

伝統薬から開発された抗マラリア薬でがんを治す

漢方がん治療：アルテミシニンの抗がん活性

中瀬 朋夏

要約：安全で有効性の高いがん治療戦略の開発において、漢方由来成分を用いた治療法がその重要性を高めている。経験的に古くからマラリアの特効薬として利用されてきたアルテミシニンとその誘導体は、キク科の植物であるセイコウ (*Artemisia annua* L.) から分離されたセスキテルペンラクトンで、構造中のエンドペルオキシドブリッジ (-C-O-O-C-) と細胞内鉄イオンが反応し、フリーラジカルを生成する。近年、トランスフェリン受容体が高発現し鉄イオンを豊富に含有するがん細胞に対して、アルテミシニンの細胞毒性が極めて高いことが注目されている。筆者は、トランスフェリンの *N*-グリコシド鎖にアルテミシニンを修飾したがん標的アルテミシニンが、アポトーシスを介して、がん細胞に特異的な抗がん活性を示すことを明らかにした。さらに、抗がん薬の効果は細胞内環境の影響を大きく受けることから、がん細胞内の酸化ストレスやエネルギー産生を制御することで、アルテミシニン誘導体の効果を操る手法を開発した。その結果、酸化ストレス耐性のがん細胞に対して、抗酸化促進機能を担うシスチントランスポーター活性を抑制することにより、アルテミシニン誘導体の細胞毒性効果を増強できることが明らかになった。漢方由来成分の効果を最大限に発揮するため、がん標的送達システムや細胞内環境を調節・維持するトランスポーターを制御できる薬剤学的手法を駆使して、今後、臨床応用へ向けたさらなるがん治療戦略の開発を期待する。

1. はじめに

西洋医学は、病気の原因を追及し科学的理論に基づいてその原因を治す医療を行うため、直接的かつ強力な治療方法であるものの、副作用や障害が生じる重大な欠点を持つ。一方、西洋医学を補い、また代わり

をする医療として、現在、補完代替医療が注目されている。外来患者の83.3%が利用し、その中で漢方を利用する人は、62.6%にもものぼる(1, 2)。漢方治療では病因を探るのではなく、ヒトの全体の状況を診て自然治癒力や生体防御機構を重視し、生体全体の歪みを補正できるように処方される。がん治療の場合、漢方処方のみでがんを消滅させる場合と、化学療法や放射線治療と併用して漢方処方を利用する場合がある。漢方処方は、がん病態時における免疫機能、生存率、Quality of Lifeの向上、西洋医学で生じる副作用の防止、回復促進と、多種多様な薬効を有し、西洋医学では代わりがでない重要な役割を果たしている。

近年、漢方処方に用いられている生薬含有成分のがんに対する効能が明らかにされつつある(3)。生薬に含まれる抗がん成分は、副作用が少なく安全性が比較的高く、薬剤耐性になりにくいことから、西洋薬では克服が困難な抗がん治療のデメリットを打破することができる。そのため、安全で有効性の高いがん治療戦略のために、漢方由来成分からの抗がん薬の開発が求められるが、漢方由来成分だけを単離し、単剤でがんを用いる場合、どうしても効果が弱くなる場合が多い。筆者は、漢方由来成分の抗がん効果のがん特異的に増強させる手法として、活性を保持したまま漢方由来抗がん成分をがん細胞に到達させる Drug Delivery Systemの開発や、細胞の機能調節・維持に関わるトランスポーターを介し、がん細胞内環境を制御することで、漢方由来成分の抗がん効果を最大限に発揮させる薬剤学的手法を駆使したがん治療の応用研究を展開している(図1)。本稿では、伝統医学の中で用いられてきたアルテミシニンに焦点を当て、トランスフェリンを用いたアルテミシニンのがん組織への送達法の開発、ならびにシスチントランスポーターを制

御してアルテミシニンの活性を操る新規がん治療法の開発について、これまでに得た知見を中心に紹介したい。

2. アルテミシニンの抗がん作用

アルテミシニンとその誘導体は、キク科の植物であるセイコウ (*Artemisia annua* L.) から分離された成分で、経験的に古くからマラリアの特効薬として利用されてきた(3,4)。特に、キニーネ系のクロロキン耐性のマラリアに対して著効を示し、動物では高濃度で神経毒性や胎児毒性が報告されているにもかかわらず、ヒトでは比較的安全に適用されている(4-6)。アルテミシニンは、化学構造内に鉄イオンと反応してフリーラジカルを産生するエンドペルオキシドブリッジ

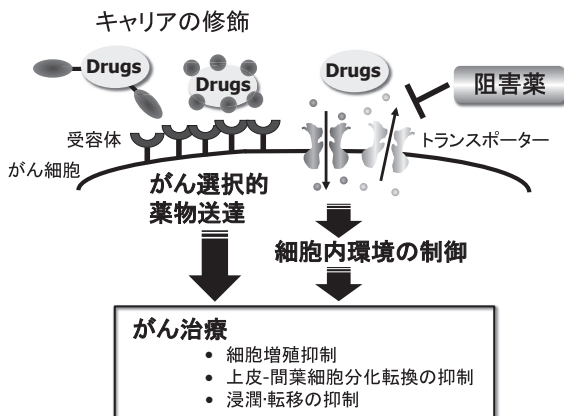


図1 漢方由来成分の効果を最大限に発揮させる薬剤学的手法を駆使したがん治療法の開発
がん標的送達システムや細胞内環境の調節に関わるトランスポーターを制御することで、漢方由来の抗がん効果をがん特異的に増強させることを目指す。

(-C-O-O-C-)を有する。マラリア原虫が感染した赤血球中では、マラリア原虫によってヘモグロビンが分解され鉄イオンが蓄積し、その鉄イオンとアルテミシニンが反応することで、フリーラジカルが発生してマラリア原虫を死滅させることが作用機序として考えられている。

近年、アルテミシニンの抗マラリア作用をがん治療に応用する試みが注目されている(7)。細胞増殖に必須である鉄イオンは血中でトランスフェリンと結合し、細胞膜上に発現するトランスフェリン受容体に結合して細胞内に取り込まれる(8)。がん細胞では正常細胞と比較して、トランスフェリン受容体が高発現し、細胞内鉄イオンが高濃度に存在する。そのため、がん細胞内へ移行したアルテミシニンは、鉄イオンと反応してフリーラジカルを産生し、がん細胞選択的な細胞毒性を示す(図2)。ヒト白血病細胞株 Molt-4 にアルテミシニン誘導体である dihydroartemisinin (DHA) を処置すると、正常白血球に比べ著しく細胞毒性が高く、さらにホロトランスフェリンを同時に処置すると、一層顕著な細胞障害を誘導する (Molt-4, および正常白血球細胞における LC_{50} はそれぞれ $2.6 \mu M$, $230 \mu M$) (9)。この結果は、DHA ががん細胞に選択的な細胞障害性を発揮し、その効果に細胞内の鉄イオンが重要な役割を担っていることを示している。さらに、放射線治療に耐性なヒト乳がん細胞や薬剤耐性のヒト小細胞性肺がん細胞に対しても、DHA による細胞内の鉄イオンに伴うがん細胞選択的な細胞障害性が報告されており(10, 11)、アルテミシニンとその誘導体は新たな抗腫瘍薬としての期待が高まっている。

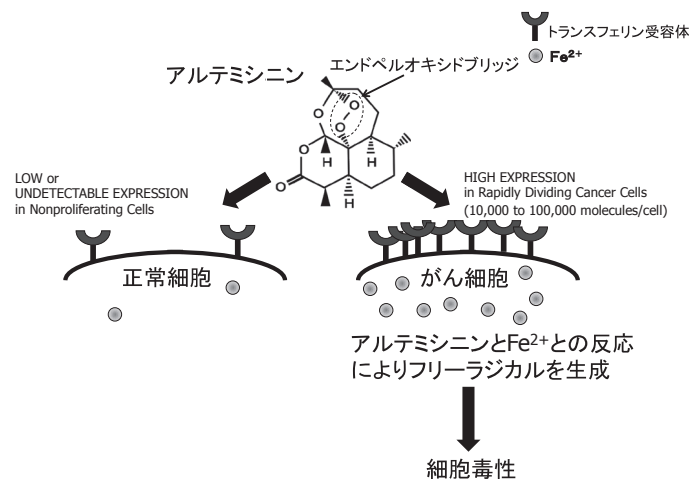


図2 アルテミシニンの抗がん活性

がん細胞では、トランスフェリン受容体が高発現しており、鉄イオンを多く含有する。がん細胞内に移行したアルテミシニンのエンドペルオキシドブリッジと鉄イオンが反応して、フリーラジカルを生成する結果、細胞毒性を示す。

3. トランスフェリンを用いたアルテミシニンのがん細胞への送達

筆者は、鉄の運び屋であるトランスフェリンを直接アルテミシニンに結合させ、アルテミシニン単独よりも、がんへの選択性と細胞障害性を高める抗がん治療法を開発した(12)。トランスフェリンがトランスフェリン受容体に結合するとき、トランスフェリンの糖鎖はほとんど関与せず、エンドソーム内でその糖鎖は切断される。そこで、トランスフェリンのN-グリコシド鎖にアルテミシニンを修飾した結合体を調製した。ヒト前立腺がん細胞 PC-3 と DU-145 において、アルテミシニンを修飾したトランスフェリン (ART-Tf) の細胞毒性を検討した結果、トランスフェリンに結合しているアルテミシニンの分子数に依存して IC₅₀ の値が低下した。16 分子のアルテミシニンを結合させた ART-Tf でもアルテミシニンとトランスフェリンの両機能を保持したまま、数 μM のレベルで 50% 抑制効果を示した。次に、ART-Tf による細胞毒性効果はトランスフェリンレセプター (TfR) を介しているか否か、TfR をノックダウンした前立腺がん細胞を用いて細胞毒性を検討した。その結果、TfR ノックダウン細胞では、ART-Tf 処置しても細胞死は誘導されず、TfR 依存的に細胞毒性を示すことが判明した。さらに、ART-Tf の細胞毒性機序には、cytochrome *c* のミトコンドリアから細胞質への遊離と、その下流の caspase-9 と caspase-3 の活性化、および poly (ADP-ribose) polymerase-1 活性化によるアポトーシスが大きく関与する。アルテミシニン誘導体の細胞毒性機序では、Bcl-2 ファミリーの制御によるミトコンドリアを介したアポトーシスが引き起こされることがすでに報告されている(13)。また、そのアポトーシスは、TfR の発現が促進し、鉄イオンの取り込みが増加する細胞周期 G₁ 期に起こる(14)。さらに、*in vivo* における乳がんの担がんラットでも、ART-Tf の著しい腫瘍形成抑制効果が証明されている(15)。以上より、ART-Tf は、TfR を発現するがん細胞に特異的にかつ効果的にアポトーシスを介して細胞毒性を示すことから、鉄代謝の亢進した腫瘍の新規治療戦略の開発とその応用が期待される。

4. 細胞内環境制御によりアルテミシニンの活性を操る新規がん治療法の開発

著者は、抗がん薬の効果が細胞内環境によって大きく影響を受けることに着目し、がん細胞内の酸化ストレスやエネルギー産生を制御して、漢方由来成分の抗

がん効果を最大限に発揮させる戦略を開発している。悪性度の高い転移性ヒト乳がん細胞株 MDA-MB-231 に DHA を処置すると、細胞増殖抑制とアポトーシス誘導を示すものの、細胞毒性の発揮には正常細胞を脅かす程の高濃度 (50~200 μM) を必要とした。その理由の一端として、MDA-MB-231 の酸化ストレス抵抗性が考えられる。がん細胞の酸化ストレス抵抗性には、細胞内の抗酸化物質であるグルタチオン合成に必要なシスチンを細胞外から内に取り込むシスチントランスポーター (xCT) が深く関与する(16, 17)。xCT の発現が増加し活性化されると、グルタチオン合成が亢進し活性酸素種 ROS の働きを抑えるので、がん細胞が酸化ストレスに抵抗性を持つようになる。そのため、腫瘍の増大、薬物治療や放射線治療の耐性につながるということが分かっている(18, 19) (図 3)。

そこで、xCT を制御することで、乳がん細胞内の酸化ストレス機構を変化させ、DHA 活性を操る新規乳がん治療法の開発を試みた。まず、MDA-MB-231 では、過酸化水素による酸化ストレス刺激後の ROS 産生量が、非転移性ヒト乳がん細胞株 MCF-7 に比べて著しく低く、酸化ストレスに強いことを見出した。さらに、xCT 特異的阻害薬 sulfasalazine (SASP) は濃度依存性に MDA-MB-231 細胞内の ROS 産生量を増加させ、酸化ストレス応答機構に xCT が重要な役割を果たしていることを示唆した。DHA 活性を上げるために、SASP と DHA の併用効果が試みられ、DHA、あるいは SASP 単独よりも細胞増殖能、細胞遊走能、および造腫瘍性と高い相関がある足場非依存性増殖能についていずれも顕著に抑制した。これらの抗がん作用機序としては、酸化ストレス抵抗性の抑制に伴い、アポトーシスとオートファジー性細胞死の誘導が関与していることが分かった。以上より、SASP は xCT を介した乳がん細胞の酸化ストレス抵抗性を制御でき、SASP の併用により、DHA の抗がん活性を増強することに成功した(図 4)。SASP は現在、臨床で抗炎症薬として使用されている。SASP による腫瘍抑制作用や転移抑制作用に関する報告が近年相次いでいる(17, 20)。我々は漢方由来成分を用いたがんの根治治療を目指し、DHA/SASP 併用による乳がん幹細胞への抗がん作用の検討、ならびに *in vivo* における DHA/SASP 併用の最適な投与量と投与ルートを開発を進めている。今後、DHA と SASP の併用が相乗効果により、がん治療に高い有効性と安全性を示すか、さらに研究を展開する。

5. おわりに

安全で有効性の高いがん治療戦略の構築において、

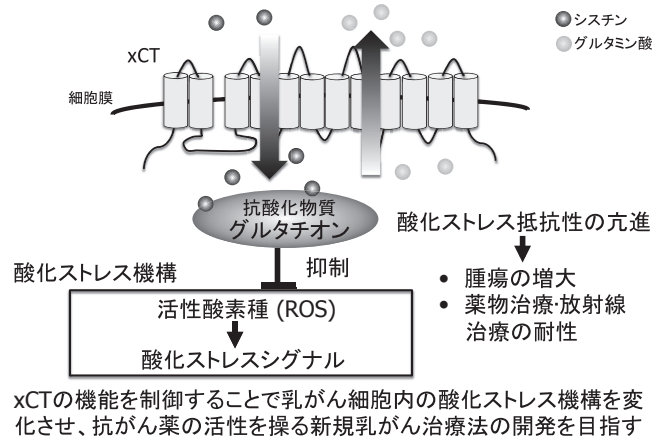


図3 がんにおける xCT の役割

xCT は 12 回膜貫通型のタンパク質で、シスチン・グルタミン酸の逆輸送型トランスポーターである。xCT が高発現しているがん細胞では、シスチンの細胞内への取り込みを促進する。その結果、グルタチオンの生成が増加し、正常細胞と比較して、がん細胞における酸化ストレス抵抗性を増大させ、腫瘍の増大抑制や治療抵抗性に寄与する。

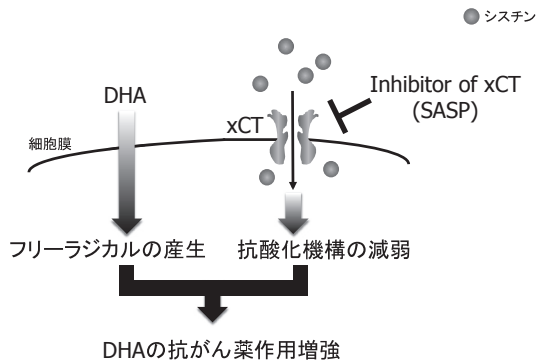


図4 xCT 阻害薬 SASP を用いたアルテミシン活性を操る新規がん治療法の開発

SASP はがん細胞の抗酸化機構を減弱させることができ、SASP の併用は DHA の抗がん活性を増強する。

漢方由来成分を用いた治療法は、重要な役割を果たす。漢方由来成分の効果を最大限に発揮するために、がん標的送達システムを用いた方法や細胞内環境を制御する薬剤との併用療法は有効である。今後さらに、成分の作用機序の解析をはじめ、がんを標的とした治療法の確立に向けて、将来的な臨床応用へ繋がる開発研究に貢献できるように努めたい。

謝辞：本稿で紹介した研究の一部は、University of Washington, および武庫川女子大学薬学部薬剤学研究室で行われたものであり、Tomikazu Sasaki 教授、Henry Lai 教授、Narendra P. Singh 教授、David Goodlett 教授、高橋幸一教授に心から感謝致します。また、本研究をともに実施し、多大なご支援を頂きました、University of Washington Byron Gallis 博士、大阪府立大学 21 世紀科学研究機構中瀬生彦博士、武庫川女子大学薬学部薬剤学研究室辻野由香梨氏、稲垣恵理氏に感謝致します。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- Richardson MA, et al. J Clin Oncol. 2000;18:2505-2514.
- MouX, et al. Int J Clin Exp Med. 2011;4:17-25.
- O' Neill PM, et al. Nature. 2004;430:838-839.
- Meshnick SR, et al. Int J Parasitol. 2002;32:1655-1660.
- Dhingra V, et al. Life Sci. 2000;66:279-300.
- Wiesner J, et al. Angew Chem Int Ed Engl. 2003;42:5274-5293.
- Nakase I, et al. Int J Pharm. 2008;354:28-33.
- Andrews NC, et al. N Engl J Med. 1999;341:1986-1995.
- Lai H, et al. Cancer Lett. 1995;91:41-46.
- Sadava D, et al. Cancer Lett. 2002;179:151-156.
- Singh NP, et al. Life Sci. 2001;70:49-56.
- Nakase I, et al. Cancer Lett. 2009;274:290-298.
- Wu GD, et al. Vascul Pharmacol. 2004;41:205-212.
- Li Y, et al. Bioorg Med Chem Lett. 2001;11:5-8.
- Lai H, et al. Anticancer Res. 2009;29:3807-3810.
- SatoH, et al. J Biol Chem. 2005;280:37423-37429.
- Ishimoto T, et al. Cancer Cell. 2011;19:387-400.
- Yae T, et al. Nat Commun. 2012;3:883.
- Chen RS, et al. Oncogene. 2009;28:599-609.
- Guan J, et al. Cancer Chemother Pharmacol. 2009;64:463-472.

著者プロフィール

中瀬 朋夏 (なかせ ともか)

武庫川女子大学薬学部薬剤学研究室、
講師、博士 (臨床薬学)。

◇2004年大阪大学大学院薬学研究科博士後期課程修了。大阪大学大学院医学系研究科SORST研究員、米国ワシントン州パシフィックノースウエスト研究所博士研究員などを経て、'07年より現職。◇次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム最優秀講演賞 ('11年)、トランスポーター研究会優秀発表賞 ('12年)、日本薬学会近畿支部奨励賞 ('13年) 受賞。現在、トランスポーターを介した細胞機能制御テクノロジーの開発と女性特有疾患治療への応用に関する研究を進めている。◇2013年夏に長女が生まれ、研究と育児の両立に奮闘中。

