

<特集「がん治療における分子標的：その課題と未来展望」>

細胞死シグナルの最新理解とがんの分子標的薬

吉田 達士*, 奥田 司*

京都府立医科大学大学院医学研究科分子生化学

Cell Death Signaling and Molecular-targeted Drugs for Malignant Tumors

Tatsushi Yoshida and Tsukasa Okuda

*Department of Biochemistry and Molecular Biology,
Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

抄 録

細胞死は、無秩序に起きるものではなく、細胞の中に既にプログラムされたシグナル経路を用いて遂行されるものであることが判明し、近年、その分子機構が詳細に解明されつつある。特に、細胞死の1形態であるアポトーシスについては、多くの実行因子が発見され、その誘導機構の大筋が明らかにされている。そして、多くのがん細胞はそのアポトーシス関連因子を調節することによって巧みに細胞死から回避している。したがって、アポトーシス関連因子をターゲットとした分子標的薬は、効果的な抗がん剤となり得る。実際、アポトーシス抑制因子Bcl-2の阻害剤Venetoclaxは白血病に対して承認されており、他にも多数のアポトーシス分子標的薬の臨床試験が実施されている。ここでは、アポトーシス遂行に関与する因子に対するがん分子標的薬開発状況について論じる。

キーワード：がん，白血病，アポトーシス，細胞死，分子標的薬。

Abstract

Cell death is performed by signal transduction programmed in cells but not disorderly happened. In a few decades, molecular mechanisms of cell death induction have been elucidated in detail. In particular, for apoptosis, which is one form of cell death, many executive factors have been discovered, and the outline of its induction mechanism has been elucidated. Most, if not all, malignant tumor cells skillfully avoid cell death by regulating apoptosis-related factors. Therefore, molecular-targeted drugs against apoptosis-related factors can be used as effective antitumor agents. In fact, the inhibitor of anti-apoptotic factor Bcl-2, Venetoclax has been approved for leukemia, and many other molecular-targeted drugs for apoptotic factors have been going on clinical trials. Here, we discuss the development status of molecular-targeted drugs for factors involved in apoptosis.

令和5年2月24日受付 令和5年2月24日受理

*連絡先 吉田達士 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路ル梶井町465番地

yoshida@koto.kpu-m.ac.jp

奥田 司 okuda@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.132.02.101

Key Words: Malignant tumor, Leukemia, Apoptosis, Cell death, Molecular-targeted drug.

はじめに

近年、細胞死誘導の分子機構が詳細に解明され、特に、細胞死の1形態であるアポトーシスについては、その実行因子とシグナル伝達機構の大筋が理解されるようになった。また、がん発症の分子メカニズムの解明も進み、正常細胞の遺伝子変異によって無限増殖と不死化を獲得していることが明らかにされた。多くのがんに共通して、アポトーシスから回避するような遺伝子変異と発現異常が生じており、それに関わるアポトーシス因子が抗がん剤の分子標的となり得る。早期がんにおいては外科的切除が行われるが、進行がんや転移がんでは外科的切除は困難な場合が多い。そのような時には、低分子化合物によってがん細胞のみに細胞死を誘導する分子標的薬等によってがんを除去することが役立つはずである。これは、腫瘍を摘出する外科医のメスに対して、組織・臓器の中でがん細胞だけを切り分ける「分子ナイフ」と例えることができる。

ここでは、今までに解明されたアポトーシス誘導シグナルと実行因子を紹介し、アポトーシス因子を分子標的とした抗がん剤の開発状況について論じる。

アポトーシスとは

アポトーシスは1972年に病理学者Kerr JFによって提唱された細胞死の形態である¹⁾。顕微鏡下で観察されたその様子から、離れて落ちるといった意味のギリシャ語に由来して、apo (off) と ptosis (falling) を合わせた合成語apoptosisが名付けられている。しかし、長い間アポトーシスの概念はほとんど受け入れられることはなく、細胞の死は細胞の崩壊現象である壊死（ネクローシス）と考えられた。1990年代後半になって生体の器官発生の際に、秩序だった細胞死によって失われる1群の細胞集団があることが明らかとされプログラム細胞死の概念が生まれた。

そのプログラム細胞死の過程で、アポトーシスが起きていることがわかりアポトーシスの分子誘導機構の解明が進んだ。Sulston Jは線虫の発生過程における細胞系譜を詳細に解析し、1090個の細胞の内131個が決まった時期と場所でアポトーシスによって失われていることを見出した²⁾。そしてHorvitz Rは線虫の発生過程で起こるアポトーシスに関わる遺伝子を同定した³⁾。線虫のアポトーシスでは、Cell death abnormal (CED)-4の下流でCED-3が働きアポトーシスを誘導する⁴⁾。CED-9はCED-4を阻害してアポトーシス抑制的に機能し、Egg-laying defective (EGL)-1はCED-9を抑制することによってCED-4阻害効果を打ち消し、アポトーシスを促進する^{5,7)}。これらのアポトーシス関連因子はヒトでも保存されており、ヒト細胞におけるアポトーシス誘導の分子メカニズムが解明されてきた。線虫のEGL-1, CED-9, CED-4, CED3は、ヒトでは、後に述べるBH3 onlyタンパク質、Bcl-2, Apaf-1, caspaseにそれぞれ相当する⁸⁾。Brenner S, Horvitz RとSulston Jはこれらの功績「器官発生とプログラム細胞死の遺伝制御に関する発見」によって2002年のノーベル医学・生理学賞を受賞している。

アポトーシスの誘導機構

アポトーシス誘導機構は外因経路 (Extrinsic pathway) と内因経路 (Intrinsic pathway) の2つに大別される⁹⁾¹⁰⁾ (図1)。外因経路では、細胞膜上または細胞外に分泌されたデスリガンド (death ligand) が、標的となる細胞の細胞膜上で膜貫通型タンパク質として存在するデスレセプター (death receptor) に結合して細胞内にアポトーシスシグナルを伝達する¹¹⁾。デスリガンドはTumor-necrosis factor (TNF) ファミリーに属したTNF α , FS-7-associated surface antigen (Fas) ligand, TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) 等がある。それぞれが、細胞膜に存在する膜貫通型の特異的な受容

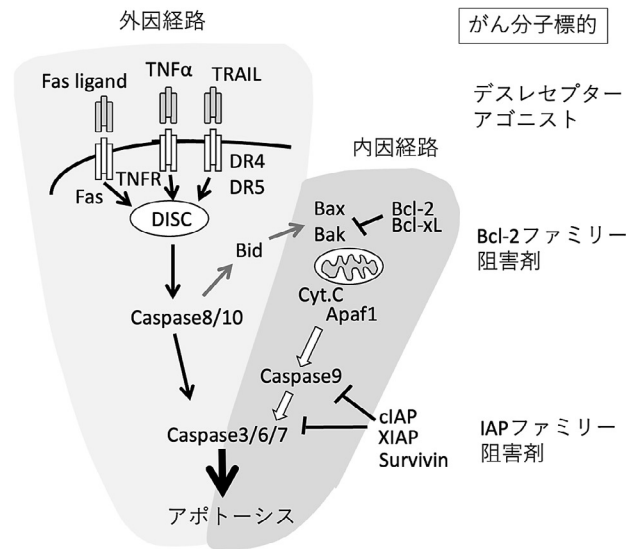


図1 アポトーシスのシグナル経路

アポトーシスは外因経路と内因経路の2つがある。外因経路はデスリガンドが細胞膜のデスレセプターに結合し、Caspaseを活性化させる。内因経路はミトコンドリアに刺激が伝わりCaspaseを活性化させる。外因経路からは、BIDを介して内因経路を活性化できる。

体に結合することでアポトーシスを誘導する。受容体にリガンドが結合すると、受容体の細胞内ドメインにアダプタータンパク [Fas-associated death domain (FADD), TNFRSF1A associated via death domain (TRADD)] と Pro-Cysteine aspartate-specific protease (Caspase)-8が結合し、Death-inducing signaling complex (DISC) が形成される¹²⁾。DISC内でPro-caspase-8は活性化し自己切断することによってプロテアーゼ活性をもったCaspase-8となる。続いてCaspase-8は下流に位置するPro-caspase-3/6/7を切断してCaspase-3/6/7を活性化する。Caspase-3/6/7は実行型Caspase (executioner caspaseまたはeffector caspase) と呼ばれ、様々な基質を切断してアポトーシスを遂行する。

内因経路では細胞死を誘導する刺激がミトコンドリアへ伝わり、ミトコンドリアを介してアポトーシスが実行される¹³⁾。ミトコンドリアは元々、好気性細菌が細胞内に共生して細胞内小器官になったと考えられている。ミトコンドリアは好気呼吸の場であり、生体エネルギーATP

合成の場となっている。また、好気呼吸のみならず様々な代謝経路もミトコンドリアが担っており、細胞が生存するためには必須の器官となっている。アポトーシスの内因性経路はこのミトコンドリアに集積しており、細胞の生と死の両方が細胞内共生細菌由来の器官に依存していることは大変興味深い。DNAダメージ等の細胞死刺激が生じると、それに応答する遺伝子群の発現誘導などを介してミトコンドリアにアポトーシス刺激が伝えられる。アポトーシス刺激はミトコンドリアの外膜の膜透過性を上昇させるが、ミトコンドリアでの膜透過性の変化はB cell leukemia gene-2 (Bcl-2) ファミリーによって拮抗的に制御されている¹⁴⁾¹⁵⁾。Bcl-2-associated X protein (Bax) およびBcl-2 homologous antagonist/killer (Bak) はアポトーシス刺激に応じて多量体化して、ミトコンドリアに集積して膜透過性を引き起こす孔を形成すると考えられており、BaxとBakはアポトーシス促進因子として働く。一方、Bcl-2などはBaxまたはBakと結合して多量体化を防ぎ、アポトーシス抑制因子と

して機能する。ミトコンドリアの外膜の膜透過性が上昇すると、Cytochrome Cが細胞質へ放出される。Cytochrome Cは好気呼吸の電子伝達系を担う分子であるがアポトーシス実行因子としての働きも持つ。細胞質へ放出されたCytochrome CはApoptosis protease activating factor-1 (Apaf1) およびPro-caspase-9と会合し、Apoptosome複合体を形成する。Apoptosome内でPro-caspase-9は自己消化して活性化し、活性型のCaspase-9を産生する¹⁶⁾。Caspase-9は先に述べた実行型CaspaseであるCaspase-3/6/7を切断して活性化し、Caspase-3/6/7が基質タンパク質を切断することによってアポトーシスを遂行する。BH3ドメインだけを持つBcl-2ファミリーメンバーはBaxと結合して構造変化を誘導したり、抗アポトーシスメンバーのBcl-2と結合してアポトーシス抑制効果を打ち消すことでアポトーシスを誘導する。細胞内にはアポトーシス抑制的なBcl-2ファミリーメンバーだけでなく、アポトーシスを阻害するInhibitor of Apoptosis (IAP) ファミリータンパク群が存在し、内在性のCaspase阻害タンパクとして機能する¹⁷⁾。外因経路と内因経路はアポトーシス誘導する独立した経路と考えられていたが、ある種の細胞ではデスリガンドによるアポトーシスもBcl-2によって阻害されることが見出された。そのような細胞ではCaspase-8がBH3 onlyタンパクのBH3 Interacting Domain Death Agonist (Bid)を切断し、切断されたtruncated Bid (tBid)がBaxとBakを活性化させることによって内因性経路を介したアポトーシス誘導を行っている¹⁸⁾¹⁹⁾。外因経路のみを通る細胞をType I、外因経路からtBidを介して内因経路をたどる細胞をTypeIIと呼んでいる。

アポトーシスでは、特徴的な細胞形態を示し、これらは実行型Caspaseによる基質の切断によって引き起こされる。アポトーシスを起こした細胞では、クロマチンの凝縮が生じるが、その凝縮に関わる因子としてApoptotic chromatin condensation-inducer in nucleus (Acinus)が同定されている²⁰⁾。その後、クロマチンはヌクレオソーム単位で断片化されるが、これは実

行型CaspaseがDNAaseの1種であるCaspase-activated DNase (CAD)を活性化することによる²¹⁾。CADはInhibitor of CAD (ICAD)と結合して活性が阻害されているが、実行型CaspaseがICADを切断することによってCADが活性化する²²⁾²³⁾。アポトーシスを起こした細胞では細胞表面にホスファチジルセリンが露出し、これがマクロファージによって貪食されるためのeat meシグナルとなっている。細胞表面のホスファチジルセリンに対して親和性のある蛍光標識Annexin V (別名Annexin A5)を用いて検出する実験系は、アポトーシスの評価に広く用いられている²⁴⁾。生細胞ではフリッパーゼATPase Phospholipid Transporting (ATP) 11AとATP11Cによってホスファチジルセリンは細胞膜の細胞質側に局在しているが、アポトーシスではこれらのフリッパーゼが実行型Caspaseによって活性を失う²⁵⁾²⁶⁾。そして、細胞膜のリン脂質をスクランブルするスクランブラーゼXK Related (XKR) 8が実行型Caspaseによって切断されて活性化することもホスファチジルセリンの露出に必要である²⁷⁾。また、核内因子X-Ray Repair Cross Complementing (XRCC) 4が実行型Caspaseによって切断され、その断片が細胞膜に移行し、XKR4と結合して活性化することがホスファチジルセリンの露出に関わるという報告もある²⁸⁾。

アポトーシス関連因子を分子標的とした抗がん剤

がん細胞にアポトーシスを誘導する分子標的として、①デスレセプターアゴニスト、②Bcl-2ファミリー阻害剤、③IAPファミリー阻害剤が抗がん剤として開発されており、これらを以下にまとめて紹介する。

デスレセプターアゴニスト

デスレセプターは細胞表面上に存在し、刺激が伝わることによって細胞にアポトーシスを誘導する。デスレセプターに作用する薬剤は細胞内に移行する必要はなく、細胞外からアポトーシス誘導シグナルを伝えられるためデスレセプターは有望な分子標的である。デスレセプター

表1 抗がん剤として臨床試験が行われているデスレセプターアゴニスト

	Drug name	Phase	Combination Setting	Tumor type	No. of patients	Study years	Sponsor	ID
TNF adenovirus	TNF erade	III	Fluorouracil + Radiation	pancreatic cancer	304	2003~2012	GenVec	NCT00051467
Recombinant TRAIL	Dulanermin (AMG951)	II	Bevacizumab + Paclitaxel+ Carboplatin	Stage IIIb/IV non-small cell lung cancer (NSCLC)	213	2007 ~2011	Amgen	NCT00508625
		II	Rituximab	B-Cell non-Hodgkin's lymphoma	72	2006 ~2011	Genentech	NCT00400764
		II	Carboplatin, Paclitaxel, Bevacizumab	Non-small cell lung cancer (NSCLC)	213	2007 ~2012	Amgen	NCT00508625
		III	Monotherapy	Advanced non-small cell lung cancer (NSCLC)	417	2016 ~2018	Shanghai Gebaide Biotechnology	NCT03083743
Circularly permuted TRAIL (CPT)		II	Thalidomide+ Dexamethasone	Relapsed or refractory multiple myeloma	47	2012 ~2017	Beijing Sunbio Biotech	ChiCTR-ONC-12002066
		III	Thalidomide + Dexamethasone	Relapsed or refractory multiple myeloma	278	2014 ~	Beijing Sunbio Biotech	ChiCTR-IPR-15006024
TRAIL inducer	TIC10 (ONC201)	III	Radiation	Diffuse Intrinsic Pontine Glioma	368	2022~	Gustave Roussy, Cancer Campus, Grand Paris	NCT05476939
		III	-	H3 K27M-mutant Diffuse Glioma	450	2022~	Chimerix	NCT05580562

に結合するデスリガンドのリコンビナントタンパク質やアゴニスティック抗体の開発が進められている。デスレセプターを標的とした抗がん剤の臨床試験について、その一部を表1に示した。デスレセプターは Tumor-necrosis factor receptor (TNFR) ファミリーが属する細胞膜貫通タンパク質であり、TNFR, FS-7-associated surface antigen (FAS), Death receptor (DR) 4と5がある¹¹⁾。TNFRにはTNF α が、FASにはFAS ligandが、DR4とDR5にはTRAILが結合してアポトーシスを誘導する(図1)。これらのリガンドは膜結合タンパク質として存在し、メタロプロテアーゼによって切られることで、可溶性としても機能する^{29,33)}。可溶性より膜結合型の方がアポトーシス誘導能は高いと言われている。

TNF α は名前のように腫瘍壊死因子として発見された。バクテリアの細胞壁にあるリポ多糖であるエンドトキシンをマウスに移植した腫瘍に注入すると壊死を引き起こすことから、エンドトキシンによって誘導される血清因子を腫瘍壊死因子TNFと名付けた³⁴⁾。また、がんや慢性疾患で見られる悪液質(カヘキシン)において

血清中に見られる因子 Cachectinが見出されたが、これは後にTNFと同じものであることが判明した^{35,36)}。TNFは種々のがん細胞に対し細胞毒性を示し、抗がん剤として臨床第1相試験が実施された³⁷⁾。しかし、発熱、寒気、頭痛、倦怠感といった副作用が見られ、また時折、白血球減少症、血小板減少症、単球増加症、低血圧、トランスアミナーゼ値増加、高ビリルビン値など様々な副作用が見られた。TNFRは様々な組織で発現しているため、多くの副作用が出てしまう。そこで、腫瘍局所で働くために放射線によってTNF α が発現するアデノウイルスベクターTNF eradeが開発され、膀胱がん患者に対して放射線と併用によって臨床第III相試験が行われたが、生存期間の延長は認められなかった³⁸⁾(NCT00051467)。他に、Capecitabine + 放射線との併用によって直腸がんの臨床第II相試験(NCT00137878)、放射線と併用によって悪性黒色腫の臨床第II相試験(NCT00261404)が行われたが結果は公表されていない。TNFは細胞に対してはアポトーシスを誘導するが、マウスのがん移植モデルではTNF投与によって低血圧と

なり、腫瘍への血流が阻害され壊死（ネクロシス）していたと考えられている。TNFはリウマチにおいて高く発現しており、抗TNF抗体は病状を抑制することができる³⁹⁾。2002年に抗TNF- α ヒトモノクローナル抗体Adalimumab（商品名：Humira）は慢性関節リウマチ治療薬としてFDAに承認されており、Humiraは2020年に世界で最も売れた医薬品である（2021年はCOVID-19のワクチンComirnatyが最も売れた医薬品である⁴⁰⁾。Humiraは乾癬、クローン病、潰瘍性大腸炎の治療薬としても適応になっている。

FASは細胞死を引き起こすモノクローナル抗体の抗原として発見され、FASに結合する分子からFASリガンドが同定された⁴¹⁾⁴²⁾。FASは肝臓で高く発現しており、抗FAS抗体やFASリガンドのマウスへの投与は劇症肝炎を引き起こす⁴³⁾⁴⁴⁾。このような、毒性からFASを分子標的とした抗がん剤開発は試みられていない。一方、慢性肝炎から肝臓がんに至るマウスモデルにおいては、FASリガンドを抑制する中和抗体の投与が炎症だけでなく肝臓がんの発生を抑える⁴⁵⁾。肝炎による肝がん発症においては、FASを介した細胞死誘導よりもFAS-FASリガンドの機能を抑制した方が治療法として有望である可能性がある。

TRAILはTNFに相同性を持つcDNAのスクリーニングによって同定された⁴⁶⁾⁴⁷⁾。後にTRAIL受容体が発見され、アポトーシス誘導性のDR4とDR5、そして細胞内のデスドメインを失っているためにアポトーシスを誘導できないデコイ受容体DcR1とDcR2の存在が知られている⁴⁸⁾⁵⁰⁾。DcR1とDcR2はDR4とDR5に対してTRAILとの結合に拮抗し、阻害因子として機能する。TRAILは多様ながん種の細胞に対してアポトーシスを誘導するが、正常細胞にはほとんど影響しなかったことから有望な抗がん剤として開発が進められている⁵¹⁾⁵²⁾。DR4またはDR5を分子標的とした、アゴニスティック抗体やリコンビナントTRAILタンパク質が開発され、単剤または他剤との併用によって多数の臨床第I相試験と臨床第II相試験が行われた⁵³⁾。リコンビナントTRAILタンパク質Dulanerminは非小細胞肺癌に対してVinorelbine + Cisplatinと併用によって

臨床第III相試験が行われた⁵⁴⁾。無増悪生存期間の延長と全奏効率の改善が見られたが、全生存期間の延長の改善は見られなかった。さらに、他の臨床第III相試験が実施されている（NCT03083743）。また他のリコンビナントTRAILタンパク質Circularly permuted TRAIL（CPT）でも多発性骨髄腫患者に対しThalidomide + Dexamethasoneとの併用によって臨床第II相試験が行われた。無増悪生存期間の延長と全奏効率の改善が見られ、臨床第III相試験が行われている（ChiCTR-IPR-15006024）。また、TRAILの発現を誘導するTRAIL-inducing compound（TIC）10が開発された⁵⁵⁾。TIC10は後にONC201とも呼ばれ、Aktを阻害することでTRAILの発現を誘導していること、CHOPを介してTRAILの受容体DR5の発現も誘導していることが報告されている⁵⁶⁾。現在ONC201は臨床第III相試験が行われている（NCT05476939, NCT05580562）。筆者らは、TRAILが転写因子RUNX1の標的であること、またRUNX1-ETO融合タンパク質を有するt(8;21)染色体転座型急性骨髄性白血病細胞においてTRAILは発現抑制を受けていることを見だし⁵⁷⁾、TRAIL経路は白血病の新規治療標的となる可能性を示している。

Bcl-2ファミリー阻害剤

Bcl-2遺伝子はヒト濾胞性リンパ腫のt(14;18)転座点近傍に位置する癌遺伝子としてクローニングされた⁵⁸⁾⁵⁹⁾。染色体相互転座によって免疫グロブリン重鎖の遺伝子座と並置し、そのエンハンサーの制御を受けて発現が亢進している。図2に示したようにBcl-2ファミリーには、アポトーシスを抑制するタンパク質と促進するタンパク質がある。抑制するタンパク質はBcl-2 Homology (BH) ドメインを4つ持ち、Bcl-xL⁶⁰⁾、Bcl-w⁶¹⁾、Myeloid leukemia cell differentiation protein (MCL-1)⁶²⁾、A1⁶³⁾がある。促進するタンパク質はBH1,2と3も持つMultidomainタンパク質Bax⁶⁴⁾、Bak⁶⁵⁾、Bcl-2-related ovarian killer protein (Bok)⁶⁶⁾とBH3だけを持つBH3 onlyタンパク質Bid⁶⁷⁾、Bcl-2 interacting mediator of cell

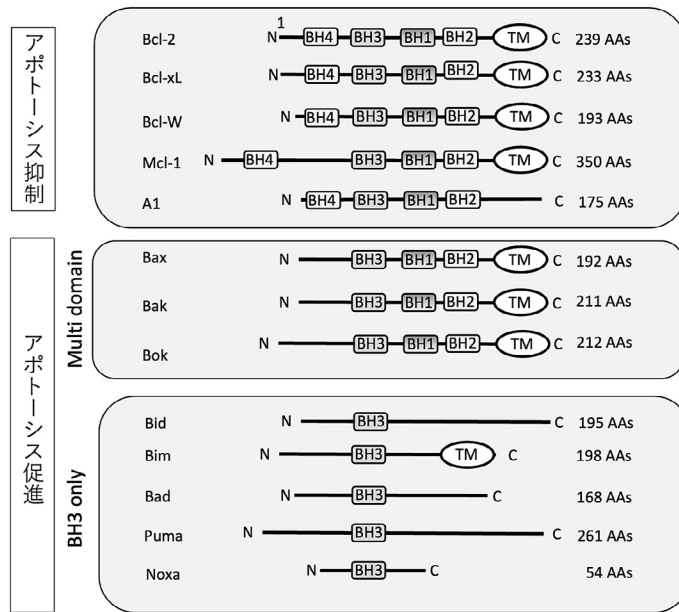


図2 Bcl-2ファミリーメンバー

アポトーシス抑制に働くメンバーはBcl-2 Homology (BH) ドメイン1~4を持つ。アポトーシス促進に働くメンバーは、BH1~3を持つMulti domainタンパク質とBH3のみを持つBH3 onlyタンパク質に分類される。ヒトタンパク質のアミノ酸数 [Amino Acids (AAs)] を記した。TM; Transmembrane ドメイン, N; N末端, C; C末端。

表2 抗がん剤として臨床試験が行われているBcl-2ファミリー阻害剤

Drug name	Phase	Combination Setting	Tumor type	No. of patients	Study years	Sponsor	ID
Venetoclax (ABT-199)	II, III	Cyclophosphamide, Doxorubicin, Etoposide, Prednisone, Rituximab, Vincristine	B-cell Lymphoma	374	2019~2022	National Cancer Institute (NCI)	NCT03984448
	III	Bortezomib, Dexamethasone	Multiple Myeloma	291	2016~2022	AbbVie	NCT02755597
	III	Rituximab	Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)	389	2018~2022	Hoffmann-La Roche	NCT02005471
	III	Azacitidine	Acute Myeloid Leukemia (AML)	400	2016~2022	AbbVie	NCT02993523
	III	Cytarabine	Acute Myeloid Leukemia (AML)	211	2017~2020	AbbVie	NCT03069352
Navitoclax (ABT-263)	I, II	-	Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)	60	2007~2022	AbbVie	NCT00481091

death (Bim)⁶⁸, BCL2 associated agonist of cell death (Bad)⁶⁹, p53 upregulated modulator of apoptosis (Puma)⁷⁰, Noxa (damageに対するギリシャ語にちなんで命名)⁷¹がある。

*Bcl-2*遺伝子は、慢性リンパ性白血病 (Chronic lymphocytic leukemia [CLL]) では発現亢進が見られ⁷²、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫⁷³や小細胞肺癌⁷⁴での増幅が見られる。*Bcl-xL*の発現亢進が、神経芽腫⁷⁵、胃がん⁷⁶、大腸がん⁷⁷、前立腺がん⁷⁸、肝がん⁷⁹で見られる。アポトーシス促進型*Bcl-2*ファミリーでは、*Bax*遺伝子のフレームシフト変異が大腸がん⁸⁰、機能喪失変異が造血器腫瘍で見られる⁸¹。パーキットリンパ腫では*Bim*と*Puma*遺伝子のエピジェネティックな発現抑制が^{82,83}、マンツル細胞リンパ腫では*Bim*遺伝子のホモ接合欠失⁸⁴が起きている。このように、多くのがんにおいて*Bcl-2*ファミリー因子の機能異常が、アポトーシスを抑制するように生じており、*Bcl-2*ファミリー因子を分子標的とした抗がん剤の開発が進められている。表2にその臨床試験について一部掲載した。

*Bcl-2*に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドG3139 (Genasense) が開発されて臨床試験が行われたが⁸⁵、その効果は*Bcl-2*発現抑制よりインターフェロンを誘導することに依存していることが判明した⁸⁶。次に、*Bcl-2*は*Bax*のBH3 domainと結合していることからBH3 domainを模倣したBH3 mimetic分子の開発が進められた。臨床第I, II相試験においてNavitoclax (ABT-263) は慢性リンパ性白血病に対して優位な効果を示したが、血小板減少症のため濃度の制限がされた^{87,88}。Navitoclaxは*Bcl-xL*の阻害効果もあり、*Bcl-xL*は血小板産生に必要な遺伝子である。そこで、*Bcl-2*を選択的に阻害し血小板減少作用を低減したVenetoclax (ABT-199) が開発された⁸⁹。

Venetoclaxは慢性リンパ性白血病に対してRituximabとの併用で臨床第III試験が行われた。4年後の無増悪期間はVenetoclax + Rituximab (57.3%)、Rituximab (4.6%)、全生存期間はVenetoclax + Rituximab (85.3%)、Rituximab

(66.8%)と上昇していた (NCT02005471)⁹⁰。急性骨髄性白血病に対してはAzacitidineと併用または低容量Cytarabine (LDAC) と併用によって臨床第III試験が行われ、いずれも全生存期間中央値の延長が見られている (NCT02993523, NCT03069352)^{91,92}。2016年にFDAは1つ以上の受療歴があり、17番染色体短腕 (17 p) が欠失している再発もしくは難治性リンパ性白血病 (CLL) 患者に対しVenetoclaxを承認した。2018年には、FDAは75歳以上で新たに急性骨髄性白血病 (AML) と診断されたか、集中的な導入化学療法が非適応となる合併症を有する急性骨髄性白血病患者を対象としてVenetoclaxを迅速承認し、2020年には完全承認した。日本では、2019年に慢性リンパ性白血病に対して、2021年に急性骨髄性白血病に対して承認されている。多発性骨髄腫に対しても臨床第III相試験が行われた (NCT0200547)⁹³。無増悪生存期間はVenetoclax群で22.4カ月プラセボ群で11.5カ月であり、有意に増加していた。しかし、Venetoclax群で肺炎と敗血症による3名の死者が出ており感染率の増加が見られた。またB細胞リンパ腫や乳がんにおいて臨床第II相試験が実施されている (NCT03984448, NCT02755597)。

*RUNX1*遺伝子変異を持つ急性骨髄性白血病細胞はVenetoclaxに対する感受性が高いことが報告されていたが⁹⁴、実際に、難治性・再発性急性骨髄性白血病のうち*RUNX1*遺伝子変異を持つ群はこの分子標的薬に対し比較的反応性が高いことが臨床研究で示され始めている⁹⁵。t (8;21)染色体転座型急性骨髄性白血病で生じている*RUNX1-ETO*融合転写因子は*BCL-2*遺伝子の転写を活性化させることが以前から知られていたが⁹⁶、今回明らかにされたように*RUNX1*ゲノム変異保有白血病細胞がどのようなメカニズムによってVenetoclax感受性を獲得しているのか、その解明が待たれるところである。

また、前述したNavitoclaxでは、Myofibrosisに対して臨床第III相試験が実施されている (NCT04468984, NCT04472598)。

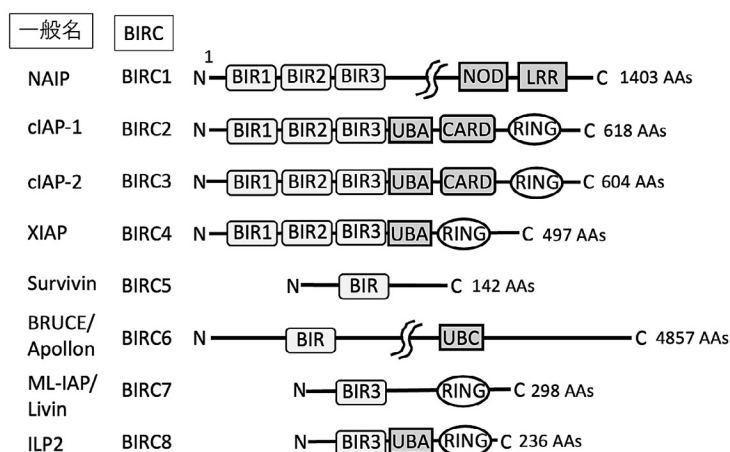


図3 IAPファミリーメンバー

IAPファミリーメンバーは、Baculovirus IAP Repeat (BIR) ドメインを1~3個持つ。一般名と BIR-containing (BIRC) で分類された名称がある。ヒトタンパク質のアミノ酸数 [Amino Acids (AAs)] を記した。UBA; Ubiquitin-Associated, UBC; Ubiquitin-Conjugating, RING; Really Interesting New Gene ドメイン, NOD; Nucleotide-binding and Oligomerization Domain, LRR; Leucine Rich Repeat, N; N 末端, C; C 末端。

表3 抗がん剤として臨床試験が行われている IAPファミリー阻害剤

Drug name	Phase	Combination Setting	Tumor type	No. of patients	Study years	Sponsor	ID
AT-406/Debio-1143	I	Daunorubicin+cytarabine	Acute Myelogenous Leukemia (AML)	29	2010~2013	Ascenta Therapeutics	NCT01265199
	I	-	Solid Tumor, Lymphoma	51	2010~2018	Debiopharm International SA	NCT01078649
GDC-0152	I	-	Solid Cancer	40	2009~2017	Genentech	NCT00977067
ASTX660	I, II	-	Solid Tumor, Lymphoma	230	2015~	ASTex Pharmaceuticals	NCT02503423
	I, II	-	T-cell Lymphoma	61	2020~	Otsuka Pharmaceutical	NCT04362007
LCL161	I	Anti-PD1 antibody	Colorectal Cancer, Non-small Cell Lung Carcinoma, Triple Negative Breast Cancer	298	2016~2022	Novartis Pharmaceuticals	NCT02890069
	I	Anti-PD1 antibody	Multiple Myeloma	26	2017~2022	Novartis Pharmaceuticals	NCT03111992
Birinapant (TL32711)	I	-	Solid Tumor, Lymphoma	50	2009~2016	TetraLogic Pharmaceuticals	NCT00993239
	II	-	Epithelial Ovarian Cancer, Peritoneal Neoplasms, Fallopian Tube Neoplasms	11	2015~2017	National Cancer Institute (NCI)	NCT01681368
	II	Azacitidine	Myelodysplastic Syndrome (MDS) Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML)	118	2014~2016	TetraLogic Pharmaceuticals	NCT02147873
	I, II	pembrolizumab	Solid Tumors	34	2021~	Medivir	NCT02587962

IAPファミリー阻害剤

IAPはヒトでは8種類存在し、これらは1~3個のBaculoviral inhibitor of apoptosis repeat (BIR) ドメインを有する(図3)。それぞれが、一般名だけでなくBIR containing (BIRC) 1~8の名称もつけられている。BIRドメインを介してCaspaseと結合しアポトーシスを阻害する。Cellular inhibitor of apoptosis protein1 (cIAP1), cIAP2, X-Linked Inhibitor of Apoptosis Protein (XIAP), LIVIN, IAP-like protein 2 (ILP2)はReally Interesting New Gene (RING) ドメインも有しE3ユビキチンリガーゼとしての機能も持つ⁹⁷⁾。最初に報告されたヒトIAPsのメンバーはNeuronal apoptosis inhibitor protein (NAIP)である⁹⁸⁾。NAIPはType I spinal muscular atrophy (SMA)患者において部分欠失し、原因遺伝子候補として報告されている。続いて、XIAP, cIAP1とcIAP2の3つのIAPsのcDNAがクローニングされた⁹⁹⁾。さらに、Survivin, BIR repeat containing ubiquitin-conjugating enzyme (Bruce), Ilp-2のcDNAがクローニングされた¹⁰⁰⁻¹⁰²⁾。アポトーシスの内因性経路では、ミトコンドリアからCytochrome Cの他にSecond mitochondria-derived activator of caspase/Direct IAP Binding protein with Low pI (Smac/Diablo)も放出される¹⁰³⁾。SmacはIAPタンパク質のBIRドメインに結合することによってCaspaseを開放し、アポトーシスを促進する。Smacを模倣したSmac mimeticがIAPsを阻害する抗がん剤として開発されている¹⁰⁴⁾。SmacのN末端領域にあるAVPI (Ala-Val-Pro-Ile)という断片がIAPsの抑制に寄与しており、この断片を基にしたAT-406/Debio-1143, GDC-0512, ASTX660, LCL161, Birinapantが開発されている。臨床試験について一部を表3に示した。

AT-406/Debio 1143は進行がんに対し臨床試験が行われたが効果は弱く、次の試験には進んでいない¹⁰⁵⁾。GDC-0512はcIAP1, cIAP2, XIAP, Livinに結合し、IAPsに対して広く阻害効果を持つ。乳がんとグリオーマの移植マウスモデルにおいてGDC-0512の経口投与は腫瘍抑制効果を

示している。安全性と薬物動態に対する臨床試験が行われたが(NCT00977067)、さらなる試験には進んでいない¹⁰⁶⁾。ASTX660では進行がんとリンパ腫に対して臨床第I相試験が行われ、皮膚T細胞性リンパ腫の皮膚病変の抑制が見られた。臨床第II相試験が行われている(NCT02503423, NCT04362007)¹⁰⁷⁾。LCL161は固形腫瘍の患者に対して経口投与によって臨床第I相試験が行われたが腫瘍縮小効果は見られなかった¹⁰⁸⁾。抗PD1抗体との併用によって固形腫瘍(NCT02890069)、多発性骨髄腫(NCT03111992)に対し臨床第I相試験が実施されている。Birinapantは固形腫瘍またはリンパ腫に対して臨床試験が行われ(NCT00993239)、約30%の患者は安定[stable disease (SD)]であったが、腫瘍縮小効果は見られなかった¹⁰⁹⁾。卵巣がん(NCT01681368)と慢性骨髄単球性白血病(NCT02147873)に対して臨床第II相試験が行われたが、臨床の有用性は見られなかった¹¹⁰⁾。さらにPembrolizumabと併用で臨床第I, II相試験が行われている(NCT02587962)。

おわりに

細胞死を誘導してがん細胞を除去することは理想的ながん治療戦略のひとつに挙げられる。アポトーシス遂行の分子機構の解析から、約20年間アポトーシス因子を標的とした抗がん剤開発が行われてきたが、今までのところ承認されたものはBcl-2阻害剤Venetoclaxのみであり、開発状況は芳しくない。アポトーシス因子を標的とした抗がん剤開発の課題として、一つには、がん細胞やがんマウスモデルほどヒト臨床では細胞死を誘導できない点が挙げられる。また、アポトーシスは正常組織の分化や恒常性維持にも使われており、がん細胞だけでなく正常細胞にも細胞死を引き起こし副作用が現れてしまう。また、Bcl-2やIAPsはファミリーを形成しているため、抗がん剤の効果が他のファミリー分子の発現増加などによって、耐性を獲得してしまう点も挙げられる。がん細胞は遺伝子が変異しやすく、標的となるアポトーシス遺伝子に変異が生じ、薬剤耐性になることもある。アポトーシ

ス因子を分子標的とした抗がん剤が、より特異的にがん細胞に対して細胞死を誘導するために、分子マーカーの開発などによって、Venetoclaxに続く有望なアポトーシス分子標的抗がん剤が登場することを期待する。

最近では、非アポトーシス細胞死の存在も明らかにされている。オートファジー様細胞死¹¹¹⁾、ネクロトーシス¹¹²⁾¹¹³⁾、フェロトーシス¹¹⁴⁾、パイロトーシス¹¹⁵⁾といった細胞死の誘導分子機構も解明されつつある。これらの細胞死は、誘導条件が限られることや、細胞内容物を拡散して炎症を誘発するなどアポトーシスに比べて問題点もあるが、これらの非アポトーシス細胞死を制

御することも新たな抗がん剤開発の戦略となる。いつの日か細胞死制御による「分子メス」によって、がんが克服されることを期待する。

謝 辞

本総説の執筆にあたって当教室所属メンバー各位のご協力に感謝する。著者らの活動は公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団2022年度助成(吉田)やJSPS科研費JP22K08483(奥田)の支援を受けている。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 26: 239-257, 1972.
- 2) Sulston JE, Schierenberg E, White JG, Thomson JN. The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*. 100: 64-119, 1983.
- 3) Ellis HM, Horvitz HR. Genetic control of programmed cell death in the nematode *C. elegans*. *Cell*. 44: 817-829, 1986.
- 4) Yang X, Chang HY, Baltimore D. Essential role of CED-4 oligomerization in CED-3 activation and apoptosis. *Science*. 281: 1355-1357, 1998.
- 5) Hengartner MO, Ellis RE, Horvitz HR. *Caenorhabditis elegans* gene *ced-9* protects cells from programmed cell death. *Nature*. 356: 494-499, 1992.
- 6) Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Lane BR, Dixit VM. Interaction of CED-4 with CED-3 and CED-9: a molecular framework for cell death. *Science*. 275: 1122-1126, 1997.
- 7) Yan N, Chai J, Lee ES, Gu L, Liu Q, He J, Wu JW, Kokel D, Li H, Hao Q, Xue D, Shi Y. Structure of the CED-4-CED-9 complex provides insights into programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 437: 831-837, 2005.
- 8) Zou H, Henzel WJ, Liu X, Lutschg A, Wang X. Apaf-1, a human protein homologous to *C. elegans* CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. *Cell*. 90: 405-413, 1997.
- 9) Sprick MR, Walczak H. The interplay between the Bcl-2 family and death receptor-mediated apoptosis. *Biochim Biophys Acta*. 1644: 125-132, 2004.
- 10) Jin Z, El-Deiry WS. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther*. 4: 139-163, 2005.
- 11) Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science*. 281: 1305-1308, 1998.
- 12) MacFarlane M. TRAIL-induced signalling and apoptosis. *Toxicol Lett*. 139: 89-97, 2003.
- 13) van Loo G, Saelens X, van Gurp M, MacFarlane M, Martin SJ, Vandenberghe P. The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet. *Cell Death Differ*. 9: 1031-1042, 2002.
- 14) Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev*. 87: 99-163, 2007.
- 15) Tsujimoto Y, Shimizu S. Bcl-2 family: life-or-death switch. *FEBS Lett*. 466: 6-10, 2000.
- 16) Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, Wang X. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*. 91: 479-489, 1997.
- 17) Miller LK. An exegesis of IAPs: salvation and surprises from BIR motifs. *Trends Cell Biol*. 9: 323-8, 1999.
- 18) Luo X, Budihardjo I, Zou H, Slaughter C, Wang X. Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell*. 94: 481-490, 1998.
- 19) Li H, Zhu H, Xu CJ, Yuan J. Cleavage of BID by cas-

- pase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell*. 94: 491-501, 1998.
- 20) Sahara S, Aoto M, Eguchi Y, Imamoto N, Yoneda Y, Tsujimoto Y. Acinus is a caspase-3-activated protein required for apoptotic chromatin condensation. *Nature*. 401: 168-173, 1999.
 - 21) Mukae N, Enari M, Sakahira H, Fukuda Y, Inazawa J, Toh H, Nagata S. Molecular cloning and characterization of human caspase-activated DNase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 95: 9123-9128, 1998.
 - 22) Sakahira H, Enari M, Nagata S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature*. 391: 96-99, 1998.
 - 23) Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, Iwamatsu A, Nagata S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature*. 391: 43-50, 1998.
 - 24) Koopman G, Reutelingsperger CP, Kuijten GA, Keehnen RM, Pals ST, van Oers MH. Annexin V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergoing apoptosis. *Blood*. 84: 1415-1420, 1994.
 - 25) Naito T, Takatsu H, Miyano R, Takada N, Nakayama K, Shin HW. Phospholipid Flippase ATP10A Translocates Phosphatidylcholine and Is Involved in Plasma Membrane Dynamics. *J Biol Chem*. 290: 15004-15017, 2015.
 - 26) Segawa K, Nagata S. An Apoptotic 'Eat Me' Signal: Phosphatidylserine Exposure. *Trends Cell Biol*. 25: 639-650, 2015.
 - 27) Suzuki J, Denning DP, Imanishi E, Horvitz HR, Nagata S. Xk-related protein 8 and CED-8 promote phosphatidylserine exposure in apoptotic cells. *Science*. 341: 403-406, 2013.
 - 28) Maruoka M, Zhang P, Mori H, Imanishi E, Packwood DM, Harada H, Kosako H, Suzuki J. Caspase cleavage releases a nuclear protein fragment that stimulates phospholipid scrambling at the plasma membrane. *Mol Cell*. 81: 1397-1410, 2021.
 - 29) Kayagaki N, Kawasaki A, Ebata T, Ohmoto H, Ikeda S, Inoue S, Yoshino K, Okumura K, Yagita H. Metalloproteinase-mediated release of human Fas ligand. *J Exp Med*. 182: 1777-1783, 1995.
 - 30) Mohler KM, Sleath PR, Fitzner JN, Cerretti DP, Anderson M, Kerwar SS, Torrance DS, Otten-Evans C, Greenstreet T, Weerawarna K, Kronheim SR, Petersen M, Gerhart M, Kozlosky CJ, March CJ, Black RA. Protection against a lethal dose of endotoxin by an inhibitor of tumour necrosis factor processing. *Nature*. 370: 218-220, 1994.
 - 31) Gearing AJ, Beckett P, Christodoulou M, Churchill M, Clements J, Davidson AH, Drummond AH, Galloway WA, Gilbert R, Gordon JL, Leber TM, Mangan M, Miller K, Nayee P, Owen K, Patel S, Thomas W, Wells G, Wood LM, Woolley K. Processing of tumour necrosis factor- α precursor by metalloproteinases. *Nature*. 370: 555-557, 1994.
 - 32) McGeehan GM, Becherer JD, Bast Jr RC, Boyer CM, Champion B, Connolly KM, Conway JD, Furdon P, Karp K, Kidao S, McElroy AB, Nichols J, Pryzwansky KM, Schoenen F, Sekut L, Truesdale A, Verghese M, Warner J, Ways JP. Regulation of tumour necrosis factor- α processing by a metalloproteinase inhibitor. *Nature*. 370: 558-561, 1994.
 - 33) Shinnoh M, Horinaka M, Yasuda T, Yoshikawa S, Morita M, Yamada T, Miki T, Sakai T. Clostridium butyricum MIYAIRI 588 shows antitumor effects by enhancing the release of TRAIL from neutrophils through MMP-8. *Int J Oncol*. 42: 903-911, 2013.
 - 34) Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 3666-3670, 1975.
 - 35) Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, Ulevitch R, Cerami A. Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature*. 316: 552-554, 1985.
 - 36) Beutler BA, Milsark IW, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor: production, distribution, and metabolic fate in vivo. *J Immunol*. 135: 3972-7, 1985.
 - 37) Sherman ML, Spriggs DR, Arthur KA, Imamura K, Frei E 3rd, Kufe DW. Recombinant human tumor necrosis factor administered as a five-day continuous infusion in cancer patients: phase I toxicity and effects on lipid metabolism. *J Clin Oncol*. 6: 344-350, 1988.
 - 38) Herman JM, Wild AT, Wang H, Tran PT, Chang KJ, Taylor GE, Donehower RC, Pawlik TM, Ziegler MA, Cai H, Savage DT, Canto MI, Klapman J, Reid T, Shah RJ, Hoffe SE, Rosemurgy A, Wolfgang CL, Laheru DA. Randomized phase III multi-institutional study of TNFerade biologic with fluorouracil and radiotherapy for locally advanced pancreatic cancer: final results. *J Clin Oncol*. 31: 886-894, 2013.
 - 39) Brennan FM, Chantry D, Jackson A, Maini R, Feldmann M. Inhibitory effect of TNF α antibodies

- on synovial cell interleukin-1 production in rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2: 244-247, 1989.
- 40) Urquhart L. Top companies and drugs by sales in 2021. *Nat Rev Drug Discov*. 21: 251, 2022
 - 41) Itoh N, Yonehara S, Ishii A, Yonehara M, Mizushima S, Sameshima M, Hase A, Seto Y, Nagata S. The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell*. 66: 233-243, 1991.
 - 42) Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell*. 75: 1169-1178, 1993.
 - 43) Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adachi M, Matsuzawa A, Kasugai T, Kitamura Y, Itoh N, Suda T, Nagata S. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature*. 364: 806-809, 1993.
 - 44) Kondo T, Suda T, Fukuyama H, Adachi M, Nagata S. Essential roles of the Fas ligand in the development of hepatitis. *Nat Med*. 3: 409-413, 1997.
 - 45) Nakamoto Y, Kaneko S, Fan H, Momoi T, Tsutsui H, Nakanishi K, Kobayashi K, Suda T. Prevention of hepatocellular carcinoma development associated with chronic hepatitis by anti-fas ligand antibody therapy. *J Exp Med*. 196: 1105-1111, 2002.
 - 46) Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, Sutherland GR, Smith TD, Rauch C, Smith CA, Goodwin RG. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*. 3: 673-682, 1995.
 - 47) Pitti RM, Marsters SA, Ruppert S, Donahue CJ, Moore A, Ashkenazi A. Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Biol Chem*. 271: 12687-12690, 1996.
 - 48) MacFarlane M, Ahmad M, Srinivasula SM, Fernandes-Alnemri T, Cohen GM, Alnemri ES. Identification and molecular cloning of two novel receptors for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Biol Chem*. 272: 25417-25420, 1997.
 - 49) Pan G, Ni J, Wei YF, Yu G, Gentz R, Dixit VM. An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL. *Science*. 277: 815-818, 1997.
 - 50) Sheridan JP, Marsters SA, Pitti RM, Gurney A, Skubatch M, Baldwin D, Ramakrishnan L, Gray CL, Baker K, Wood WI, Goddard AD, Godowski P, Ashkenazi A. Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. *Science*. 277: 818-821, 1997.
 - 51) Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, Leung S, Lawrence DA, Marsters SA, Blackie C, Chang L, McMurtrey AE, Hebert A, DeForge L, Koumenis IL, Lewis D, Harris L, Bussiere J, Koeppen H, Shahrokh Z, Schwall RH. Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J Clin Invest*. 104: 155-162, 1999.
 - 52) Walczak H, Miller RE, Ariail K, Gliniak B, Griffith TS, Kubin M, Chin W, Jones J, Woodward A, Le T, Smith C, Smolak P, Goodwin RG, Rauch CT, Schuh JC, Lynch DH. Tumoricidal activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vivo. *Nat Med*. 5: 157-163, 1999.
 - 53) Twomey JD, Kim SR, Zhao L, Bozza WP, Zhang B. Spatial dynamics of TRAIL death receptors in cancer cells. *Drug Resist Updat*. 19: 13-21, 2015.
 - 54) Ouyang X, Shi M, Jie F, Bai Y, Shen P, Yu Z, Wang X, Huang C, Tao M, Wang Z, Xie C, Wu Q, Shu Y, Han B, Zhang F, Zhang Y, Hu C, Ma X, Liang Y, Wang A, Lu B, Shi Y, Chen J, Zhuang Z, Wang J, Huang J, Wang C, Bai C, Zhou X, Li Q, Chen F, Yu H, Feng J. Phase III study of dulanermin (recombinant human tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo2 ligand) combined with vinorelbine and cisplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Invest New Drugs*. 36: 315-322, 2018.
 - 55) Allen JE, Krigsfeld G, Mayes PA, Patel L, Dicker DT, Patel AS, Dolloff NG, Messaris E, Scata KA, Wang W, Zhou JY, Wu GS, El-Deiry WS. Dual inactivation of Akt and ERK by TIC10 signals Foxo3a nuclear translocation, TRAIL gene induction, and potent antitumor effects. *Sci Transl Med*. 5: 171ra17, 2013.
 - 56) Prabhu VV, Morrow S, Rahman Kawakibi A, Zhou L, Ralf M, Ray J, Jhaveri A, Ferrarini I, Lee Y, Parker C, Zhang Y, Borsuk R, Chang WI, Honeyman JN, Tavora F, Carneiro B, Raufi A, Huntington K, Carlsen L, Louie A, Safran H, Seyhan AA, Tarapore RS, Schalop L, Stogniew M, Allen JE, Oster W, El-Deiry WS. ONC201 and imipridones: Anti-cancer compounds with clinical efficacy. *Neoplasia*. 22: 725-744, 2020.
 - 57) Yoshida T, Yamasaki K, Tadagaki K, Kuwahara Y, Matsumoto A, Sofovic AE, Kondo N, Sakai T, Okuda T. Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand is a novel transcriptional target of runt related transcription factor 1. *Int J Oncol*. 60: 6, 2022.
 - 58) Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t (14;18) chromosome translocation. *Science*. 226: 1097-1099, 1984.

- 59) Tsujimoto Y, Croce CM. Analysis of the structure, transcripts, and protein products of *bcl-2*, the gene involved in human follicular lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 83: 5214-5218, 1986.
- 60) Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, Mao X, Nunez G, Thompson CB. *bcl-x*, a *bcl-2*-related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell*. 74: 597-608, 1993.
- 61) Gibson L, Holmgreen SP, Huang DC, Bernard O, Copeland NG, Jenkins NA, Sutherland GR, Baker E, Adams JM, Cory S. *bcl-w*, a novel member of the *bcl-2* family, promotes cell survival. *Oncogene*. 13: 665-675, 1996.
- 62) Kozopas KM, Yang T, Buchan HL, Zhou P, Craig RW. *MCL1*, a gene expressed in programmed myeloid cell differentiation, has sequence similarity to *BCL2*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90: 3516-3520, 1993.
- 63) Lin EY, Orlofsky A, Berger MS, Prystowsky MB. Characterization of *A1*, a novel hemopoietic-specific early-response gene with sequence similarity to *bcl-2*. *J Immunol*. 151: 1979-1988, 1993.
- 64) Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. *Bcl-2* heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, *Bax*, that accelerates programmed cell death. *Cell*. 74: 609-619, 1993.
- 65) Farrow SN, White JH, Martinou I, Raven T, Pun KT, Grinham CJ, Martinou JC, Brown R. Cloning of a *bcl-2* homologue by interaction with adenovirus E1B 19K. *Nature*. 374: 731-733, 1995.
- 66) Hsu SY, Kaipia A, McGee E, Lomeli M, Hsueh AJ. *Bok* is a pro-apoptotic *Bcl-2* protein with restricted expression in reproductive tissues and heterodimerizes with selective anti-apoptotic *Bcl-2* family members. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 12401-12406, 1997.
- 67) Wang K, Yin XM, Chao DT, Milliman CL, Korsmeyer SJ. *BID*: a novel BH3 domain-only death agonist. *Genes Dev*. 10: 2859-2869, 1996.
- 68) O'Connor L, Strasser A, O'Reilly LA, Hausmann G, Adams JM, Cory S, Huang DC. *Bim*: a novel member of the *Bcl-2* family that promotes apoptosis. *EMBO J*. 17: 384-395, 1998.
- 69) Otilie S, Diaz JL, Horne W, Chang J, Wang Y, Wilson G, Chang S, Weeks S, Fritz LC, Oltersdorf T. Dimerization properties of human *BAD*. Identification of a BH-3 domain and analysis of its binding to mutant *BCL-2* and *BCL-XL* proteins. *J Biol Chem*. 272: 30866-30872, 1997.
- 70) Nakano K, Vousden KH. *PUMA*, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *Mol Cell*. 7: 683-694, 2001.
- 71) Oda E, Ohki R, Murasawa H, Nemoto J, Shibue T, Yamashita T, Tokino T, Taniguchi T, Tanaka N. *Noxa*, a BH3-only member of the *Bcl-2* family and candidate mediator of p53-induced apoptosis. *Science*. 288: 1053-1058, 2000.
- 72) Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, Wojcik SE, Aqeilan RI, Zupo S, Dono M, Rassenti L, Alder H, Volinia S, Liu CG, Kipps TJ, Negrini M, Croce CM. *miR-15* and *miR-16* induce apoptosis by targeting *BCL2*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 102: 13944-13949, 2005.
- 73) Monni O, Joensuu H, Franssila K, Klefstrom J, Alitalo K, Knuutila S. *BCL2* overexpression associated with chromosomal amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 90: 1168-1174, 1997.
- 74) Olejniczak ET, Van Sant C, Anderson MG, Wang G, Tahir SK, Sauter G, Lesniewski R, Semizarov D. Integrative genomic analysis of small-cell lung carcinoma reveals correlates of sensitivity to *bcl-2* antagonists and uncovers novel chromosomal gains. *Mol Cancer Res*. 5: 331-339, 2007.
- 75) Dole MG, Jasty R, Cooper MJ, Thompson CB, Nunez G, Castle VP. *Bcl-xL* is expressed in neuroblastoma cells and modulates chemotherapy-induced apoptosis. *Cancer Res*. 55: 2576-2582, 1995.
- 76) Kondo S, Shinomura Y, Kanayama S, Higashimoto Y, Miyagawa JI, Minami T, Kiyohara T, Zushi S, Kitamura S, Isozaki K, Matsuzawa Y. Over-expression of *bcl-xL* gene in human gastric adenomas and carcinomas. *Int J Cancer*. 68: 727-730, 1996.
- 77) Jin-Song Y, Zhao-Xia W, Cheng-Yu L, Xiao-Di L, Ming S, Yuan-Yuan G, Wei D. Prognostic significance of *Bcl-xL* gene expression in human colorectal cancer. *Acta Histochem*. 113: 810-814, 2011.
- 78) Castilla C, Congregado B, Chinchon D, Torrubia FJ, Japon MA, Saez C. *Bcl-xL* is overexpressed in hormone-resistant prostate cancer and promotes survival of LNCaP cells via interaction with proapoptotic *Bak*. *Endocrinology*. 147: 4960-4967, 2006.
- 79) Watanabe J, Kushihata F, Honda K, Mominoki K, Matsuda S, Kobayashi N. *Bcl-xL* overexpression in human hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol*. 21: 515-519, 2002.
- 80) Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, Li Y, Sawai H, Reed JC, Perucho M. Somatic frameshift mutations in the *BAX* gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science*. 275: 967-969, 1997.

- 81) Meijerink JP, Mensink EJ, Wang K, Sedlak TW, Sloetjes AW, de Witte T, Waksman G, Korsmeyer SJ. Hematopoietic malignancies demonstrate loss-of-function mutations of BAX. *Blood*. 91: 2991-2997, 1998.
- 82) Richter-Larrea JA, Robles EF, Fresquet V, Beltran E, Rullan AJ, Agirre X, Calasanz MJ, Panizo C, Richter JA, Hernandez JM, Roman-Gomez J, Prosper F, Martinez-Clement JA. Reversion of epigenetically mediated BIM silencing overcomes chemoresistance in Burkitt lymphoma. *Blood*. 116: 2531-2542, 2010.
- 83) Garrison SP, Jeffers JR, Yang C, Nilsson JA, Hall MA, Rehg JE, Yue W, Yu J, Zhang L, Onciu M, Sample JT, Cleveland JL, Zambetti GP. Selection against PUMA gene expression in Myc-driven B-cell lymphomagenesis. *Mol Cell Biol*. 28: 5391-5402, 2008.
- 84) Tagawa H, Karnan S, Suzuki R, Matsuo K, Zhang X, Ota A, Morishima Y, Nakamura S, Seto M. Genome-wide array-based CGH for mantle cell lymphoma: identification of homozygous deletions of the proapoptotic gene BIM. *Oncogene*. 24: 1348-1358, 2005.
- 85) Jansen B, Wacheck V, Heere-Ress E, Schlagbauer-Wadl H, Hoeller C, Lucas T, Hoermann M, Hollenstein U, Wolff K, Pehamberger H. Chemosensitisation of malignant melanoma by BCL2 antisense therapy. *Lancet*. 356: 1728-1733, 2000.
- 86) Lai JC, Benimetskaya L, Santella RM, Wang Q, Miller PS, Stein CA. G3139 (oblimersen) may inhibit prostate cancer cell growth in a partially bis-CpG-dependent non-antisense manner. *Mol Cancer Ther*. 2003 2: 1031-1043, 2003.
- 87) Wilson WH, O'Connor OA, Czuczman MS, LaCasce AS, Gerecitano JF, Leonard JP, Tulpule A, Dunleavy K, Xiong H, Chiu YL, Cui Y, Busman T, Elmore SW, Rosenberg SH, Krivoshik AP, Enschede SH, Humerickhouse RA. Navitoclax, a targeted high-affinity inhibitor of BCL-2, in lymphoid malignancies: a phase 1 dose-escalation study of safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and antitumour activity. *Lancet Oncol*. 11: 1149-1159, 2010.
- 88) Roberts AW, Seymour JF, Brown JR, Wierda WG, Kipps TJ, Khaw SL, Carney DA, He SZ, Huang DC, Xiong H, Cui Y, Busman TA, McKeegan EM, Krivoshik AP, Enschede SH, Humerickhouse R. Substantial susceptibility of chronic lymphocytic leukemia to BCL2 inhibition: results of a phase I study of navitoclax in patients with relapsed or refractory disease. *J Clin Oncol*. 30: 488-496, 2012.
- 89) Souers AJ, Levenson JD, Boghaert ER, Ackler SL, Catron ND, Chen J, Dayton BD, Ding H, Enschede SH, Fairbrother WJ, Huang DC, Hymowitz SG, Jin S, Khaw SL, Kovar PJ, Lam LT, Lee J, Maecker HL, Marsh KC, Mason KD, Mitten MJ, Nimmer PM, Oleksijew A, Park CH, Park CM, Phillips DC, Roberts AW, Sampath D, Seymour JF, Smith ML, Sullivan GM, Tahir SK, Tse C, Wendt MD, Xiao Y, Xue JC, Zhang H, Humerickhouse RA, Rosenberg SH, Elmore SW. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. *Nat Med*. 19: 202-208, 2013.
- 90) Kater AP, Wu JQ, Kipps T, Eichhorst B, Hillmen P, D'Rozario J, Assouline S, Owen C, Robak T, de la Serna J, Jaeger U, Cartron G, Montillo M, Dubois J, Eldering E, Mellink C, Van Der Kevie-Kersemaekers AM, Kim SY, Chyla B, Punnoose E, Bolen CR, Assaf ZJ, Jiang Y, Wang J, Lefebure M, Boyer M, Humphrey K, Seymour JF. Venetoclax Plus Rituximab in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia: 4-Year Results and Evaluation of Impact of Genomic Complexity and Gene Mutations From the MURANO Phase III Study. *J Clin Oncol*. 38: 4042-4054, 2020.
- 91) DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, Garcia JS, Wei AH, Konopleva M, Dohner H, Letai A, Fenaux P, Koller E, Havelange V, Leber B, Esteve J, Wang J, Pejsa V, Hajek R, Porkka K, Illes A, Lavie D, Lemoli RM, Yamamoto K, Yoon SS, Jang JH, Yeh SP, Turgut M, Hong WJ, Zhou Y, Potluri J, Pratz KW. Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 383: 617-629, 2020.
- 92) Wei AH, Montesinos P, Ivanov V, DiNardo CD, Novak J, Laribi K, Kim I, Stevens DA, Fiedler W, Pagoni M, Samoiloova O, Hu Y, Anagnostopoulos A, Bergeron J, Hou JZ, Murthy V, Yamauchi T, McDonald A, Chyla B, Gopalakrishnan S, Jiang Q, Mendes W, Hayslip J, Panayiotidis P. Venetoclax plus LDAC for newly diagnosed AML ineligible for intensive chemotherapy: a phase 3 randomized placebo-controlled trial. *Blood*. 135: 2137-2145, 2020.
- 93) Kumar SK, Harrison SJ, Cavo M, de la Rubia J, Popat R, Gasparetto C, Hungria V, Salwender H, Suzuki K, Kim I, Punnoose EA, Hong WJ, Freise KJ, Yang X, Sood A, Jalaluddin M, Ross JA, Ward JE, Maciag PC, Moreau P. Venetoclax or placebo in combination with bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (BELLINI): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 21: 1630-1642, 2020.

- 94) Mill CP, Fiskus W, DiNardo CD, Birdwell C, Davis JA, Kadia TM, Takahashi K, Short N, Daver N, Ohanian M, Borthakur G, Kornblau SM, Green MR, Qi Y, Su X, Khoury JD, Bhalla KN. Effective therapy for AML with RUNX1 mutation by cotreatment with inhibitors of protein translation and BCL2. *Blood*. 139: 907-921, 2022.
- 95) Venugopal S, DiNardo CD, Loghavi S, Qiao W, Ravandi F, Konopleva M, Kadia T, Bhalla K, Jabbour E, Issa GC, Macaron W, Daver N, Borthakur G, Montalban-Bravo G, Yilmaz M, Patel KP, Kanagal-Shamanna R, Chien K, Maiti A, Kantarjian H, Short NJ. Differential prognostic impact of RUNX1 mutations according to frontline therapy in patients with acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 97: 1560-1567, 2022.
- 96) Klampfer L, Zhang J, Zelenetz AO, Uchida H, Nimer SD. The AML1/ETO fusion protein activates transcription of BCL-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93: 14059-64, 1996.
- 97) Weissman AM. Themes and variations on ubiquitylation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2: 169-178, 2001.
- 98) Roy N, Mahadevan MS, McLean M, Shutler G, Yaraghi Z, Farahani R, Baird S, Besner-Johnston A, Lefebvre C, Kang X, Salih M, Aubry H, Tamai K, Guan X, Ioannou P, Crawford TO, de Jong PJ, Surh L, Ikeda J-E, Korneluk RG, MacKenzie A. The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein is partially deleted in individuals with spinal muscular atrophy. *Cell*. 80: 167-178, 1995.
- 99) Uren AG, Pakusch M, Hawkins CJ, Puls KL, Vaux DL. Cloning and expression of apoptosis inhibitory protein homologs that function to inhibit apoptosis and/or bind tumor necrosis factor receptor-associated factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93: 4974-4978, 1996.
- 100) Uren AG, Pakusch M, Hawkins CJ, Puls KL, Vaux DL. Cloning and expression of apoptosis inhibitory protein homologs that function to inhibit apoptosis and/or bind tumor necrosis factor receptor-associated factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93: 4974-4978, 1996.
- 101) Hauser HP, Bardroff M, Pyrowolakis G, Jentsch S. A giant ubiquitin-conjugating enzyme related to IAP apoptosis inhibitors. *J Cell Biol*. 141: 1415-1422, 1998.
- 102) Richter BW, Mir SS, Eiben LJ, Lewis J, Reffrey SB, Frattini A, Tian L, Frank S, Youle RJ, Nelson DL, Notarangelo LD, Vezzoni P, Fearnhead HO, Duckett CS. Molecular cloning of ILP-2, a novel member of the inhibitor of apoptosis protein family. *Mol Cell Biol*. 21: 4292-4301, 2001.
- 103) Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, Connolly LM, Reid GE, Moritz RL, Simpson RJ, Vaux DL. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell*. 102: 43-53, 2000.
- 104) Cong H, Xu L, Wu Y, Qu Z, Bian T, Zhang W, Xing C, Zhuang C. Inhibitor of apoptosis protein (IAP) antagonists in anticancer agent discovery: Current status and perspectives. *J. Med. Chem*. 2019, 62, 5750-5772, 2019.
- 105) Hurwitz HI, Smith DC, Pitot HC, Brill JM, Chugh R, Rouits E, Rubin J, Strickler J, Vuagniaux G, Sorensen JM. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamic properties of oral DEBIO1143 (AT-406) in patients with advanced cancer: Results of a first-in-man study. *Cancer Chemother. Pharmacol*. 75: 851-859, 2015.
- 106) Flygare JA, Beresini M, Budha N, Chan H, Chan IT, Cheeti S, Cohen F, Deshayes K, Doerner K, Eckhardt SG. Discovery of a potent small-molecule antagonist of inhibitor of apoptosis (IAP) proteins and clinical candidate for the treatment of cancer (GDC-0152). *J. Med. Chem*. 55: 4101-4113, 2012.
- 107) Mita MM, LoRusso PM, Papadopoulos KP, Gordon MS, Mita AC, Ferraldeschi R, Keer H, Oganessian A, Su XY, Jueliger SA. Phase I study of ASTX660, an antagonist of inhibitors of apoptosis proteins, in adults with advanced cancers or lymphoma. *Clin. Cancer Res*. 26: 2819-2826, 2020.
- 108) Infante JR, Dees EC, Olszanski AJ, Dhuria SV, Sen S, Cameron S, Cohen RB. Phase I dose-escalation study of LCL161, an oral inhibitor of apoptosis proteins inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *J. Clin. Oncol*. 32: 3103-3110, 2014.
- 109) Amaravadi RK, Schilder RJ, Martin LP, Levin M, Graham MA, Weng DE, Adjei AA. A Phase I Study of the SMAC-Mimetic Birinapant in Adults with Refractory Solid Tumors or Lymphoma. *Mol Cancer Ther*. 14: 2569-2575, 2015.
- 110) Noonan AM, Bunch KP, Chen JQ, Herrmann MA, Lee JM, Kohn EC, O'Sullivan CC, Jordan E, Houston N, Takebe N, Kinders RJ, Cao L, Peer CJ, Figg WD, Annunziata CM. Pharmacodynamic markers and clinical results from the phase 2 study of the SMAC mimetic birinapant in women with relapsed platinum-resistant or -refractory epithelial ovarian cancer. *Cancer*. 122: 588-597, 2016.
- 111) Shimizu S, Yoshida T, Tsujioka M, Arakawa S. Autophagic cell death and cancer. *Int J Mol Sci*. 15:

- 3145-3153, 2014.
- 112) Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, Kroemer G. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 11: 700-714, 2010.
- 113) Fulda S. Therapeutic exploitation of necroptosis for cancer therapy. *Semin Cell Dev Biol.* 35: 51-56, 2014.
- 114) Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, Patel DN, Bauer AJ, Cantley AM, Yang WS, Morrison B 3rd, Stockwell BR. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell.* 149: 1060-1072, 2012.
- 115) Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-Mediated Programmed Necrotic Cell Death. *Trends Biochem Sci.* 42: 245-254, 2017.

著者プロフィール



吉田 達士 Tatsushi Yoshida

所属・職：京都府立医科大学分子生化学・講師
 略歴：1994年3月まで 千葉大学理学部生物学科在籍
 1999年3月まで 千葉大学大学院在籍
 1999年4月～ 戦略的基礎研究推進事業（CREST）勤務
 1999年8月～ 京都府立医科大学公衆衛生学
 名称変更：分子標的癌予防医学 助教・学内講師
 2007年11月～ Food and Drug Administration（FDA）研究員
 2009年4月～ 東京医科歯科大学病態細胞生物 助教・講師
 2014年4月～ 現職

専門分野：生化学，分子生物学，腫瘍学

- 主な業績：1. Yoshida T, Yamasaki K, Tadagaki K, Kuwahara Y, Matsumoto A, Sofovic AE, Kondo N, Sakai T, Okuda T. Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand is a novel transcriptional target of runt related transcription factor 1. *Int J Oncol*. **60**: 6, 2022.
2. Matsumoto A, Yoshida T, Shima T, Yamasaki K, Tadagaki K, Kondo N, Kuwahara Y, Zhang D. E, Okuda T. C11orf21, a novel RUNX1 target gene, is down-regulated by RUNX1-ETO. *BBA Advances*, **2**: 100047, 2022.
3. Arakawa S, Tsujioka M, Yoshida T, Tajima-Sakurai H, Nishida Y, Matsuoka Y, Yoshino I, Tsujimoto Y, Shimizu S. Role of Atg5-dependent cell death in the embryonic development of Bax/Bak double-knock-out mice. *Cell Death Differ*. **24**: 1598-1608, 2017.
4. Torii S*, Yoshida T*, Arakawa S, Honda S, Nakanishi A, Shimizu S. Identification of PPM1D as an essential Ulk1 phosphatase for genotoxic stress-induced autophagy. *EMBO Rep*. **17**: 1552-1564, 2016. *contributed equally
5. Yoshida T*, Tsujioka M*, Honda S*, Shimizu S. Autophagy suppresses cell migration by degrading GEF-H1, a RhoA GEF. *Oncotarget*. **7**: 34420-34429, 2016. *contributed equally
6. Mizutani S, Yoshida T, Zhao X, Nimer SD, Taniwaki M, Okuda T. Loss of RUNX1/AML1 arginine-methylation impairs peripheral T cell homeostasis. *Br J Haematol*. **170**: 859-873, 2015.
7. Horinaka M*, Yoshida T*, Tomosugi M, Yasuda S, Sowa Y, Sakai T. Myeloid zinc finger 1 mediates sulindac sulfide-induced upregulation of death receptor 5 of human colon cancer cells. *Sci Rep*. **4**: 6000, 2014. *contributed equally
8. Yoshida T, Zhang Y, Rivera Rosado LA, Chen J, Khan T, Moon SY, Zhang B. Blockade of Rac1 activity induces G1 cell cycle arrest or apoptosis in breast cancer cells through downregulation of cyclin D1, survivin and XIAP. *Mol Cancer Ther*. **9**: 1657-1668, 2010.
9. Yoshida T, Zhang Y, Rivera Rosado LA, Zhang B. Repeated treatment with subtoxic doses of TRAIL induces resistance to apoptosis through its death receptors in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Mol Cancer Res*. **7**: 1835-1844, 2009.
10. Taniguchi T, Yoshida T, Horinaka M, Yasuda T, Goda AE, Konishi M, Wakada M, Kataoka K, Yoshikawa T, Sakai T. Baicalein overcomes TRAIL resistance via two different cell specific pathways in cancer cells but not in normal cells. *Cancer Res*. **68**: 8918-8927, 2008.
11. Goda AE, Yoshida T, Horinaka M, Yasuda T, Shiraishi T, Wakada M, Sakai T. Mechanisms of enhancement of TRAIL tumoricidal activity against human cancer cells of different origin by dipyrindamole. *Oncogene*. **27**: 3435-3445, 2008.
12. Yoshida T, Shiraishi T, Nakata S, Horinaka M, Wakada M, Mizutani Y, Miki T, Sakai T. Proteasome inhibitor MG132 induces death receptor 5 through CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein. *Cancer Res*. **65**: 5662-5667, 2005.
13. Shiraishi T, Yoshida T, Nakata S, Horinaka M, Wakada M, Mizutani Y, Miki T, Sakai T. Tunicamycin enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in human prostate cancer cells. *Cancer Res*. **65**: 6364-6370, 2005.
14. Horinaka M, Yoshida T, Shiraishi T, Nakata S, Wakada M, Nakanishi R, Nishino H, Matsui H, Sakai T. Luteolin induces apoptosis via death receptor 5 upregulation in human malignant tumor cells. *Oncogene*. **24**: 7180-7189, 2005.
15. Nakata S, Yoshida T, Horinaka M, Shiraishi T, Wakada M, Sakai T. Histone deacetylase inhibitors upregulate death receptor 5/TRAIL-R2 and sensitize apoptosis induced by TRAIL/APO2-L in human malignant tumor cells. *Oncogene*. **23**: 6261-6271, 2004.