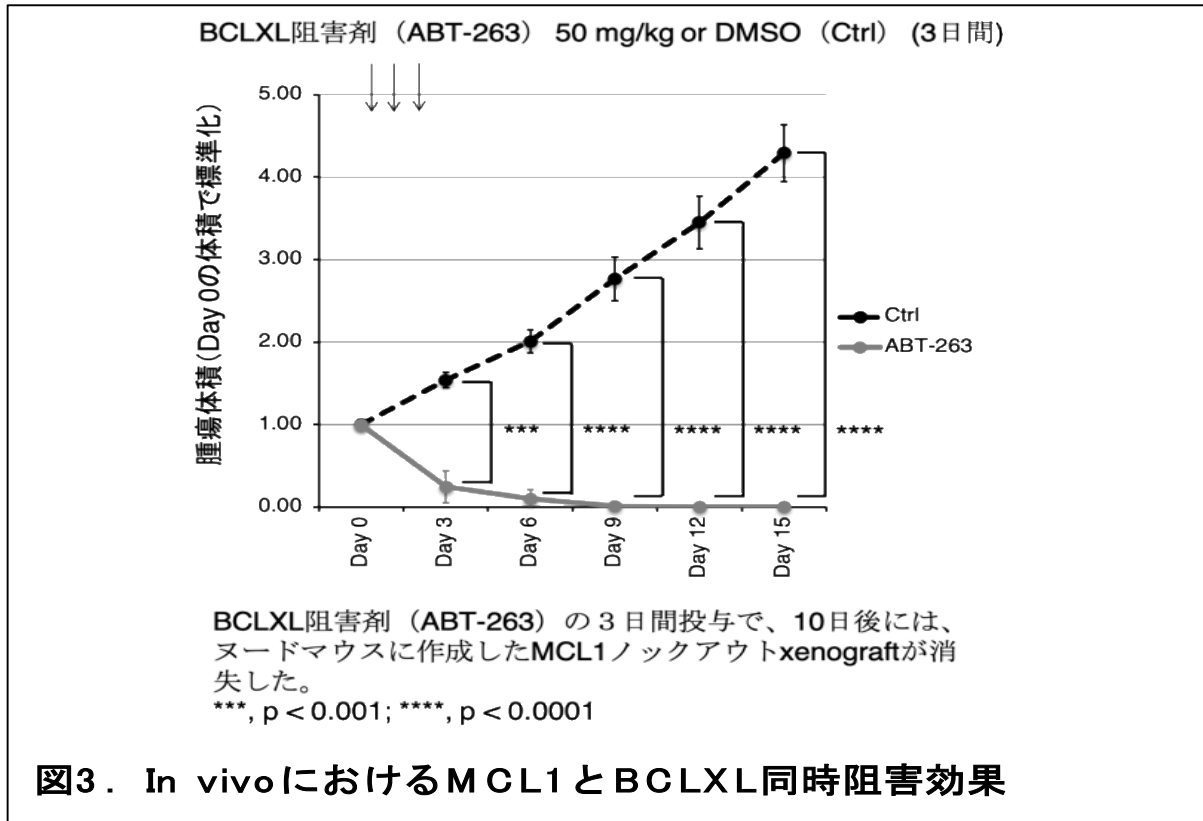
前立腺癌に対する新規治療標的としての抗アポトーシス蛋白

1) BH3 ミメティクスを用いた前立腺癌アポトーシス誘導

アンドロゲン除去療法に抵抗性を獲得した去勢抵抗性前立腺癌の予後は不良であり、新規治療法の開発が求められている⁽⁹⁾。転移性前立腺癌ではアンドロゲン除去療法前後で抗アポトーシス蛋白の発現増加が報告されており⁽¹⁰⁾、アポトーシス抵抗性の獲得は去勢抵抗性前立腺癌の進展や治療抵抗性の一因と示唆されている。

これまで前立腺癌を含む固形癌に対して、navitoclax 単独治療による臨床試験が行われたが、少数の患者に癌の縮小を認めるのみであった⁽⁷⁾。我々は、cBioportal⁽¹¹⁾を用いた検討から、5-15%程度の転移性あるいは去勢抵抗性前立腺癌において、抗アポトーシス蛋白 MCL1 の遺伝子増幅を認めるという結果を得た。そこで、前立腺癌における navitoclax 単独治療に対する抵抗性の一因として、MCL1 が重要な役割を果たしている可能性があると考えた。

我々は、前立腺癌細胞に MCL1 阻害剤と navitoclax を同時投与、あるいは MCL1 をノックダウン/ノックアウトした前立腺癌細胞に navitoclax を投与したところ、著明なアポトーシスが誘導されることを発見した。さらに重要なことに、MCL1 をノックアウトした前立腺癌細胞を移植し腫瘍片を作成したヌードマウスに navitoclax を3日間投与したところ、長径 1 cm 以上の大きさに成長した腫瘍片が治療後 2 週間以内に消失することを発見した (図 3) ⁽¹²⁾。



2) チロシンキナーゼ阻害剤による MCL1 分解亢進

さらに、我々は、MCL1 低下作用を示す薬剤の発見を目的として、臨床応用可能な薬剤にターゲットを絞ったスクリーニングを行った。その結果、EGFR 阻害剤エルロチニブ、VEGFR /c-MET 阻害剤カボザンチニブをはじめとするチロシンキナーゼ阻害剤が、数時間という短時間の間に MCL1 蛋白の分解を亢進し、前立腺癌細胞内の MCL1 発現量を低下させるということが明らかとなった⁽¹²⁾。さらに我々は、そのメカニズムとして、チロシンキナーゼ阻害剤が前立腺癌細胞に統合的ストレス応答を誘導し、BH3 オンリー蛋白 NOXA の発現を増加させ、その結果ミトコンドリアに局在する E3 ユビキチンリガーゼ MARCH5 による MCL1 分解を引き起こすことを見出した⁽¹³⁾。

3) 前立腺癌における MARCH5 欠失の意義

さらに我々は、cBioportal による検討から、2-5%の前立腺癌において MARCH5 のホモ欠失を認めることを発見した。また、20-40%の限局前立腺癌において MARCH5 のヘテロ欠失を認め、転移前立腺癌では 40-50%とその割合が増加していた。重要なことに、TCGA データセットによる検討から、MARCH5 の欠失 (ホモおよびヘ

テロ) を有する前立腺癌は、それを有さない前立腺癌に比べて無病増悪生存期間が短いことが分かった。以上の結果は、MARCH5 の癌抑制因子としての機能を示唆しているものと考えられた⁽¹³⁾。現在、我々は MARCH5 欠損を有する前立腺癌細胞に対して薬剤スクリーニングを行っており、治療効果を示す薬剤を発見できれば、MARCH5 遺伝子欠損を標的とした前立腺癌治療の開発につながれると考えている。

おわりに

血液癌において BH3 ミメティクスが臨床応用されたように、抗アポトーシス蛋白を標的とした治療が前立腺癌患者への新たな治療選択肢となることを期待して、本稿を閉じる。

【文献】

- (1) Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019; **20**: 175-93.
- (2) Roberts AW, Davids MS, Pagel JM et al. Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2016; **374**: 311-22.
- (3) Tse C, Shoemaker AR, Adickes J et al. ABT-263: a potent and orally bioavailable Bcl-2 family inhibitor. *Cancer Res.* 2008; **68**: 3421-8.
- (4) Kotschy A, Szlavik Z, Murray J et al. The MCL1 inhibitor S63845 is tolerable and effective in diverse cancer models. *Nature.* 2016; **538**: 477-82.
- (5) Tron AE, Belmonte MA, Adam A et al. Discovery of Mcl-1-specific inhibitor AZD5991 and preclinical activity in multiple myeloma and acute myeloid leukemia. *Nat Commun.* 2018; **9**: 5341.
- (6) Caenepeel S, Brown SP, Belmontes B et al. AMG 176, a Selective MCL1 Inhibitor, Is Effective in Hematologic Cancer Models Alone and in Combination with Established Therapies. *Cancer Discov.* 2018; **8**: 1582-97.
- (7) Gandhi L, Camidge DR, Ribeiro de Oliveira M et al. Phase I study of Navitoclax (ABT-263), a novel Bcl-2 family inhibitor, in patients with small-cell lung cancer and other solid tumors. *J Clin Oncol.* 2011; **29**: 909-16.
- (8) Sarosiek KA, Fraser C, Muthalagu N et al. Developmental Regulation of Mitochondrial Apoptosis by c-Myc Governs Age- and Tissue-Specific Sensitivity to Cancer Therapeutics. *Cancer Cell.* 2017; **31**: 142-56.
- (9) Einstein DJ, Arai S, Balk SP. Targeting the androgen receptor and overcoming resistance in prostate cancer. *Curr Opin Oncol.* 2019; **31**: 175-82.
- (10) Stanbrough M, Bubley GJ, Ross K et al. Increased expression of genes converting adrenal androgens to testosterone in androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.* 2006; **66**: 2815-25.
- (11) Cerami E, Gao J, Dogrusoz U et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov.* 2012; **2**: 401-4.
- (12) Arai S, Jonas O, Whitman MA, Corey E, Balk SP, Chen S. Tyrosine Kinase Inhibitors Increase MCL1 Degradation and in Combination with BCLXL/BCL2 Inhibitors Drive Prostate Cancer Apoptosis. *Clin Cancer Res.* 2018; **24**: 5458-70.
- (13) Arai S, Varkaris A, Nouri M, Chen S, Xie L, Balk SP. MARCH5 mediates NOXA-dependent MCL1 degradation driven by kinase inhibitors and integrated stress response activation. *Elife.* 2020; **9**.