

神経疾患・腫瘍の統合分子医学

田中章景, 祖父江元

神経変性と腫瘍は、細胞の運命という点においては各々、消失、増殖という正反対の病態であるが、多くの共通分子機構が関与していることが明らかになりつつある。本稿では、21世紀COEプログラム「神経疾患・腫瘍の統合分子医学の拠点形成」の下、生み出されたいくつかの成果を紹介したい。一つは運動ニューロン疾患である球脊髄性筋萎縮症に、抗がん剤として使用または開発されているLH-RHアゴニストのリユプロレリンおよびheat shock protein (Hsp) 90阻害剤の17-AAGが有効であることを証明した研究について概説する。次に、Akt/PKBの新規基質Girdinの発見による細胞遊走、腫瘍浸潤のメカニズム、Akt/PKBの基質であるGSK-3 β によるリン酸化調節を経てCRMP-2が神経細胞の極性を調節するメカニズムについてもふれたい。最後に、成長因子ミッドカインが神経疾患、腫瘍の両者の分子病態に深く関わることについて述べる。

1. はじめに

神経変性は、神経細胞の機能が障害され最終的に神経細胞変性、神経細胞死へと連なる病態であるのに対し、悪性腫瘍はコントロール不能となった細胞の異常増殖を基盤としており、両者は細胞の運命という観点からは消失と増殖という全く正反対の病態である。また、両者に関連する疾患もそれらの表現型が全く異なることより、神経変性、分化、再生の研究者と悪性腫瘍の研究者は概ね独立した環境の下で研究活動を進めてきた。

しかし、近年の分子生物学の進歩により各々の病態の分子機構が明らかになるに従い、両者の病態に関与する分子が少なからずオーバーラップしていることが明らかになってきた。例えば、アポトーシス関連分子は神経疾患においても悪性腫瘍においても共通にそれらの病態に関わる重要な分子である。神経疾患研究者にとってアポトーシスおよびそれを促進する分子は“悪者”であり、いかに神経細胞

のアポトーシスを防止し神経変性疾患を治療するかがテーマである一方、悪性腫瘍研究者にとってはアポトーシス関連分子は“良者”であり、いかに腫瘍細胞のアポトーシスを促進するかが重要なテーマとなる。このような研究過程において、アポトーシスのメカニズムは両者の研究者にとって不可欠な共通知識、また共通の研究対象となる。

そこで、このような両病態に共通して関わる分子を中心に神経疾患と悪性腫瘍の研究を統合的に行うことは非常に効率的であると考えられる。それにより、神経疾患の病態解明や治療法開発に悪性腫瘍研究の成果を応用する、また逆もしかりという発想が生まれてきた。このような発想に基づき、我々は21世紀COEプログラム「神経疾患・腫瘍の統合分子医学拠点形成」の下、名古屋大学内17講座の神経疾患研究者、悪性腫瘍研究者、基礎医学研究者、臨床医学研究者の交流を通じて、この統合的研究を推進してきた¹⁾。本稿では、これらの一部を紹介することにより、神経疾患・腫瘍の統合分子医学の意義について概説する。

2. 球脊髄性筋萎縮症の病態解明と治療法開発

球脊髄性筋萎縮症 (spinal and bulbar muscular atrophy: SBMA, Kennedy-Alter-Sung 病) は伴性劣性遺伝形式をとる遺伝性疾患であり、通常30~50歳頃に男性のみに発病し緩徐に進行する下位運動ニューロン疾患である²⁻⁶⁾。女性キャリアは通常、無症状であり⁷⁾、日本には約2,000人

名古屋大学大学院医学系研究科・神経内科学 (〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65)

Integrated molecular medicine for neuronal and neoplastic disorders

Fumiaki Tanaka and Gen Sobue (Department of Neurology, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan)

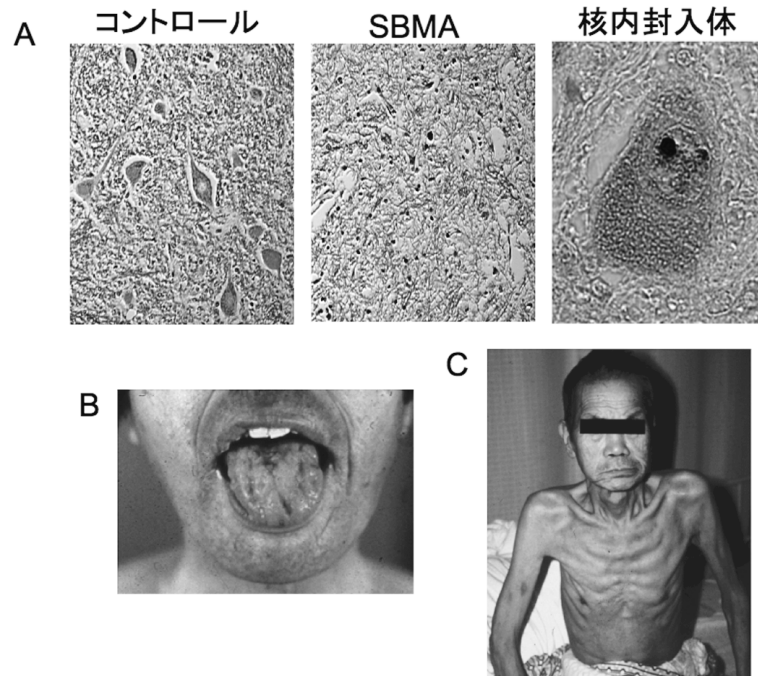


図1 球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) の病理と臨床

(A) 脊髄前角運動ニューロンは、コントロールに比べて SBMA において変性、脱落がみられる。また、SBMA の残存運動ニューロンには核内封入体が見られる。(B) SBMA 患者にみられる舌萎縮。(C) SBMA 患者では近位筋優位の四肢筋萎縮、呼吸筋萎縮がみられる。

程度の患者が存在すると考えられている。病理学的には、脊髄前角 (図 1A) や顔面神経核、舌下神経核の神経細胞の変性、脱落が認められ³⁾、残存する神経細胞には核内封入体を認める (図 1A)⁸⁾。これに対応して、臨床的には下位運動ニューロン症候である顔面、舌、四肢近位部優位の筋萎縮および筋力低下が主症状となる (図 1B, C)²⁻⁶⁾。また、進行に伴い嚥下障害や呼吸機能の低下をきたし、女性化乳房、睾丸萎縮、女性様皮膚変化などの軽度のアンドロゲン不全症候を伴うことがある。

このため、この疾患はアンドロゲン受容体遺伝子の異常が想定されていたが、実際、1991年にアンドロゲン受容体遺伝子第1エキソンのCAG繰り返し配列数が、健常者では5-33であるのに対して、患者では40-62と異常延長^{9,10)}していることが明らかとなった。比較的まれなこの疾患が大きく注目されるようになったのは、これ以後、次々と原因遺伝子内の翻訳領域内に存在するCAGリピートが異常延長する疾患が発見されたことによる。これらは、CAGがコードするアミノ酸であるグルタミンに因み、ポリグルタミン病と総称されている。これまで、脊髄小脳失調症 (spinocerebellar ataxia: SCA) 1型¹¹⁾、2型^{12,13)}、3型¹⁴⁾、6型¹⁵⁾、7型¹⁶⁾、17型¹⁷⁾、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症 (dentato-rubral pallido-luysian atrophy: DRPLA)^{18,19)}、ハンチントン舞踏病²⁰⁾がポリグルタミン病と判明している。また、全ポリグルタミン病を合わせた患者数は相当数

にのぼり²¹⁾、日常の神経内科臨床領域でも高頻度に診察の機会があるため、遺伝性神経変性疾患の中で重要な位置を占めるに至っている。これらの病態解明は、はるかに多くの患者数を有する運動ニューロン疾患である孤発性筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS)²²⁾や孤発性脊髄小脳失調症の病態解明にも何らかの寄与が期待されている。

ポリグルタミン病は原因遺伝子や臨床症状は様々であるものの、それらの病態には多くの共通点が存在すると考えられる。異常延長CAGリピートの複製時の不安定性に基づく体細胞モザイク現象^{23,24)}、CAGリピート数と、発症年齢や年齢補正した疾患重症度との間の負の相関²⁵⁻²⁷⁾などが明らかとなっている。また、ほとんどのポリグルタミン病において、異常延長したポリグルタミン鎖を持つ変異タンパク質が神経細胞さらに一般臓器の細胞の核内に封入体を形成してくるという所見を呈し (図 1A)^{8,28)}、病理学的な特徴となっている。封入体の存在自体が神経細胞にtoxicに作用するかどうかについては様々な議論があるが²⁹⁾、正常なタンパク質の折り畳みが行われずミスフォールドされたままの異常延長ポリグルタミン鎖が核内に移行することにより、神経細胞機能障害やそれに引き続く神経細胞死が惹起される^{30,31)}。

我々は、SBMAの病態解明と治療法開発を目的に疾患モデルマウスを作成した^{32,33)}。コントロールマウスとして

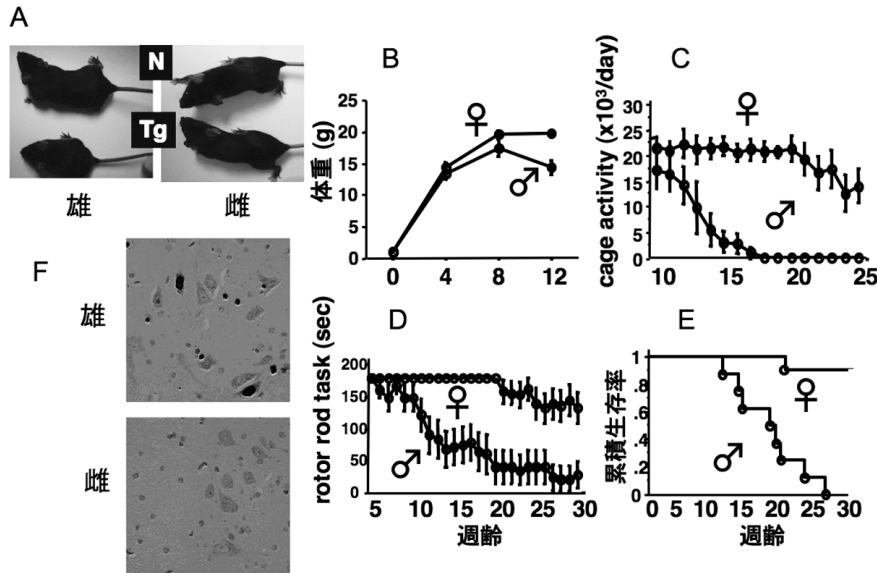


図2 SBMA モデルマウスにみられる性差

(A)異常延長97CAGリピートを持つSBMAトランスジェニックマウス(Tg)では、雌に比べて雄の体格は明らかに小さい。(B)体重、(C)cage activity、(D)rotor rod task、(E)生存率ともに雄において顕著な表現型を示す。(F)残存脊髄前角運動ニューロンの変異アンドロゲンレセプターの核内局在、核内封入体は雄のみにみられる。

正常CAGリピート数の24リピート、モデルマウスとして異常延長CAGリピート数の97リピートを有するヒトアンドロゲンレセプター全長cDNAをサイトメガロウイルスエンハンサーとchicken β -actinプロモーターによるコントロール下に発現したトランスジェニックマウスを作成した³³⁾。24リピートのコントロールマウスではSBMAの表現型は示さないが、97リピートのトランスジェニックモデルマウスでは、進行性の運動機能障害が特に雄のマウスにおいてのみ認められた(図2A, B, C, D, E)。また、残存脊髄前角運動ニューロンの変異アンドロゲンレセプターの核内局在、核内封入体も雄のみにみられ、雌にはみられなかった(図2F)。このように、このモデルマウスは神経症状、病理所見ともにヒトと同様の性差を反映するものとなった。

ステロイドホルモンレセプターであるアンドロゲンレセプターは、リガンドであるテストステロンと結合することによって核内へ移行することが知られている³⁴⁾。また、異常延長ポリグルタミン鎖を持つアンドロゲンレセプターの核内移行が細胞毒性を引き起こすことや症状発現の性差を考え合わせると、テストステロンの存在自体がこの疾患の発現にとって大きな意味を持つことが想定される。そこで、雄のAR-97Qマウスに去勢手術を施行したところ、変異アンドロゲンレセプターの核内局在をはじめとする病理所見および症状の劇的改善を認めた³³⁾。一方、雌にテストステロンを投与したところ、症状の悪化が認められた³³⁾。すなわち、大量に存在する血清テストステロンがSBMAの表現型に不可欠であることが証明された。

このようなアンドロゲンレセプターにおけるリガンド依存性の病態は、興味深いことに悪性腫瘍、すなわち前立腺がんでも広く知られている³⁵⁾。男性ホルモン依存性臓器である前立腺は、去勢により萎縮し前立腺がん自体も退縮が見られる。前立腺がんにおいては抗男性ホルモン療法として、去勢³⁶⁾以外に、LH-RH (lutening hormone-releasing hormone) アゴニストのリュープロレリン (leuprorelin) 注射³⁷⁾や抗男性ホルモン剤(ステロイド性の酢酸クロルマジノン、非ステロイド性のフルタマイド (flutamide)³⁸⁾)の経口投与がすでに臨床現場において使用されている。そこで、我々は将来的なヒトへ応用可能な治療法を念頭に置き、侵襲的な去勢療法に代わり、リュープロレリンおよびフルタマイドの効果をSBMAモデルマウスにおいて確認した³⁹⁾。LH-RHアゴニスト(リュープロレリン)は、LH-RH(性腺刺激ホルモン放出ホルモン)が下垂体に存在する受容体に結合するのを阻害し、下垂体からのLH(性腺刺激ホルモン)分泌を抑制することにより精巣からのテストステロン分泌を抑制する⁴⁰⁾。リュープロレリンを雄SBMAトランスジェニックマウスに投与したところ、前立腺および精囊の重量減少(図3A)、血清テストステロンレベルの低下(図3B)とともに、マウス体格(図3C)、歩行状態(図3D)、運動機能(図4A, C)、体重(図4B)、生存率(図4D)に顕著な改善を認め、去勢療法と同等の極めて優れた治療効果を示した。一方、フルタマイドはアンドロゲンレセプター自体の核内移行は抑制しないため治療効果は得られなかった³⁹⁾。

これらの結果から、我々はリュープロレリンの臨床治験

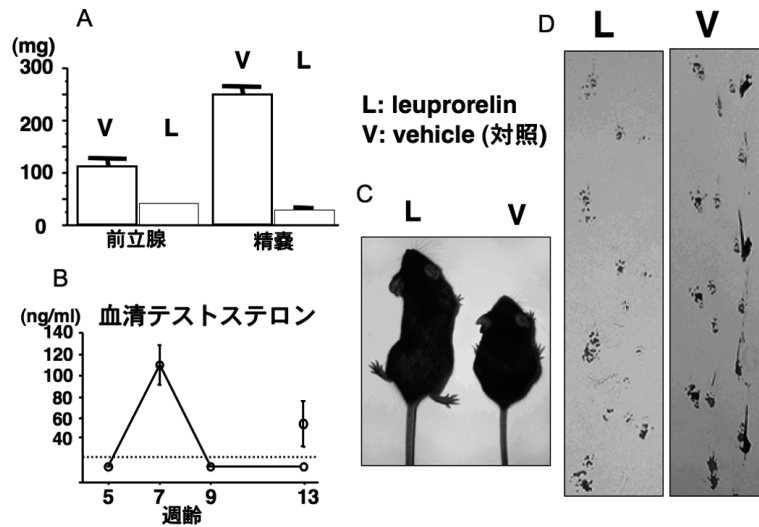


図3 SBMAモデルマウスに対するLH-RH agonist (リュープロレリン) 投与の効果(1)

(A)リュープロレリン投与(L)による前立腺、精嚢の重量減少、(B)血清テストステロンレベルの低下は去勢と同程度の効果を有する。(C)リュープロレリン投与(L)により、対照(V)と比較してSBMAトランスジェニックマウスの体格、筋萎縮、(D)歩行状態は顕著に改善する。

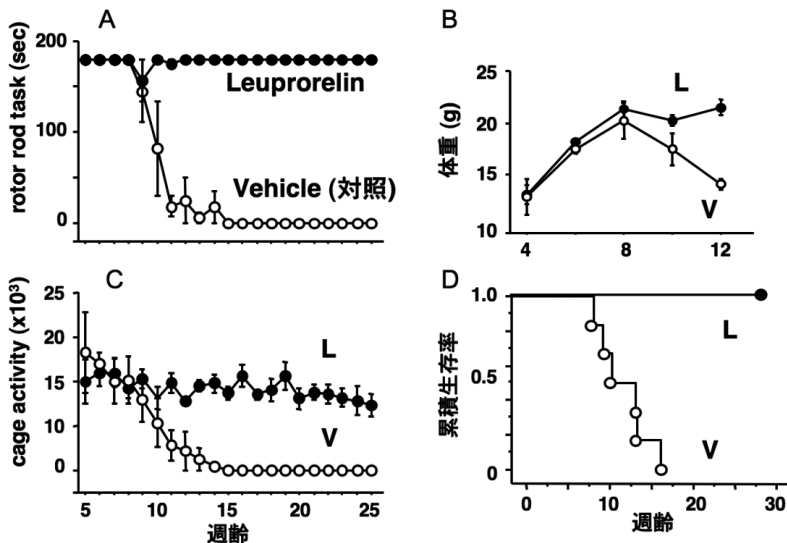


図4 SBMAモデルマウスに対するLH-RH agonist (リュープロレリン) 投与の効果(2)

(A)リュープロレリン投与により、rotor rod taskにおける運動機能の改善、(B)体重減少の抑制、(C)cage activityの改善、および(D)生存率の顕著な改善を示す。

を開始し、第Ⅱ相試験においてプラセボ投与群に比し、有意な血清テストステロンレベルの低下、血清クレアチンキナーゼ値の低下、嚥下造影における各種パラメーターの改善、陰嚢皮膚生検における変異アンドロゲンレセプターの核内集積の低下⁴¹⁾の結果を得た。まもなく、第Ⅲ相二重盲検比較試験を開始予定である。

3. Heat Shock Protein 90 (Hsp90) を共通病態関連分子とする「球脊髄性筋萎縮症」と「各種のがん」

熱ショックタンパク質 (heat shock protein: Hsp) は高温をはじめとする細胞ストレスにより惹起される一群のタンパク質分子である⁴²⁻⁴⁴⁾。Hspsはタンパク質合成にあたり生理的な立体構造に折り畳む働きを有し、同時に細胞内で

非生理的な立体構造になった変性タンパク質を再折り畳みにより修復する。こういった機能から Hsps は分子シャペロンとも呼ばれている⁴²⁾。Hsps は種々の腫瘍において高発現を呈し予後不良、治療抵抗性の因子となることが知られている。例えば、白血病では急性骨髄性白血病 (acute myeloid leukemia (AML)) 細胞や急性リンパ球性白血病 (acute lymphoblastic leukemia (ALL)) 細胞において高度な発現が報告されている⁴⁵⁾。逆に、白血病の完全緩解率は、その腫瘍細胞における Hsps の発現が低い患者において高い⁴⁵⁾。腫瘍細胞における Hsps の転写増加は p53 機能の喪失や、プロトオンコジーンである HER2, c-Myc の高発現に起因しており^{44,46)}、自律的な細胞増殖を促進し細胞死経路を抑制することにより腫瘍増殖過程に重要な役目をはたしている。このことから、Hsps は合理的な抗がん剤デザインのターゲットとなっている。

このうち Hsp90 は他の分子シャペロン (Hsp70, Hop, p23, p50 など) とともに複合体を形成しているが、それ自体は他の分子シャペロンと異なり一般的なタンパク質折り畳みには参加せず、代わりにがんの自律的増殖に関わる

多くのキーとなるシグナル分子をクライアントプロテインとして相互作用している⁴⁷⁻⁵⁰⁾。クライアントプロテインのうち HER-2 はその過剰発現が前立腺を含むいくつかのがんの予後不良因子として知られているプロトオンコジーンである⁵¹⁾。Hsp90 は HER2 そのものの安定や活性に重要であるとともにその下流タンパク質、すなわち、Akt, c-Src, Raf-1 といった細胞の成長と生存に関わる分子の安定や活性にも重要な働きを有している⁵²⁾。このような腫瘍増殖に関わる Hsp90 のクライアントプロテインは Hsp90 の阻害によってクライアントプロテイン-Hsp90 複合体の構造変化を経てユビキチン・プロテアソーム系での分解を起し (図 5A), G1 アレストによる腫瘍増殖の抑制, アポトーシスの活性化を通じて、がん抑制に働く⁵¹⁾。特に Hsp90 の ATPase ドメインは抗がん剤のターゲットと考えられるようになってきており⁵³⁾、ATPase ドメインのユニークな構造のため、抗生物質の ansamycin family により選択的にブロックすることができる。17-Allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) は最も古典的な Hsp90 阻害剤である ansamycin family 抗生物質 geldanamycin (GA)

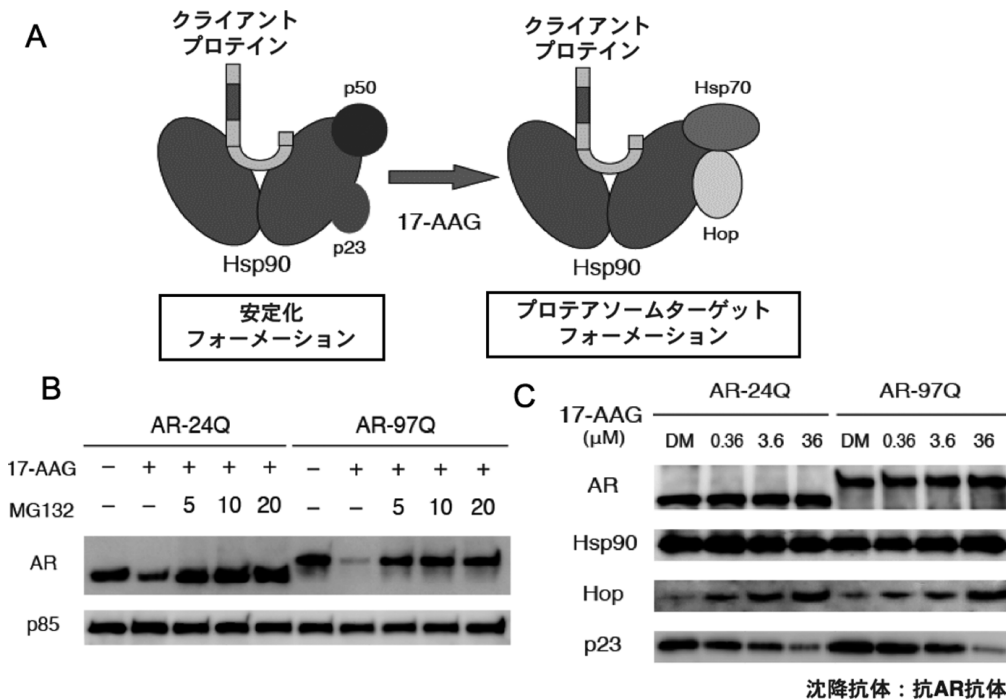


図 5 17-AAG 投与による Hsp90 複合体の構造変化とクライアントプロテインであるアンドロゲンレセプター (AR) の分解

(A) Hsp90 複合体は、安定化フォーメーションではクライアントプロテインの他、p50 や p23 を結合した構造をとっている。Hsp90 阻害剤の 17-AAG を加えることにより、Hsp70 や Hop を結合したプロテアソームターゲットフォーメーションに変化し、ユビキチンプロテアソーム系の作用によりクライアントプロテインの分解を促進する。(B) SBMA 培養細胞モデルにおいて、17-AAG 投与により AR24Q, AR97Q とともに AR の分解効果がみられるが、その効果は変異タンパク質である AR97Q においてはるかに高い。また、その効果はプロテアソーム阻害剤 MG132 により相殺される。(C) 免疫沈降法にて 17-AAG 投与による AR-Hsp90 複合体の構造変化を検討した。AR の分解が生じる前の投与 30 分後から、濃度依存性に複合体への Hop の結合と p23 の解離がみられ、(A) に示すようなプロテアソームターゲットフォーメーションへ変化していることが確認された。

の誘導体であるが、GAに認められる肝腎毒性を大幅に抑えながら、ほぼ同等の薬理効果を有する優れた誘導体である。白血病、前立腺がん、多発性骨髄腫など複数のがんについて、欧米において第1相、さらには第2相臨床試験が行われている⁵⁴。Hsp90阻害剤の特徴は、複数のがん原クライアントタンパク質を破壊することができるため同時に複数の発がん経路をブロックできるという点にある⁵⁴。また、がん細胞由来のHsp90は正常細胞由来のものに比して100倍以上強固に17-AAGに結合する⁵⁵という特徴を有するためその薬剤効果は腫瘍細胞に対して高い選択性を示す。

前立腺がんに関しては、ほとんどの患者は前述のような外科的または化学的アンドロゲン除去といったホルモン療法に反応するが、その多くが最終的にはホルモン療法抵抗性に陥るという問題点がある⁵⁶。これは、多くのホルモン非依存性前立腺がんにおけるアンドロゲンレセプターの発現自体が腫瘍成長と生存に重要であることに起因す

る⁵⁶。実際にリボザイムによるアンドロゲンレセプターmRNA破壊や抗アンドロゲンレセプター抗体の細胞内注入により、アンドロゲンレセプターが発現しているホルモン依存性、ホルモン抵抗性前立腺がん細胞株の*in vitro*での成長が抑制される⁵⁷。またHER-2の発現は、ホルモン非依存性アンドロゲンレセプターの活性化と関係しており、アンドロゲン非依存性細胞株であるLAPC-4前立腺がん細胞では、アンドロゲン依存性細胞に比してHER-2が高いレベルで発現している⁵⁸。このような細胞株において17-AAGはクライアントタンパク質であるHER-2やその下流に位置するAktを分解⁵⁹することにより成長を阻害する。

一方、SBMAにおいては上述のようにホルモン療法は有効であるが、性機能障害といった副作用の問題があり、さらに他のポリグルタミン病の治療へは応用できないという欠点を有する。我々は、アンドロゲンレセプター (AR) が、その安定化と機能発現にHsp90の働きを必須とする

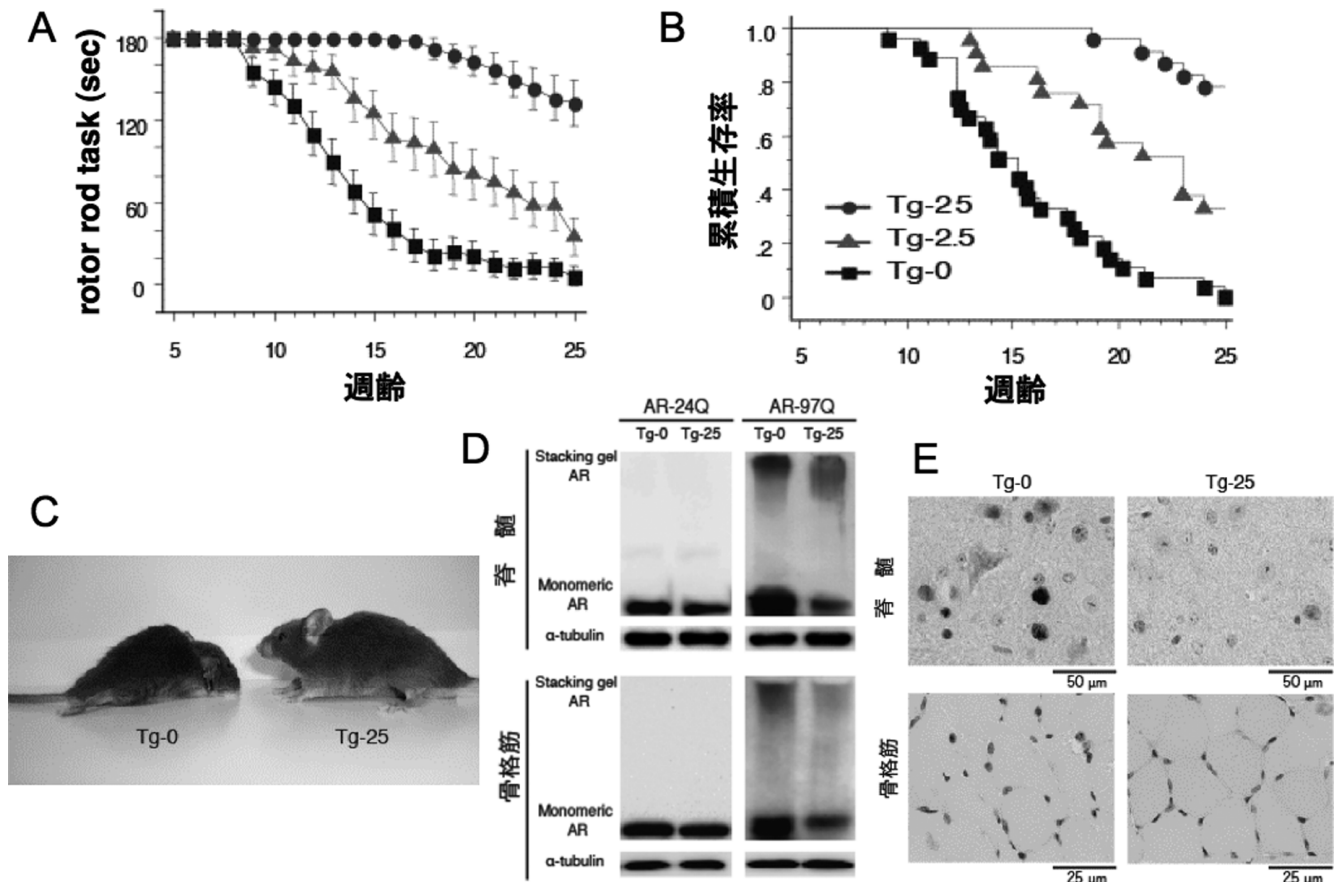


図6 SBMAモデルマウスに対する17-AAG投与の効果

(A) Tg-2.5 (17-AAG: 2.5mg/kg), Tg-25 (17-AAG: 25mg/kg) は、rotor rod taskによる運動機能、(B)生存率とも、Tg-0 (DMSOのみ)に比べ有意な改善がみられる。(C)対照群 (Tg-0)のマウスでは著明な四肢・体幹の筋萎縮を呈しているが、治療群 (Tg-25)の体格はほぼ健常マウスに近い。(D)ウエスタンブロットによる脊髄、骨格筋におけるアンドロゲンレセプター (AR) 発現量の検討。17-AAG投与マウスではモノマーのみでなく、スタッキングゲル内のタンパク複合体においてもARの減少効果がみられる。この効果はAR24Qマウスと比較してAR97Qマウスにおいて高い。(E)異常延長ポリグルタミン鎖を特異的に認識する1C2抗体を用いた脊髄、骨格筋の免疫染色。17-AAG投与により核内がびまん性に染色される1C2陽性細胞数が有意に減少している。

クライアントプロテインである⁴⁷⁾ことに注目し、17-AAGの薬理効果をSBMA培養細胞モデルおよびマウスモデルにて検討した⁶⁰⁾。正常長(AR24Q)又は異常延長したポリグルタミン鎖(AR97Q)を一過性過剰発現するSBMA培養細胞(SH-SY5Y)モデルでは、17-AAG投与により双方のリピート数のARの分解効果を認めたが、その効果はリピート数が異常延長したAR97Qで強くみられた(図5B)。また、17-AAGによる分解効果はプロテアソーム阻害剤であるMG132併用により相殺されることから、これはユビキチンプロテアソーム系の作用によるものと考えられた(図5A, B)。免疫沈降法にてAR-Hsp90複合体の変化(図5A)を検討したが、17-AAGにより濃度依存性にHopの結合と、p23の解離が認められた(図5C)。このことは、17-AAGがAR-Hsp90複合体の構造変化を惹起することによりARの分解を引き起こしていることを意味している。

次に、前述のSBMAマウスモデルへの17-AAGの投与を行った。治療群であるTg-2.5(17-AAG:2.5mg/kg)、Tg-25(17-AAG:25mg/kg)は、運動機能(rotor rod task)(図6A)、生存率(図6B)とも対照群のTg-0(DMSOのみ)に比べ有意に改善した。また対照群(Tg-0)で著明な四肢・体幹の筋萎縮を呈しているのに対し、治療群(Tg-25)ではほぼ健常マウスに近い体格を保っている(図6C)。マウスモデルにおけるARの発現量は、ウエスタンブロット上、脊髄、骨格筋の双方でモノマーのみでなく、スタッキングゲル内のタンパク複合体においても有意に減少していた(図6D)。この減少効果はAR24Qマウスと比較して有意にAR97Qマウスにおいて高かった(図6D)。異常延長したポリグルタミンを特異的に認識する1C2抗体を用いた免疫染色にて病理学的検索を行ったところ、17-AAG投与群では核内がびまん性に染色される1C2陽性細胞数が有意に減少していた(図6E)。SBMAなどのポリグルタミン病をはじめ、病的タンパク質が蓄積し神経細胞死をもたらす現象は、神経変性疾患全般に共通した病態の一つである。17-AAGはSBMAマウスモデルにおいて毒性が顕著とならない投与量で、十分な治療効果を発揮しており、他の神経変性疾患にも応用可能な分子標的治療薬の一つになりうると思われる。

4. 共通分子Akt/PKBの新規下流シグナル発見による腫瘍浸潤および神経細胞の軸索伸長機序解明

細胞遊走は胚形態形成や組織修復、組織再生、動脈硬化、免疫疾患に関与すると同時に、がんの進行、浸潤にも深く関与している⁶¹⁾。細胞遊走においては、epidermal growth factor(EGF)のような成長因子をはじめとする細胞外からの様々な刺激が誘発因子となり、その下流の複雑なシグナルカスケードが動き、真核細胞においてはアクチン細胞骨格系の動的な再編成が生じることにより細胞形態

形成や細胞遊走に必要な推進力が生み出されることが知られている。しかし、このシグナルカスケードの詳細については明らかになっていない。このうち、Akt/PKBはclass I phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K)やtumor suppressor protein PTENといった制御因子⁶²⁾の下流で活性化されるセリンスレオニンキナーゼであり、細胞遊走の他、細胞生存や成長、軸索形成や軸索伸長といった神経細胞の極性にも重要な働きをすることが知られている(図7)⁶³⁾。活性化されたAkt/PKBが過剰発現した状態では線維芽細胞、線維肉腫細胞、血管内皮細胞において細胞遊走が促進され、悪性腫瘍の立場からはAkt/PKBの高発現を示すがんはより浸潤、転移しやすく予後も不良⁶⁴⁾であることが知られている。このAkt/PKBとアクチン細胞骨格系の関連は不明であったが、21世紀COEプロジェクトの下、これを明らかにする分子としてAkt/PKBの新規基質であるGirdin(girders of actin filament)/APE(Aktphosphorylation enhancer)がEnomoto, Takahashiらにより同定された⁶⁵⁾。Girdinはユビキタスに発現し、ストレスファイバーやラメリポディアの形成に重要であると同時に、アクチン結合タンパク質でありアクチンフィラメントの架橋への役割を有することが明らかとなった⁶⁵⁾。Akt/PKBはGirdinの1,416番目のセリンをリン酸化し、リン酸化されたGirdinは遊走細胞の先端に集積し、Girdinと細胞膜が共同してラメリポディアの形成に関わる。この1,416番目のセリンをアラニンに置き換えると、ラメリポディアの形成が阻害され細胞遊走も障害され

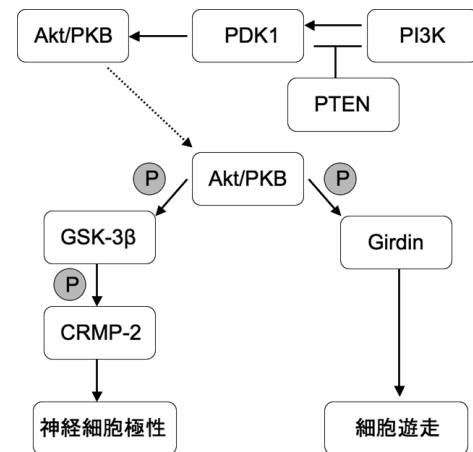


図7 Akt/PKBの下流シグナルは神経細胞極性、細胞遊走の両者に重要である

Akt/PKBはclass I phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K)やtumor suppressor protein PTENといった制御因子の下流で活性化されるセリンスレオニンキナーゼである。Akt/PKBによりGSK-3βがリン酸化されるとGSK-3βは不活性型となり、その基質CRMP-2はリン酸化されず活性型となり、チューブリンとの結合により微小管重合を促進し軸索伸長や軸索形成といった神経細胞極性に働く。一方、Akt/PKBのもう一つの新規基質であるGirdinは、リン酸化によりアクチンに結合しアクチン細胞骨格系の動的な再編成が生じ細胞遊走へと働く。

ることより、アクチン細胞骨格の再編成にはGirdinの部位選択的なリン酸化が重要であることが示されている⁶⁵。また、Girdinのノックダウンでも同様に細胞遊走は阻害される。

このように、Akt/PKBはGirdinを介して細胞遊走、すなわち、悪性腫瘍の浸潤、転移に関わっていることが明らかになったわけだが、一方でAkt/PKBは神経細胞においては軸索形成や軸索伸長において重要な役割を果たしている分子でもある。また、collapsin response mediator protein-2 (CRMP-2)も海馬神経細胞の軸索形成や軸索伸長に重要な役割を担う⁶⁶⁻⁶⁸ことがわかっていたが、軸索形成時にどのようにCRMP-2が制御されているのかは不明であった。Yoshimura, Kaibuchiらは、CRMP-2がGSK-3 β の新規基質であることを発見することにより、Akt/PKBからCRMP-2のブラックボックスを埋めることに成功した(図7)⁶⁹。CRMP-2はAkt/PKBの基質であるGSK-3 β によってリン酸化されるアミノ酸のコンセンサス配列を有しており、リン酸化されることにより不活性化する。すなわち、Akt/PKBが活性化することによりGSK-3 β のリン酸化が生じるとGSK-3 β は不活性型となるため、GSK-3 β によるCRMP-2のリン酸化が起こらないためCRMP-2は活性型となり、チューブリンとの結合により微小管の重合を促進し、軸索伸長や軸索形成の方向に働くわけである。Akt/PKBの下流分子を新たに同定し、Akt-Girdin経路が細胞遊走、すなわち悪性腫瘍の転移、浸潤に、Akt-GSK-3 β -CRMP-2経路が神経細胞の軸索伸長、形成に働くことを見いだした(図7)ことも神経疾患・腫瘍の統合分子医学の典型的な成果と言える。

5. ミッドカインを標的分子とする悪性腫瘍、神経疾患の病態解明、治療法開発

ミッドカイン(MK)は線溶系の亢進、細胞増殖、血管新生、細胞遊走、抗アポトーシス作用といった多様な作用を有する成長因子である⁷⁰。がんでは早期から強い発現を示し、これはヒト大腸がんの前がん病変である腺腫、ヒト前立腺がん、ラット肺がんなどの前がん病変で確かめられている⁷¹。がんに進展すると組織型によらず広範な種類のがんでMKは強く発現し⁷²、神経芽腫、膀胱がん、グリオーマではその発現量が多いほど予後が悪化することが知られている。また、MKは分泌タンパク質であるため血清中のレベルを測定可能であり、初期がんの患者での上昇、および予後の悪いがんの患者での高値より腫瘍マーカーとしての有用性が高い。特に神経芽腫では血中MKレベルが高いと予後が悪いことが報告されている⁷³。このように、MKはがん細胞の生存と移動を促進し、血管新生を促し、がんの進展を助けると考えられているため、治療的観点からは分子標的治療としてその発現を抑制する方法がと

られる。マウス大腸がん細胞CMT93にMKアンチセンスオリゴヌクレオチド(ODN)を導入してヌードマウス皮下に移植すると腫瘍増殖は抑制される。また、皮下腫瘍にMKアンチセンスODNを局所注射することによっても顕著な腫瘍抑制効果が得られる⁷⁴。さらに、MKのがん細胞特異的な発現を利用し、MKのプロモーターの下流にチミジンキナーゼ遺伝子などの自殺遺伝子を入れることによりがん細胞特異的な細胞死を誘導できる⁷⁵。

このようにがんという観点から見た場合、治療法開発の重要な分子標的である一方、MKは神経疾患においても重要な役割を果たしている。脳梗塞巣の周囲においては、反応性アストロサイトが出現するよりも早い時期にMKの発現が生じることが知られている。MKには抗アポトーシス作用があり、これががんの進展に重要な役割を果たすわけであるが、逆に梗塞巣周囲ではこの作用により細胞保護的に働いていると考えられる。実際に、脳室内へのMKタンパク質の投与⁷⁶やアデノウイルスによるMK発現ベクター⁷⁷は、虚血性神経細胞死の予防および治療に効果を発揮する。また、白色光連続照射による網膜神経細胞変性を眼球内MK投与が予防するという報告もあり、神経疾患においては、がんの場合とは逆にMKの発現を誘導することが治療上の戦略となりうる。また、MKはアルツハイマー病の老人斑⁷⁸や多系統萎縮症のグリア細胞質封入体に沈着することも知られており⁷⁹、神経変性疾患の病態形成に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。

おわりに

神経疾患と悪性腫瘍の両病態に共通して関わる分子を中心に、21世紀COEプログラムにおける成果の一部を概説した。神経疾患と悪性腫瘍は、その表現型を見る限り全く異なる疾患ではあるが、分子病態レベルにおいては非常に多くの共通点が存在する。このため、治療戦略上、上述のようなリユプロレリンや17-AAGのように、神経疾患にも悪性腫瘍にも共通の戦略が使える場合もあるし、ミッドカインのように、神経疾患と悪性腫瘍で正反対の戦略が有効な場合がある。今後も、神経疾患研究者と悪性腫瘍研究者間のクロストークを進めることにより、より効率的にこれら疾患の病態解明、治療法開発が進むことが期待される。

謝辞

本稿は、名古屋大学医学部21世紀COEプログラム「神経疾患・腫瘍の統合分子医学拠点形成」の成果の一部を紹介したものであり、COE事業推進担当者(高橋雅英教授、吉田純教授、貝淵弘三教授、直江知樹教授、村松喬名誉教授、鍋島俊隆教授、二村雄次教授、妹尾久雄教授、西山幸

廣教授, 古川鋼一教授, 錫村明生教授, 濱口道成教授, 村田善晴教授, 藤本豊士教授, 吉川史隆教授, 門松健治教授, 長谷川好規講師) および本プログラムに関わるすべての研究者の先生方に深謝いたします。また, COE 事務局秘書業務および本稿の編集にご協力いただいた, 平沼依里子さんにも感謝いたします。

文 献

- 1) 神経疾患・腫瘍の統合分子医学の拠点形成 <http://www.nagoya-u.ac.jp/coemed/>
- 2) Kennedy, W.R., Alter, M., & Sung, J.H. (1968) *Neurology*, 18, 671-680.
- 3) Sobue, G., Hashizume, Y., Mukai, E., Hirayama, M., Mitsuma, T., & Takahashi, A. (1989) *Brain* 112, 209-232.
- 4) 田中章景, 祖父江元 (1999) 日本臨床別冊 領域別神経症候群シリーズ, pp. 375-378.
- 5) 田中章景, 祖父江元 (2000) Annual Review 神経, pp. 253-262, 中外医学社, 東京.
- 6) Atsuta, N., Watanabe, H., Ito, M., Banno, H., Suzuki, K., Katsuno, M., Tanaka, F., Tamakoshi, A., & Sobue, G. (2006) *Brain*, 1446-1455.
- 7) Sobue, G., Doyu, M., Kachi, T., Yasuda, T., Mukai, E., Kumagai, T., & Mitsuma, T. (1993) *J. Neurol. Sci.*, 117, 74-78.
- 8) Li, M., Miwa, S., Kobayashi, Y., Merry, D.E., Yamamoto, M., Tanaka, F., Doyu, M., Hashizume, Y., Fischbeck, K.H., & Sobue, G. (1998) *Ann. Neurol.*, 44, 249-254.
- 9) La Spada, A.R., Wilson, E.M., Lubahn, D.B., Harding, A.E., & Fischbeck, K.H. (1991) *Nature*, 352, 77-79.
- 10) Tanaka, F., Doyu, M., Ito, Y., Matsumoto, M., Mitsuma, T., Abe, K., Aoki, M., Itoyama, Y., Fischbeck, K.H., & Sobue, G. (1996) *Hum. Mol. Genet.*, 5, 1253-1257.
- 11) Orr, H.T., Chung, M.Y., Banfi, S., Kwiatkowski, T.J. Jr., Servadio, A., Beaudet, A.L., McCall, A.E., Duvick, L.A., Ranum, L.P., & Zoghbi, H.Y. (1993) *Nat. Genet.*, 4, 221-226.
- 12) Sanpei, K., Takano, H., Igarashi, S., Sato, T., Oyake, M., Sasaki, H., Wakisaka, A., Tashiro, K., Ishida, Y., Ikeuchi, T., Koide, R., Saito, M., Sato, A., Tanaka, T., Hanyu, S., Takiyama, Y., Nishizawa, M., Shimizu, N., Nomura, Y., Segawa, M., Iwabuchi, K., Eguchi, I., Tanaka, H., Takahashi, H., & Tsuji, S. (1996) *Nat. Genet.*, 14, 277-284.
- 13) Imbert, G., Saudou, F., Yvert, G., Devys, D., Trotter, Y., Garnier, J.M., Weber, C., Mandel, J.L., Cancel, G., Abbas, N., Durr, A., Didierjean, O., Stevanin, G., Agid, Y., & Brice, A. (1996) *Nat. Genet.*, 14, 285-291.
- 14) Kawaguchi, Y., Okamoto, T., Taniwaki, M., Aizawa, M., Inoue, M., Katayama, S., Kawakami, H., Nakamura, S., Nishimura, M., Akiyuchi, I., et al. (1994) *Nat. Genet.*, 8, 221-228.
- 15) Zhuchenko, O., Bailey, J., Bonnen, P., Ashizawa, T., Stockton, D.W., Amos, C., Dobyns, W.B., Subramony, S.H., Zoghbi, H. Y., & Lee, C.C. (1997) *Nat. Genet.*, 15, 62-69.
- 16) David, G., Abbas, N., Stevanin, G., Durr, A., Yvert, G., Cancel, G., Weber, C., Imbert, G., Saudou, F., Antoniou, E., Drabkin, H., Gemmill, R., Giunti, P., Benomar, A., Wood, N., Ruberg, M., Agid, Y., Mandel, J.L., & Brice, A. (1997) *Nat. Genet.*, 17, 65-70.
- 17) Nakamura, K., Jeong, S.Y., Uchihara, T., Anno, M., Nagashima, K., Nagashima, T., Ikeda, S., Tsuji, S., & Kanazawa, I. (2001) *Hum. Mol. Genet.*, 10, 1441-1448.
- 18) Koide, R., Ikeuchi, T., Onodera, O., Tanaka, H., Igarashi, S., Endo, K., Takahashi, H., Kondo, R., Ishikawa, A., Hayashi, T., et al. (1994) *Nat. Genet.*, 6, 9-13.
- 19) Nagafuchi, S., Yanagisawa, H., Sato, K., Shirayama, T., Oh-saki, E., Bundo, M., Takeda, T., Tadokoro, K., Kondo, I., Murayama, N., et al. (1994) *Nat. Genet.*, 6, 14-18.
- 20) The Huntington's Disease Collaborative Research Group (1993) *Cell*, 72, 971-983.
- 21) 田中章景, 渡辺英孝, 祖父江元 (2000) 神経内科, 53, 116-121.
- 22) Tanaka, F., Niwa, J., Ishigaki, S., Katsuno, M., Waza, M., Yamamoto, M., Doyu, M., & Sobue, G. *Ann. NY Acad. Sci.* (in press).
- 23) Tanaka, F., Sobue, G., Doyu, M., Ito, Y., Yamamoto, M., Shimada, N., Yamamoto, K., Riku, S., Hashizume, Y., & Mitsuma, T. (1996) *J. Neurol. Sci.*, 135, 43-50.
- 24) Tanaka, F., Reeves, M.F., Ito, Y., Matsumoto, M., Li, M., Miwa, S., Inukai, A., Yamamoto, M., Doyu, M., Yoshida, M., Hashizume, Y., Terao, S., Mitsuma, T., & Sobue, G. (1999) *Am. J. Hum. Genet.*, 65, 966-973.
- 25) Doyu, M., Sobue, G., Mukai, E., Kachi, T., Yasuda, T., Mitsuma, T., & Takahashi, A. (1992) *Ann. Neurol.*, 32, 707-710.
- 26) Abe, Y., Tanaka, F., Matsumoto, M., Doyu, M., Hirayama, M., Kachi, T., & Sobue, G. (1998) *Neurology*, 51, 882-884.
- 27) Kato, T., Tanaka, F., Yamamoto, M., Yosida, E., Indo, T., Watanabe, H., Yoshiwara, T., Doyu, M., & Sobue, G. (2000) *Clin. Genet.*, 58, 69-73.
- 28) Li, M., Nakagomi, Y., Kobayashi, Y., Merry, D.E., Tanaka, F., Doyu, M., Mitsuma, T., Hashizume, Y., Fischbeck, K.H., & Sobue, G. (1998) *Am. J. Pathol.*, 153, 695-701.
- 29) Taylor, J.P., Tanaka, F., Robitschek, J., Sandoval, C.M., Taye, A., Markovic-Plese, S., & Fischbeck, K.H. (2003) *Hum. Mol. Genet.*, 12, 749-757.
- 30) Taylor, J.P. & Fischbeck, K.H. (2002) *Trends Mol. Med.*, 8, 195-197.
- 31) Adachi, H., Katsuno, M., Minamiyama, M., Waza, M., Sang, C., Nakagomi, Y., Kobayashi, Y., Tanaka, F., Doyu, M., Inukai, A., Yoshida, M., Hashizume, Y., & Sobue, G. (2005) *Brain*, 128, 659-670.
- 32) Adachi, H., Kume, A., Li, M., Nakagomi, Y., Niwa, H., Do, J., Sang, C., Kobayashi, Y., Doyu, M., & Sobue, G. (2001) *Hum. Mol. Genet.*, 10, 1039-1048.
- 33) Katsuno, M., Adachi, H., Kume, A., Li, M., Nakagomi, Y., Niwa, H., Sang, C., Kobayashi, Y., Doyu, M., & Sobue, G. (2002) *Neuron*, 35, 843-854.
- 34) 道勇 学, 祖父江元 (1994) 神経内科, 41, 329-337.
- 35) 宮北英司 (2005) 日本臨床, 63, 305-308.
- 36) Huggins, C. & Hodges, C.V. (1941) *Cancer Res.*, 1, 293-297.
- 37) Vance, M.A. & Smith, J.A. (1984) *Clin. Pharmacol. Ther.*, 36, 350-354.
- 38) Bruchovsky, N., Goldenberg, S.L., Akakura, K., & Rennie, P. S. (1993) *Cancer*, 72, 1685-1691.
- 39) Katsuno, M., Adachi, H., Doyu, M., Minamiyama, M., Sang, C., Kobayashi, Y., Inukai, A., & Sobue, G. (2003) *Nat. Med.*, 9, 768-773.
- 40) Cook, T. & Sheridan, W.P. (2000) *Oncologist*, 5, 162-168.
- 41) Banno, H., Adachi, H., Katsuno, M., Suzuki, K., Atsuta, N., Watanabe, H., Tanaka, F., Doyu, M., & Sobue, G. (2006) *Ann. Neurol.*, 59, 520-526.
- 42) Lindquist, S. & Craig, E.A. (1988) *Annu. Rev. Genet.*, 22, 631-637.

- 43) Pratt, W.B. & Toft, D.O. (2003) *Exp. Biol. Med.* (Maywood), **228**, 111–133.
- 44) Calderwood, S.K., Khaleque, M.A., Sawyer, D.B., & Ciocca, D.R. (2006) *Trends Biochem. Sci.*, **31**, 164–172.
- 45) Thomas, X., Campos, L., Le, Q.H., & Guyotat, D. (2005) *Hematology*, **10**, 225–235.
- 46) Taira, T., Sawai, M., Ikeda, M., Tamai, K., Iguchi-Ariga, S.M., & Ariga, H. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 24270–24279.
- 47) Marivoet, S., Van Dijck, P., Verhoeven, G., & Heyns, W. (1992) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **88**, 165–174.
- 48) Stancato, L.F., Chow, Y.H., Hutchison, K.A., Perdew, G.H., Jove, R., & Pratt, W.B. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 21711–21716.
- 49) Sato, S., Fujita, N., & Tsuruo, T. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **97**, 10832–10837.
- 50) Xu, W., Mimnaugh, E., Rosser, M.F., Nicchitta, C., Marcu, M., Yarden, Y., & Neckers, L. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 3702–3708.
- 51) Ross, J. S., Sheehan, C.E., Hayner-Buchan, A.M., Ambros, R. A., Kallakury, B.V., Kaufman, R.P., Jr., Fisher, H.A., Rifkin, M.D., & Muraca, P.J. (1997) *Cancer*, **79**, 2162–2170.
- 52) Neckers, L. & Ivy, S.P. (2003) *Curr. Opin. Oncol.*, **15**, 419–424.
- 53) Workman, P. (2004) *Trends Mol. Med.*, **10**, 47–51.
- 54) Neckers, L. (2006) *Handb. Exp. Pharmacol.*, **172**, 259–277.
- 55) Kamal, A., Thao, L., Sensintaffar, J., Zhang, L., Boehm, M.F., Fritz, L.C., & Burrows, F.J. (2003) *Nature*, **425**, 407–410.
- 56) Neckers, L. (2002) *Clin. Cancer Res.*, **8**, 962–966.
- 57) Zegarra-Moro, O., Schmidt, L., Huang, H., & Tindall, D. (2002) *Cancer Res.*, **62**, 1008–1013.
- 58) Craft, N., Shostak, Y., Carey, M., & Sawyers, C.L. (1999) *Nat. Med.*, **5**, 280–285.
- 59) Solit, D., Zheng, F., Drobnjak, M., Munster, P., Higgins, B., Verbel, D., Heller, G., Tong, W., Cordon-Cardo, C., Agus, D., Scher, H., & Rosen, N. (2002) *Clin. Cancer Res.*, **8**, 986–993.
- 60) Waza, M., Adachi, H., Katsuno, M., Minamiyama, M., Sang, C., Tanaka, F., Inukai, A., Doyu, M., & Sobue, G. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 1088–1095.
- 61) Ridley, A.J., Schwartz, M.A., Burridge, K., Firtel, R.A., Ginsberg, M.H., Borisy, G., Parsons, J.T., & Horwitz, A.R. (2003) *Science*, **302**, 1704–1709.
- 62) Merlot, S. & Firtel, R.A. (2003) *J. Cell Sci.*, **116**, 3471–3478.
- 63) Higuchi, M., Masuyama, N., Fukui, Y., Suzuki, A., & Gotoh, Y. (2001) *Curr. Biol.*, **11**, 1958–1962.
- 64) Vivanco, I. & Sawyers, C.L. (2002) *Nat. Rev. Cancer*, **2**, 489–501.
- 65) Enomoto, A., Murakami, H., Asai, N., Morone, N., Watanabe, T., Kawai, K., Murakumo, Y., Usukura, J., Kaibuchi, K., & Takahashi, M. (2005) *Dev. Cell.*, **9**, 389–402.
- 66) Inagaki, N., Chihara, K., Arimura, N., Menager, C., Kawano, Y., Matsuo, N., Nishimura, T., Amano, M., & Kaibuchi, K. (2001) *Nat. Neurosci.*, **4**, 781–782.
- 67) Fukata, Y., Itoh, T.J., Kimura, T., Menager, C., Nishimura, T., Shiromizu, T., Watanabe, H., Inagaki, N., Iwamatsu, A., Hatanani, H., & Kaibuchi, K. (2002) *Nat. Cell Biol.*, **4**, 583–589.
- 68) Nishimura, T., Fukata, Y., Kato, K., Yamaguchi, T., Matsuura, Y., Kamiguchi, H., & Kaibuchi, K. (2003) *Nat. Cell Biol.*, **5**, 819–822.
- 69) Yoshimura, T., Kawano, Y., Arimura, N., Kawabata, S., Kikuchi, A., & Kaibuchi, K. (2005) *Cell*, **120**, 137–149.
- 70) Midkine.org <http://www.midkine.org/>
- 71) Konishi, N., Nakamura, M., Nakaoka, S., Hiasa, Y., Cho, M., Uemura, H., Hirao, Y., Muramatsu, T., & Kadomatsu, K. (1999) *Oncology*, **57**, 253–257.
- 72) O'Brien, T., Cranston, D., Fuggie, S., Bicknell, R., & Harris, A.L. (1996) *Cancer Res.*, **56**, 2515–2518.
- 73) Ikematsu, S., Nakagawara, A., Nakamura, Y., Sakuma, S., Wakai, K., Muramatsu, T., & Kadomatsu, K. (2003) *Br. J. Cancer*, **88**, 1522–1526.
- 74) Takei, Y., Kadomatsu, K., Matsuo, S., Itoh, H., Nakazawa, K., Kubota, S., & Muramatsu, T. (2001) *Cancer Res.*, **61**, 8486–8491.
- 75) Adachi, Y., Reynolds, P.N., Yamamoto, M., Grizzle, W.E., Overturf, K., Matsubara, S., Muramatsu, T., & Curiel, D.T. (2000) *Cancer Res.*, **60**, 4305–4310.
- 76) Yoshida, Y., Ikematsu, S., Moritoyo, T., Goto, M., Tsutsui, J., Sakuma, S., Osame, M., & Muramatsu, T. (2001) *Brain Res.*, **894**, 46–55.
- 77) Takada, J., Ooboshi, H., Ago, T., Kitazono, T., Yao, H., Kadomatsu, K., Muramatsu, T., Ibayashi, S., & Iida, M. (2005) *Gene Ther.*, **12**, 487–493.
- 78) Yasuhara, O., Muramatsu, H., Kim, S.U., Muramatsu, T., Maruta, H., & McGeer, P.L. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **192**, 246–251.
- 79) Kato, S., Shinozawa, T., Takikawa, M., Kato, M., Hirano, A., Awaya, A., & Ohama, E. (2000) *Acta Neuropathol (Berl.)*, **100**, 481–489.