

## 今、ひしひしと感ずること

- 分子解析技術のめざましい進歩！
- 姿を現しつつある生命の分子の全体像。
- しかしまごまごしているとデータの海に呑み込まれそう・・・
- その中で本物（がんのアキレス腱）を見抜くことができれば、すばらしい診断や治療に結びつく成功例が出てきた。
- 成功の鍵は、患者・医療スタッフ・研究者の協力。

#18



## PARPの発見からがん治療薬までの経緯と今後の展開

中釜 斉

国立がんセンター研究所副所長

近年、基礎研究の成果を臨床応用の実現へと向けるような、いわゆるトランスレーショナルリサーチの必要性がうたわれています。本講演では、長年に亘って続けられる日々の基礎研究のテーマからも、意外に有益な成果が出てくるという事例について紹介させていただきます。

「ポリADP-リボース」の存在は、今から約半世紀も前の1963年にフランスの研究グループにより指摘され、その後、1966年に国立がんセンター研究所の杉村隆博士（現在、同名譽総長）を初めとする国内外の3つのグループにより、ほぼ同時に「ポリADP-リボース」とその合成酵素である「ポリADP-リボース合成酵素」(PARP)が同定されました。PARPは、ニコチン酸アミド(NAD)というビタミンB群に属する化合物を材料として、標的の蛋白質に、「ADP-リボース」を次々に鎖状あるいは樹状に繋げる

ことにより「ポリADP-リボース鎖」を合成します(図1)。合成された「ポリADP-リボース」は、DNA/RNAなどの核酸、あるいは糖類(糖鎖)に似た構造をしています。その何れでもありません。

「ポリADP-リボース」及びそれを合成する「PARP」は、細胞内に大量に存在しています。様々な細胞が、その寿命を終えて細胞死(アポトーシス)を起こす際に、PARPは効率良く分解され高感度に検出できることから、細胞死誘導の良い指標として用いられて来ましたが、その生物学的な意義等については十分な解明が進みませんでした。

その後、PARPが放射線や様々なDNA損傷物質により切断されたDNAの末端を認識して、それらのDNAに結合することで「ポリADP-リボース合成酵素」としての役割を発揮すること

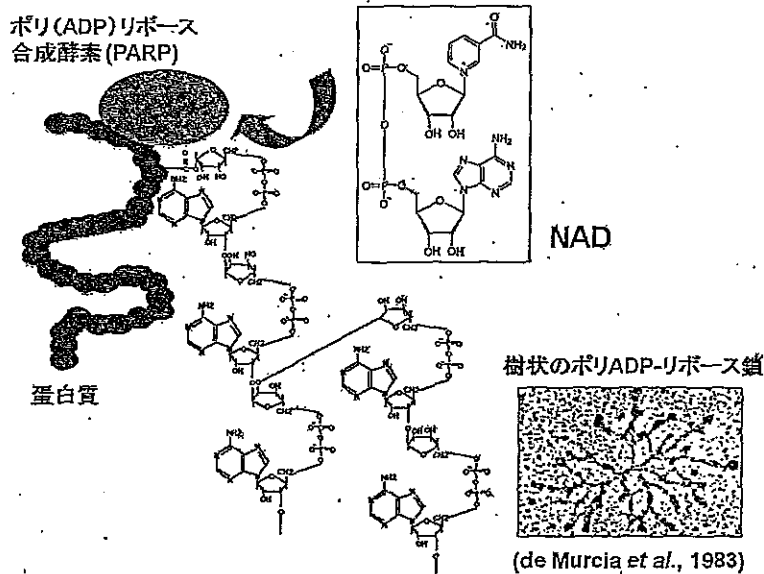


図1 蛋白質のポリADP-リボシル化反応

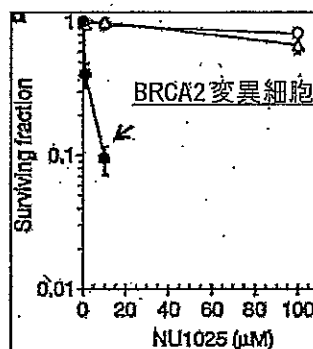
1982 年	東京大学医学部卒業
1990 年	同大学医学部第三内科助手
1991 年～1995 年	米国マサチューセッツ工科大学がん研究センター留学
1995 年	国立がんセンター研究所発がん研究部室長
1997 年	同生化学部部長
2007 年～	同研究所副所長
2008 年～	同研究所早期がん研究プロジェクトリーダー 併任
2009 年～	東京大学大学院医学系研究科連携教授 併任

が分かってきました。即ち、PARP が何らかの DNA の傷の修復に関わっていることが分かって来たのです。切断された DNA により活性化された PARP は、様々な核内の蛋白質に「ポリ ADP-リボース」を付加します。PARP は構造的に類似した 10 数個のファミリー遺伝子を有していますが、中でも、PARP-1 と PARP-2 の 2 種類の PARP が、「ポリ ADP-リボシル化反応」を担当する主要な酵素と考えられています。

これまでの 40 年以上にも亘る基礎研究の成果により、PARP は損傷を受けた DNA (ゲノム) の傷を修復する反応(「塩基除去修復 (BER) 」) を司ることが分かって来ました。PARP が、遺伝子変異などで機能的な障害を受けると、DNA の傷の修復能力に障害が生じることになります。このことから、PARP の異常とがん化との関連が示唆されるようになりました。

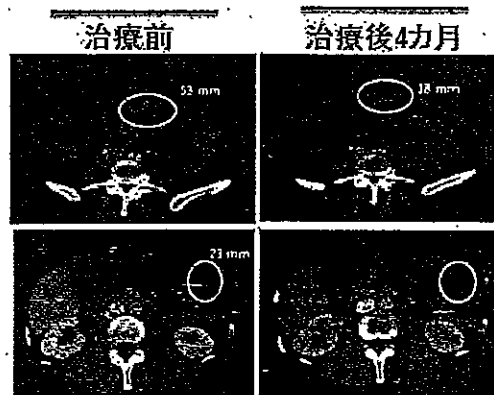
PARP と発がんとの関係について、その分子機構を解明しようと世界中の研究者が検討を続けてきました。基礎研究者の長年の努力にも関わらず、十分に納得できる明快な答えが得られないうでいましたが、2005 年になり衝撃的な論文がネイチャー誌に発表されました。その内容は、「遺伝性乳がんの原因遺伝子である BRCA2 遺伝子に変異を有する腫瘍細胞株では、PARP 阻害剤による細胞殺傷能力が飛躍的に亢進している」というものでした(図 2A)。2009 年には、BRCA1/2 の変異を持つ腫瘍に対して、PARP 阻害剤のみで劇的な効果を発揮することが報告されました(図 2B)。細胞のがん化における PARP-1 遺伝子の役割が未だ十分には解明されていない中で、その阻害剤の臨床的な有用性が正に壘を切ったように、一気に実証された訳であります。基礎研究者の想定を超えて、臨床展開

(A) BRCA2変異細胞に対する PARP阻害剤の細胞殺傷効果



(Bryant et al., Nature 2005)

(B) 抗がん剤とPARP阻害剤の併用による抗腫瘍効果



(Fong et al., N Engl J Med, 2009)

図 2 PARP 阻害剤の抗腫瘍効果

が飛躍的に達成された事例です。

生物学的な現象として、それまで十分な理解や統一的な見解が得られていなかったものが、正に目からウロコが落ちるように、急激な勢いで未解決なメカニズムの解明が進められて科学が飛躍的に前進した事例は、PARP以外にも数多くあります。例えば、班入りトウモロコシの研究で明らかにされた「ゲノム上で動く遺伝子(トランスポゾン)」の発見(マクリントック博士)や、慢性骨髄性白血病(CML)に特徴的なフィラデルフィア染色体(Ph1)が、CMLの病因であるBCR-ABL融合遺伝子形成の原因であることの発見(シュティーベルマン博士)などが挙げられます。何れもメカニズム解明までに相当な時間を要していますが、一旦原理が解明されると、閉じ込められていたガスが一気に膨張するような発展を遂げることになります。CML

では、BCR-ALBというがん特異的な蛋白質を標的としたグリベックという治療薬の開発が、画期的な治療効果をもたらしました(14ページ「講演4」を参照下さい)。

PARP阻害剤の併用による、「細胞殺傷効果の飛躍的な亢進」の原理としては、現在のところ以下の説明が考えられています。放射線照射などにより誘発されるDNAの傷に関しては、BRCA1/2やPARP-1などの、それぞれ役割の異なった複数の蛋白質が動員されることにより傷が修復されます(図3)。このとき動員される役者は、DNAの傷の種類によって異なるようですが、BRCA1/2或いはPARP-1単独では発生した傷を完全に修復することが出来ません。BRCA2(或いは、BRCA1)遺伝子の機能が完全に欠損している状態で、PARP阻害剤により別のルートによるDNA損傷の修復機能がブロックされる

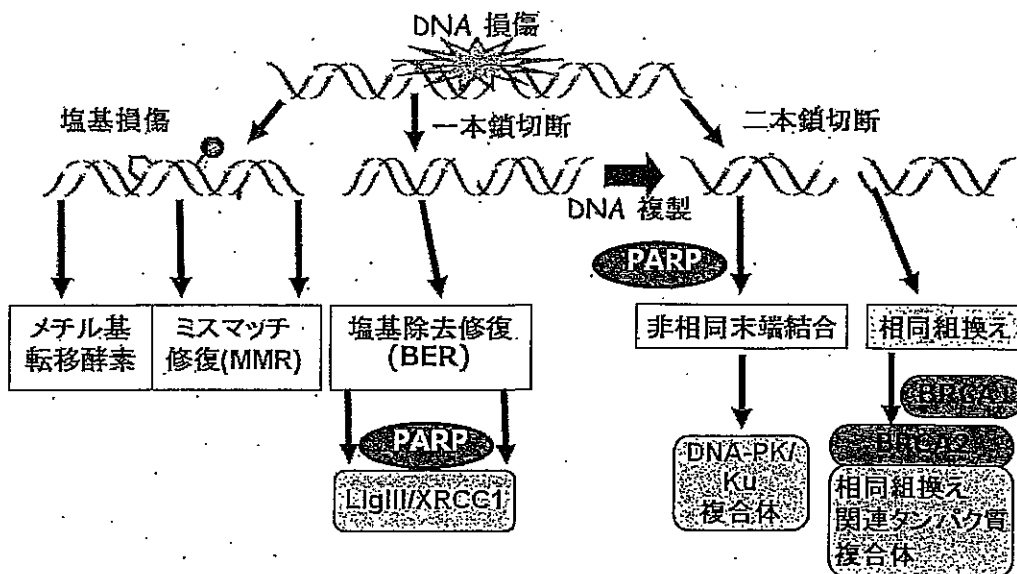


図3 PARPが関与するDNA修復経路

ことにより、DNAに生じた傷の修復が極端に低下することになると考えられています。現在、PARP阻害剤による臨床試験への応用に関しては、様々な修復関連因子の機能障害との関連性についての研究が世界中で進められていますが、その詳細な分子メカニズムについては、依然として未解決な問題が山積みされているのです。PARP及びPARP阻害剤のメカニズムの究明により、さらなる飛躍が期待される領域だと考えています。



## 多段階発がんに対する 病理学的解析の推移

落合淳志

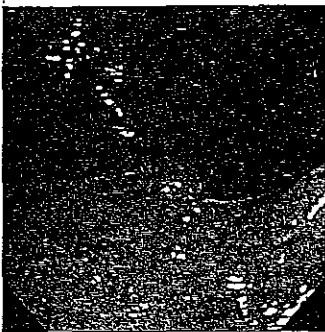
国立がんセンター東病院臨床腫瘍病理部長

がんはタバコや食物内の発がん物質への暴露や細菌やウイルス感染などにより、体の中の細胞を構成する遺伝子の変異や蛋白の発現異常をきたし、無秩序な増殖をするとともに、周囲組織や臓器を浸潤・破壊し、また血管やリンパ管を介して遠隔臓器やリンパ節へ転移し、最終的に宿主の死をもたらす。これら発がん・進展過程の分子機構には、多段階わたるゲノム、エピゲノムの変化をがん細胞は蓄積し、がん細胞の生存・増殖の亢進、周囲組織への破壊・浸潤、さらに血管・リンパ管を介した遠隔転移を来していることが明らかになってきた。

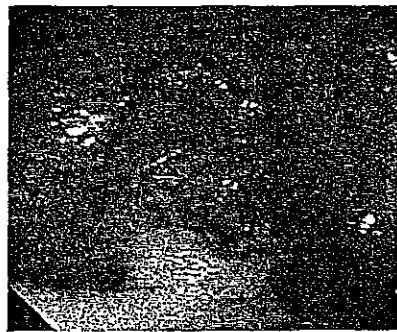
病理学的解析とは、形態学的に病変を観察することであり、これら多段階にわたる発がん過程解明の研究においても、がん進行の各段階の病理形態学的所見に対応する遺伝子や分子基盤が明らかになることが行われた。その結果、動物発がんのみならず、実際のヒトがん組織においても、多段階的な遺伝子や分子異常の蓄積が起こることにより進行していることが示されてきた。

大腸発がんの過程について示すと、粘膜に出

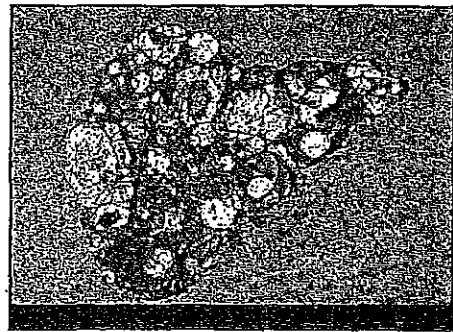
来る小型の腫瘍はほとんど良性腫瘍である腺腫である。形態学的にこれら腺腫は正常と同じような明瞭な腺管を形づくるが、次第に大きさを増すにつれて腺腫の一部に正常とは異なる異常細胞が異常な腺管を構成し増殖し始める像を見る。がんは粘膜内で増殖し（粘膜内がん）、一部で粘膜筋板を破壊し粘膜下層に浸潤を開始し、進行がんに至る。これらの変化に対応して、腺腫の形成には腫瘍抑制遺伝子である APC 遺伝子の変異が認められ、大型腺腫に至る過程で Ras 遺伝子、そして粘膜筋板を破壊し浸潤がんになるとときには p53 遺伝子にも変異が蓄積することが多い。がん進展過程の病理学的変化に伴い、がん遺伝子の活性化やがん抑制遺伝子の変異、エピジェネティックな機構による分子発現変化が積み重なり、がんが進展していくことが証明されてきた。一方、多数の微小病変の観察からは腺腫から起こる大腸がんとは別に、腺腫を全く伴わない微小ながんが存在することも病理形態学的解析により明らかになった。このような形態学的解析と多段階発がん機構については大腸がんだけでなく、肝がん、肺がん、胃がんな



大腸腺腫



大腸がん



大腸がん肝転移

1986年	広島大学大学院病理学終了
1987年～1988年	広島大学医学部第一病理学講師
1988年～1991年	西ドイツハノーバー医科大学実験病理招聘研究員
1991年～1998年	国立がんセンター研究所 病理部
1998年～現在	国立がんセンター東病院臨床開発センター臨床腫瘍病理部
2003年～現在	東京大学大学院新領域創成科学研究科連携講座

ど数多くのがんにおいて明らかになっている。

また、がん組織の生物学および形態学的特徴はがん浸潤である。病理学的にはがん浸潤部ではがん細胞の胞巣から解離して個々に小さながん細胞の小集団を形成しながら強い間質組織内に浸潤する像が認められる。これらの現象は上皮性であるがん細胞が形態学的に間質細胞様の性質を来しているだけでなく、細胞生物学的にも間質細胞と同じ形質を示すことより、上皮-間葉移行 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) と呼ばれる。このがんに特徴的な浸潤過程においても、病理形態学的解析により、EMTが起こるがんは予後が悪く、転移を来しやすいことが示されている。またEMTが起こっている部位においては、形態学的にも確認できるが、がん細胞における上皮細胞間の接着分子であるEカドヘリン細胞接着機構は、様々な分子変化により機能の低下が引き起されると同時に上皮細胞由来のがん細胞において間質細胞の形質が発現していることが明らかになってきた。また、がん浸潤部におけるがん細胞の間では特徴的の一つに、浸潤部には様々な量の間

質線維芽細胞が存在していることが知られている。この特徴的な線維芽細胞は、正常組織の線維芽細胞と形態学的にも異なり、形質的には $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$  SMA)陽性の線維芽細胞からなる。これら特徴的な線維芽細胞の起源は、一部は骨髄細胞由来であり、これら細胞が、がん細胞の生存や増殖に重要な役割を果たすことが、動物モデルや実際の患者血組織を用いて明らかになりつつある。

病理学的解析をがん研究に用いることによって、がん発生進展の分子基盤の研究を進めるだけでなく、その特徴的な病理形態像を検出する新技術の開発により、新しい診断技術の開発も進められる。また、基礎研究で明らかになった分子機構を、がん組織において確認することが出来るだけでなく、新たながん分子病態をがんの病態とそれに対応する特徴的病理形態の分子機構を研究することにより、個々のがん患者に起こっている、病態の分子基盤の詳細を明らかにし、個々のがん患者に対応する新しい治療法の開発を目指すことが可能になると考えられる。