

論文内容要旨(甲)

コレシストキニン B/ガストリン受容体遮断薬 Z-360 の開発研究

昭和大学大学院薬学研究科 薬理学専攻 加藤 博樹

今回、研究対象とした Z-360 は、ゼリア新薬工業株式会社で創製されたコレシストキニン B 受容体 (CCKB-R) に対する選択的かつ強力な拮抗薬である。当初は胃酸分泌抑制剤として開発が進められ、その後、抗癌剤としての開発に切り替え、臨床有用性が確認された薬物である。すなわち、Z-360 は胃酸分泌を抑制するとともに腫瘍の増殖抑制作用も有する極めて興味深い化合物である。今回、Z-360 の胃酸分泌抑制作用メカニズム及び腫瘍増殖抑制メカニズムについての現在までの知見をまとめ、Z-360 が胃酸分泌抑制剤として開発が進められた経緯及び特に膵癌に対する抗がん剤として使用されるに至った経緯を、研究結果を中心に概説する。

胃酸分泌を促進する消化管ペプチドホルモンとして、ガストリンとコレシストキニン (CCK) が知られており、両者はいずれもガストリンファミリーに属し、活性部位に共通の C 末端アミノ酸残基を有している。ガストリンは線形ペプチドとして転写翻訳された後、プロセッシングによりサイズの異なる複数のペプチドに変換された形で生体内に存在する。1964 年に初めてアミノ酸 17 個から成るポリペプチド (小ガストリン) の構造が Gregory 及び Tracy により決定され、その後アミノ酸 34 個からなる大ガストリン及びアミノ酸 14 個からなるミニガストリンの存在が確認されている。ガストリンは食物による化学的刺激、食物摂取による胃の拡張などの物理的刺激によって胃幽門部や十二指腸に存在する G 細胞から分泌され、直接的及び間接的に胃酸分泌作用を発現する。直接作用としては胃壁細胞に存在するガストリン受容体に結合して胃酸分泌を促進し、間接作用としてはヒスタミン含有細胞である腸クロム親和性細胞様細胞 (ECL 細胞) を刺激してヒスタミンの産生及び分泌を促進し、胃壁細胞上のヒスタミン H_2 受容体へのヒスタミン結合量を増加させることによって胃酸分泌を促進する。また、ガストリンは胃壁細胞に対する増殖作用も有している。

CCK もまた、食物摂取の刺激などにより小腸上部の消化管内分泌細胞から分泌される線形ペプチドで、ペプチドの大きさが異なる CCK-58、CCK-33、CCK-8、CCK-4 などが存在する。CCK の発見は古く、Ivy 及び Oldberg が 1928 年にその存在を報告しているが、その化学構造に関しては 1968 年に Mutt

及び Jorpes が明らかにするまで待たねばならなかった。その後多くの研究者により、CCK が CCK 受容体 (CCK-R) を介して消化器系に作用し、消化管ホルモンとして胃酸分泌や膵酵素分泌を促進すること、また神経伝達物質として中枢系に作用して満腹感を惹起することなど、多彩な生物活性を有することが明らかにされている。

CCK-R に関しては、現在までに A タイプ及び B タイプの 2 種類が明らかとなっている。A タイプの CCK-R (CCKA-R 又は CCK1-R) は当初げっ歯類の膵臓腺房でその特徴が明らかにされ、主として末梢系に分布することが知られている。B タイプの CCK-R (CCKB-R 又は CCK2-R) は主に中枢系に分布している。消化管では、CCKA-R は膵腺房細胞や胃粘膜 D 細胞に、CCKB-R は胃壁細胞や ECL 細胞、膵腺房細胞に主として存在する。中枢では、CCKA-R は脚間核、最後野、孤束核、手綱核、視床下部背内側核、扁桃体に、CCKB-R は主嗅球外網状層、大脳新皮質中間層、梨状皮質、側坐核、傍海馬支脚に多く存在する。このように、CCK-R は消化管から中枢系に至るまで広く分布しているため、これを適切に調節することにより満腹感、心血管系の機能、不安症、うつ、疼痛など多くの症状を改善できるのではないかと考えられている。

本研究では、Z-360 の CCKB-R を介した作用として、まずガストリンによる胃酸分泌作用の阻害に着目した。CCKB-R 拮抗薬はヒスタミン_{H₂}受容体拮抗薬やプロトンポンプ阻害薬とは異なり、胃粘膜 ECL 細胞の過剰増殖を起こさずに胃酸分泌を抑制することが動物実験などで示されている。従って、Z-360 は胃粘膜のがん化を生じさせる潜在的な危険性を持たず、胃潰瘍や胃食道逆流症 (GERD) の再発を抑制する可能性があるため、新たな抗潰瘍薬として開発に着手した。各種非臨床試験において酸分泌抑制効果は高く、ファモチジンに匹敵した。英国で実施した臨床試験において、Z-360 の投与により、胃酸分泌抑制効果、及び胃内 pH の上昇が確認されたが、その作用はファモチジンに比較し、有意に低いことが明らかとなり、当初の目標であるファモチジンと同等以上の効果を期待することは難しいと判断し、Z-360 の抗潰瘍薬としての開発を断念した。

CCKB-R を介した作用は、酸分泌抑制効果以外に、胃粘膜の正常細胞の増殖促進にも関与している。さらに、膵癌、大腸癌、胃癌などの消化器系腫瘍の増殖促進にも関与することが知られている。近年の研究から、ガストリンは膵癌、大腸癌、胃癌由来細胞株で、CCKB-R を介して、細胞増殖や生存維持及び癌化に関与するキナーゼ Akt を活性化することがわかってきた。

CCKB-R遺伝子の選択的スプライシング型CCKBi4svRを発現させた細胞では、低酸素誘導因子（Hypoxia-Inducible Factor-1 α 又はHIF-1 α ）や血管内皮細胞増殖因子（Vascular Endothelial Growth Factor又はVEGF）の発現量が増加しており、このスプライシング型受容体遺伝子を導入した細胞を移植すると、正常型CCKB-R遺伝子を導入した細胞に比べて腫瘍の増殖が促進された。また、このスプライシングに関連する遺伝子多型を有する膵癌患者の生存期間は、正常型の遺伝子を有する患者に比べて短縮していることも明らかとなっている。以上より、CCKB-Rは腫瘍の増殖にも深く関与していると思われ、Z-360などの拮抗薬は消化管由来の癌に効果を示すことが期待できると考え、消化器癌、特に膵癌を標的病変とする戦略を立案した。現時点では、膵癌に対する補助化学療法の第一選択薬はゲムシタビン（GEM）であるが、その効果は限定的であり、新規薬剤の登場が強く期待されている領域である。

GEM は、ヒト膵癌由来 PANC-1 細胞を同所異種移植したマウスモデルにおいて、VEGF 遺伝子発現を誘導する。一方、Z-360 の作用として、PANC-1 細胞における GEM 誘導性 VEGF 遺伝子発現の抑制、GEM 誘導性 VEGF 分泌増加の抑制、及び PANC-1 細胞同所移植マウスの腫瘍組織における GEM 誘導 VEGF 遺伝子発現の抑制が認められた。これらの非臨床試験の結果から、GEM と Z-360 の併用による抗腫瘍作用が期待された。このため、Z-360 を GEM との併用が好ましいと考え、膵癌患者を対象にした比較臨床試験（GEM +Z-360 投与群と GEM+プラセボ群）を欧州で実施した。GEM+Z-360 投与群では生存期間の延長傾向が認められた。さらに、患者の疼痛に関する Quality of life(QOL)については、GEM+Z-360 併用群において GEM+プラセボ群と比較して、QOL が改善した患者の割合が高かった。

次に、臨床試験で認められた有効性の機序解明について、検討を行った。

VEGF 遺伝子発現の分子メカニズムや VEGF 発現と CCKB/ガストリンシグナル伝達経路及び GEM の抗腫瘍作用との関係はほとんどわかっていない。そこで、GEM と本剤の併用による抗腫瘍作用について検討した。今回、PANC-1 細胞の GEM 誘導性 VEGF 発現における CCKB-R/ガストリン-R の細胞内シグナル伝達経路の役割を探索することにより、GEM が CCKB-R/ガストリン-R 遺伝子発現にも影響を与えることを初めて明らかにした。すなわち、Z-360 処理によって VEGF と HIF-1 α の両方の GEM 誘導性遺伝子発現が抑制され、Akt によるリン酸化が部分的に阻害された。このことは、GEM が CCKB-R/ガストリン-R の下流の PI3K/Akt シグナル伝達経路を介して HIF-1 α を誘導し、VEGF 発現を増加させることを示していた。さらに、GEM

無処置下の VEGF 発現が Z-360 によって阻害されていないこと、VEGF 及び HIF-1 α の恒常的遺伝子発現は抗ガストリン抗体によって阻害されないことから、Z-360 の作用は GEM 誘導性遺伝子発現に選択的な阻害であると推測した。以上の GEM 誘導性 VEGF 発現阻害機構を、図 1 に模式的に示した。

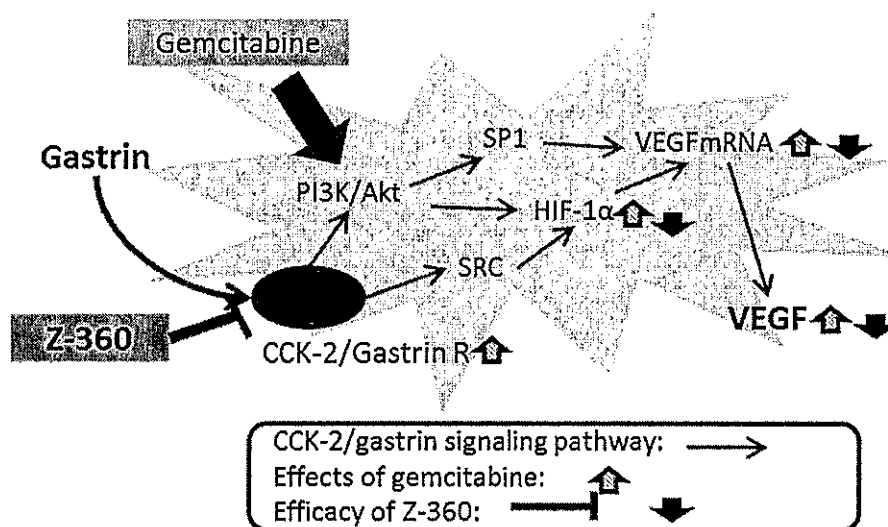


図 1 Z-360 による GEM 誘導性 VEGF 発現の阻害の模式図

次に、疼痛緩和を解明するために、非臨床試験を実施した。その結果、Z-360 は癌性機械的アロディニア並びにホルマリン誘発疼痛の両モデルマウスにおいて、有意な疼痛緩和効果を示し、更に、両モデルにおいてモルヒネとの併用処置による鎮痛増強効果が認められた。これらの結果に基づいて、癌性疼痛における新たな疼痛カスケードの究明を目的として研究を実施した結果、Z-360 の鎮痛作用に関連した新規の疼痛カスケードの存在が明らかとなった。当カスケードでは、腫瘍播種部位で生成した IL-1 β が、DRG において Eph B1 の遺伝子発現を亢進し、次いで Eph B1 が脊髄における Eph B1 受容体を介して NR2B のチロシンリン酸化を促進させ、その結果疼痛が発現する。Z-360 はこの疼痛カスケードを、腫瘍播種部位における IL-1 β の産生を抑制することにより阻害した。すなわち、IL-1 β の産生抑制により、Eph B1 の遺伝子発現抑制を介した NR2B のチロシンリン酸化の低下が起こり、結果として疼痛に対する鎮痛作用が発現した。したがって、肺癌患者を対象とした臨床試験で確認された本剤の癌性疼痛に対する緩和効果には、IL-1 β 産生抑制が重要な役割を果たしていると考えられた。以上の結果を模式的に図 2 に示した。

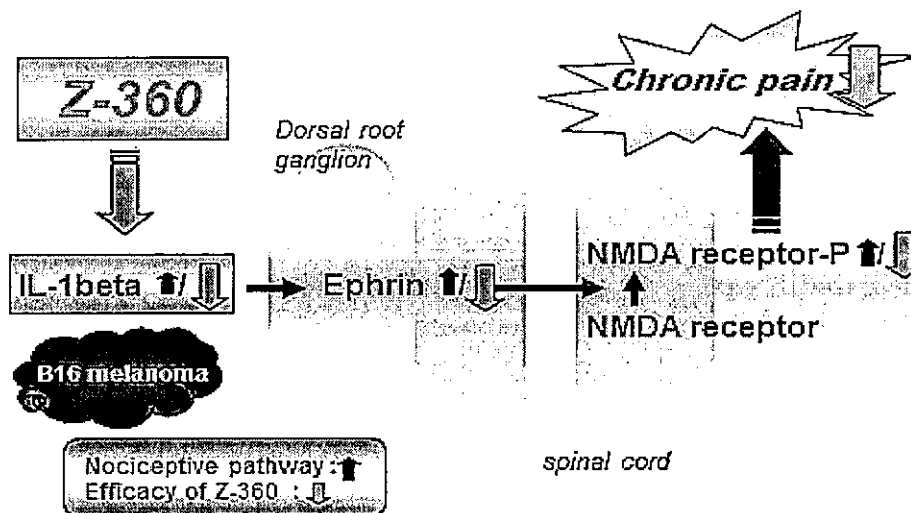


図2 Z-360による疼痛緩和の模式図

これらの結果は、Z-360がGEMとの併用治療において、進行性膵癌患者に対して抗腫瘍作用を有し、かつ重篤なオピオイド耐性疼痛を緩和する作用を有することが、今回の研究により明らかとなり、Z-360は癌性疼痛抑制によるQOLの改善を伴う、有望な膵癌治療薬として期待されるものである。

論文目録

参考論文

1. Kato H, Seto K, Kobayashi N, Yoshinaga K, Meyer T, Takei M. CCK-2/gastrin receptor signaling pathway is significant for gemcitabine-induced gene expression of VEGF in pancreatic carcinoma cells. *Life Sci.* Oct 24; 89 (17-18): 603-608 (2011)
2. Orikawa Y, Kato H, Seto K, Kobayashi N, Yoshinaga K, Hamano H, Hori Y, Meyer T, Takei M. Z-360, a novel therapeutic agent for pancreatic cancer, prevents up-regulation of ephrin B1 gene expression and phosphorylation of NR2B via suppression of interleukin-1B production in a cancer-induced pain model in mice. *Mol Pain.* Oct 28;6:72. doi: 10.1186/1744-8069-6-72 (2010)

副論文

1. Meyer T, Caplin ME, Palmer DH, Valle JW, Larvin M, Waters JS, Coxon F, Borbath I, Peeters M, Nagano E, Kato H. A phase Ib/IIa trial to evaluate the CCK2 receptor antagonist Z-360 in combination with gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *Eur J Cancer.* 46 (3): 526-533 (2010)