

<特集「造血制御・造血器腫瘍研究の最前線」>

プログラム細胞死制御から見た 造血器腫瘍の分子標的治療

黒田 純也, 谷脇 雅史

京都府立医科大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科学*

Insight into the Programmed Cell Death Pathway in Molecular Targeted Therapy for Hematologic Malignancies

Junya Kuroda and Masafumi Taniwaki

*Department of Hematology and Oncology,
Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

抄 録

疾患特異的分子制御異常を標的とした分子標的療法の進歩により、近年、造血器悪性腫瘍の治療成績は飛躍的に改善した。しかしながら、現有の分子標的薬剤による疾患の完治はいまだに困難なものも多く、更なる治療戦略の開発に向け、数多の新規薬剤が熾烈な開発競争のしごきを削っている。造血器悪性腫瘍の薬物療法は、すべての腫瘍細胞を根絶する“Total Cell Kill”であり、これにより完治が導かれると考えられてきた。このコンセプトを実現する治療法の確立には、腫瘍細胞の生と死を制御する細胞生物学的・分子生物学的メカニズムを理解し、その制御を可能にする至適な分子標的を明らかにすることが根幹となる。筆者らはこれまで、分子標的治療における造血器悪性腫瘍のプログラム細胞死 (programmed cell death; PCD) 制御メカニズム、ならびに腫瘍環境による造血器悪性腫瘍のPCD調節機構の解明による新たな分子標的の探索とその治療応用を目指した研究を進めてきた。本稿では、分子標的療法の導入による福音を最も享受した造血器悪性腫瘍といえる慢性骨髄性白血病を題材に、筆者らの研究結果を踏まえ、議論したい。

キーワード：造血器悪性腫瘍、慢性骨髄性白血病、プログラム細胞死、腫瘍環境、分子標的治療。

Abstract

Recent advance in the molecular targeted therapy has greatly improved the treatment outcome in various hematologic malignancies, however, the development of more effective therapeutic strategy is urgently needed for complete cure. To address the eventual goal of the treatment of hematologic malignancies is the “Total Cell Kill” concept which leads cure by eliminating all tumor cells, we have focused on the cellular and molecular regulatory pathways for cellular survival and death in hematologic tumor cells, especially regarding the regulatory mechanisms of programmed cell death (PCD) which are manipulated by various cell intrinsic oncogenic signaling and tumor environment factors. We here briefly touch about the common molecular regulatory systems for apoptosis, the first-type PCD in

mammalian cells, mainly focusing on Bcl-2 family proteins, and the roles of aberrant apoptotic regulation in the development and therapy in hematologic malignancies. Then, we summarize the findings from our research works on the identification of regulatory mechanisms of PCD, such as apoptosis, autophagy, or necrotic cell death, and the possible therapeutic application of knowledges on PCD in the molecular targeted therapy against chronic myelogenous leukemia.

Key Words: Hematologic malignancy, Chronic myelogenous leukemia, Programmed cell death, Tumor environment, Molecular targeted therapy.

はじめに

近年、疾患の病態形成に関わる分子生物学的メカニズムの統合的理解が様々な分子標的治療薬の開発へと発展し、造血器悪性腫瘍の治療成績は飛躍的に改善しつつある。例えば、t(15;17)染色体転座の産物である PML/RAR α 融合蛋白によって発症する急性前骨髄球性白血病 (Acute promyelocytic leukemia; APL) では、PML/RAR α による分化障害とアポトーシス抵抗性の両者を解除する全トランス型レチノイン酸 (all trans-Retinoic acid; ATRA) による分化誘導療法の導入の結果、寛解導入率は 90%以上に、6 年生存率も 70%に改善された。また、Philadelphia (Ph) 染色体異常による Bcr-Abl 融合蛋白により発症する慢性骨髄性白血病 (Chronic myelogenous leukemia; CML) は、Bcr-Abl チロシンキナーゼ阻害剤 (tyrosine kinase inhibitor; TKI) の導入により、慢性期症例の長期生存率は 90%以上に改善した。マウス・ヒトキメラ型抗 CD20 抗体である Rituximab は CD20 陽性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫の治療成績を著明に改善したほか、多発性骨髄腫では Unfolded protein response や NF κ B 活性、血管新生、細胞接着などを標的とする Bortezomib などのプロテアソーム阻害剤や Thalidomide, Lenalidomide など免疫修飾薬の導入により、平均生存期間が 3 年から 5~7 年に延長するなど、いずれの疾患においてもその福音は絶大である。しかしながら、これらの分子標的治療薬の効果にも関わらず、いまだに完治を約束できる治療戦略の完成には至っていない。

筆者らは、いかに分子標的治療法が進歩し化学療法戦略が変様しようとも完治をもたらす最終

ゴールは“Total Cell Kill”の実現と考え、分子標的治療におけるプログラム細胞死 (Programmed cell death; PCD) の制御メカニズムと腫瘍環境による調節機序の解明、その応用による新たな治療戦略の開発を目指した研究を進めてきた。本稿では、造血器悪性腫瘍における PCD の機能的・臨床的意義について触れたうえで、われわれの CML における研究を紹介したい。

造血器疾患と プログラム細胞死 (PCD)

遺伝子に制御された能動的細胞死である PCD にはアポトーシス、オートファジーを介した細胞死のほか、ネクローシス様細胞死 (necroptosis) が含まれる¹⁻³⁾。正常組織では細胞増殖と PCD による不要細胞の消去の絶妙のバランスにより発生、免疫反応の調節、病的細胞の除去が営まれているので、その破綻は過剰な免疫応答、自己免疫疾患、がんなど様々な疾患発症の誘引となる。又、がん細胞では PCD によって化学療法剤による細胞死が誘導されるので、その破綻は治療不成功の直接的原因ともなる。

造血器悪性疾患においても PCD 制御異常は疾患形成や治療反応に関与する^{4,5)}。APL では PML/RAR α 融合蛋白形成によってアポトーシス誘導機能を有する PML が機能喪失し、APL 細胞が過剰に蓄積する⁶⁾。また、濾胞性リンパ腫では t(14;18) 染色体転座などにより Bcl-2 が過剰発現することでアポトーシスが阻害され、無秩序なクローン性 B 細胞増殖が誘導される⁷⁾。一方、アポトーシス抵抗性分子である Mcl-1 や IAP ファミリー分子などの過剰発現と MM の治療抵抗性の関連^{8,9)}、Bcl-2 過剰発現とび慢性大細胞型リンパ腫の予後不良の関連¹⁰⁾、白血病幹

細胞における Mcl-1 発現亢進¹¹⁾ なども報告されている。

Bcl-2 ファミリーによる アポトーシス制御

PCD の中心的役割を果たすアポトーシスは、大別して (i) Bcl-2 ファミリー分子によって制御され、ミトコンドリア外膜の膜電位喪失とミトコンドリア内容物の細胞質への放出を point-of-no return とし、caspase-9, caspase-3 の活性化によって基質分解に至る内因性経路と、(ii) Fas ligand や TNF のデス・レセプターへの結合を起点とし、caspase-8 の活性化に至る外因性経路、の2つの経路によって成立している¹⁾。なかでも、多くの分子標的薬剤や化学療法剤は Bcl-2 ファミリー関連 (ミトコンドリア介在性) 内因性経路を介したアポトーシスによって腫瘍細胞に PCD を誘導する。

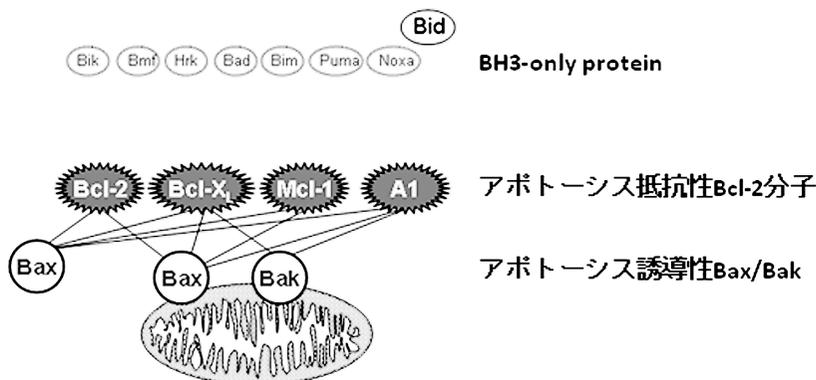
Bcl-2 ファミリーは Bcl-2 homology (BH) domain を共有する分子ファミリーであり、大別して BH1-4 の4つの domain を有する Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1 (Mcl-1 は BH1, 2, 3 domain のみ), A1 などのアポトーシス抵抗性分子とアポトーシス誘導性分子に分類される。後者はさらに BH1, 2, 3 domain からなる Bax, Bak らと、BH3 domain のみからなる BH3-only protein (Bim, Puma, Bad, Bmf, Bik, Hrk, Noxa, Bid など少なくとも8種が存在) に分類される (図1)⁵⁾¹²⁾。健康な細胞ではミトコンドリア外膜上、もしくは近傍の細胞質に Bax や Bak が存在し、いつ何時、アポトーシス誘導性刺激が加われればミトコンドリア外膜上でヘテロ2量体を形成して障害を与えるべくスタンバイ状態になっているが、アポトーシス抵抗性 Bcl-2 蛋白はこれらに結合・不活性化することでミトコンドリアを保護している。一方、BH3-only protein は発現抑制、あるいは翻訳後修飾によって不活性化状態にあるが、ひとたびアポトーシス刺激が加わると、刺激の種類、組織種に特異的に単独、もしくは重複して誘導・活性化され、アポトーシス抵抗性 Bcl-2 蛋白に結合し、Bax や Bak から解離させることで Bax や Bak をフリーにする (Initiation

phase)¹³⁾。この際、Bim や Puma は Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1, A1 などいずれのアポトーシス抵抗性 Bcl-2 蛋白にも結合しうが、他の BH3-only protein の結合パートナーは限定的であり、例えば Bad は Bcl-2, Bcl-X_L を阻害するが Mcl-1 に対しては結合できないし、Noxa は唯一、Mcl-1 に対してのみ阻害活性を有する¹⁴⁾。一方、Bim や Puma は直接的に Bak や Bcl-2 に結合し、活性化するという説もある¹⁵⁾。いずれにせよ、この結果、ミトコンドリア外膜に孔が生じ、cytochrome *c* (cyt *c*) や apoptosis-inducing factor (AIF), Diablo/Smac などが細胞質に放出されると (Point of no-return), cyt *c* は caspase-9, Apaf-1 との複合体である apoptosome を形成し下流の caspase-3 を活性化するほか、AIF は caspase 非依存的アポトーシスを誘導する (Execution phase) (図1)。Execution phase では Inhibitor of apoptosis (IAP) ファミリーである cIAP や XIAP などが caspase に結合し、その活性化を阻害する。よって、化学療法剤による内因性アポトーシス経路活性化の作用点は、Initiation phase における BH3-only protein の活性化とアポトーシス抵抗性 Bcl-2 蛋白の抑制の2局¹⁷⁾、ならびに Execution phase における IAP ファミリーの阻害に存在すると言える。

CMLのBcr-Abl TK阻害による アポトーシス誘導における Bcl-2ファミリーの機能と 治療応用の可能性

CML は多能性造血幹細胞レベルの血球に疾患特異的な染色体異常である Ph 染色体、すなわち t(9;22) (q34;q11) が生じ、この産物である Bcr-Abl 融合蛋白による形質転換によって発症する慢性骨髄増殖性疾患である。近年、Bcr-Abl TKI の開発により、CML の治療成績は劇的に改善したが¹⁸⁾¹⁹⁾、TKI 治療によっても微小病変が残存し完治が得難いこと、耐性獲得など解決すべき問題はまだまだ多い。そこで、著者らは CML 細胞における PCD 制御メカニズムの理解による新たな分子標的の探索をテーマとした研究を行ってきた。

Intact cells



Stimulated cells

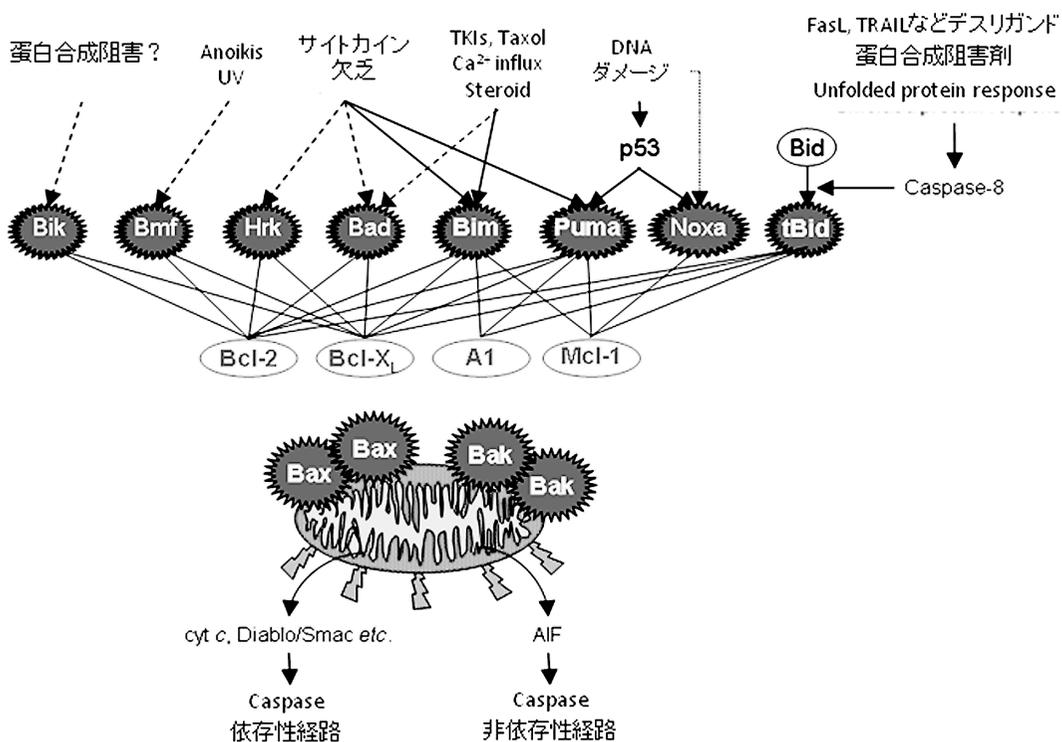


図1 Bcl-2ファミリー分子による内因性アポトーシス経路の制御
 組織種とアポトーシス刺激の性質に応じて誘導・活性化したBH3-only proteinは、アポトーシス抵抗性Bcl-2蛋白をBax/Bakから解離する。こうしてフリーになったBax/Bakはミトコンドリア外膜で活性化する。

Bcr-Ablは非受容体型TKとして細胞質内においてATP自己リン酸化による恒常的活性化状態にあり、下流に存在するPI3K/AKT経路、RAS/MAPK経路、JAK/STAT経路などのシグナル経路を恒常的に活性化することで無秩序な細胞増殖を誘導する²⁰。Bcr-Abl TKに対する競合的ATP結合阻害剤であるimatinibやnilotinib, dasatinibなどのBcr-Abl TKIはBcr-Abl TK活性を阻害し下流の細胞増殖シグナルを不活化する結果、CML細胞の細胞増殖を抑制し、主にアポトーシスによるPCDに誘導する^{21/22}。著者らはこの過程において、BH3-only proteinのうちBimやBmfが転写亢進によって発現増加すること、脱リン酸化によりBimが安定化し、Badが活性化することを見出した。また、この過程においてBimが中心的役割を担う一方、BadやBmfは

Bimに協調的・補助的な役割を担うという機能的ヒエラルキーが存在することも明らかになった^{23/24}。実際、CML細胞ではBcr-AblシグナルによってBimの発現が抑制されていること、^{25/26}CML症例の約30%以上においてBimの発現がepigeneticに抑制されており、こうした症例の治療成績が劣ることも報告されている²⁷。一方、Bcr-Abl TKによるJAK/STAT経路を介したBcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1の発現亢進によるアポトーシス抵抗性獲得も報告されている^{28/29} (図2)。

このようにBcr-Abl TKIはアポトーシス誘導の点からは、BH3-only protein activatorと換言することができるので、その標的分子であるアポトーシス抵抗性Bcl-2蛋白を同時阻害することができれば、CML細胞のアポトーシス誘導をより効率よく増強できると期待できる。最近、

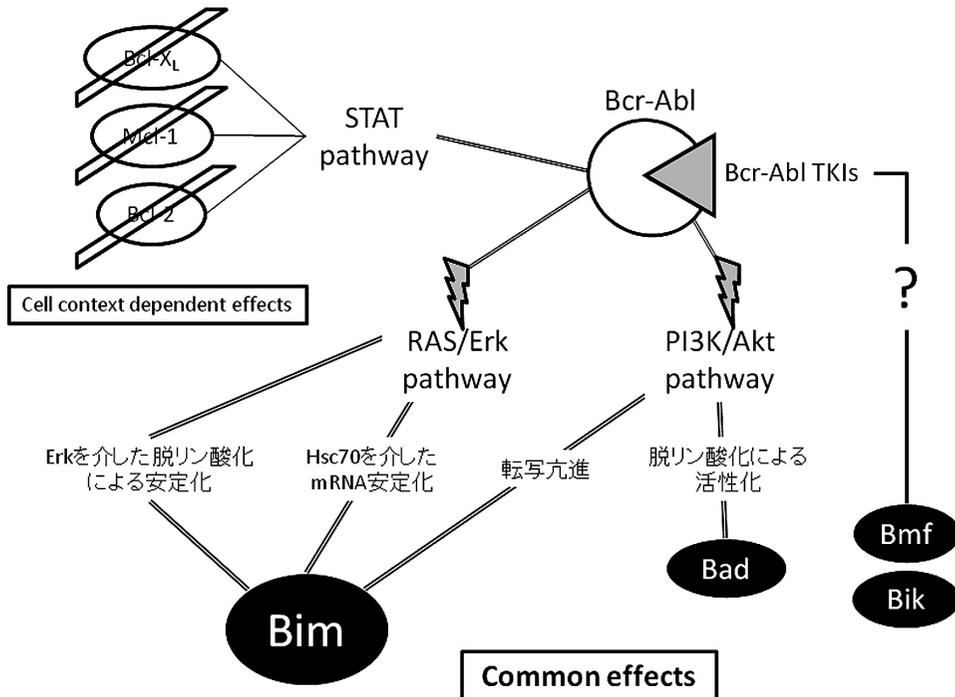


図2 Bcr-Ablシグナル阻害とBcl-2ファミリー制御。

CML細胞では一般にBcr-Abl TK阻害によるRAS/ERK, PI3K/AKTシグナルの不活性化によりBimとBadの発現増加・活性化が誘導される。一方、Bcr-Abl TK阻害によるアポトーシス抵抗性Bcl-2蛋白への効果は、著者らの検討では症例毎、細胞株毎に異なっており、普遍的效果とは言えないようである。

BH3-only protein の疑似薬でアポトーシス抵抗性 Bcl-2 蛋白に特異的に結合し、機能を阻害する BH3-mimetic と呼ばれる小分子化合物が開発された³⁰⁻³²。最も開発が進んでいる BH3-mimetic である ABT-737 (ABT-263 はその誘導体で高い bioavailability を有する) は、Bad と同様に Bcl-2, Bcl-X_L に対して結合・機能阻害するものの Mcl-1 に対する阻害効果は有さない³³。我々は ABT-737 と Bcr-Abl TKI の併用が極めて効率よく CML 細胞のアポトーシス誘導を増強することを見出したが²³、特筆すべきは、临床上、TKI 抵抗性の最大の原因と考えられている変異型 Abl 陽性 Bcr-Abl 陽性細胞においても強力な併用効果を発揮することである。変異型 Abl 陽性 Bcr-Abl 陽性細胞では TKI 感受性低下に伴い TKI による Bim の誘導効果も減弱しアポトーシス誘導効果も低下するが、ABT-737 の併用により著明にアポトーシス誘導効果が著明に増強することから²⁴、今後の臨床応用が期待される。一方、抗 CML 薬として開発途上にある Homoharringtonine (HHT) (Omacetaxine Mepesuccinate) は蛋白合成阻害作用によって Mcl-1 や XIAP, c-FLIP など各種の半減期の短いアポトーシス抵抗性蛋白の発現を低下・消失することで造血器悪性腫瘍細胞にアポトーシスを誘導するが³⁴⁻³⁶、HHT と ABT-737 の併用は *in vitro* において CML 細胞に対して Bcr-Abl 非依存的に極めて強力なアポトーシス誘導効果を発揮し、TKI 不応の T315I 変異型 Abl 陽性 CML 細胞にも効果的にアポトーシスを誘導する³⁴。両剤の併用による Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1 などのアポトーシス抵抗性 Bcl-2 ファミリー蛋白の同時阻害効果が理論的根拠と考えられ、Bcr-Abl TKI 耐性克服が期待しうる治療戦略と言えよう。その他の BH3-mimetic として Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1 の 3 分子に対する拮抗作用を有する GX015-070 など開発されており、効果が期待されている^{37,38}。

他方、Bcr-Abl TKI とは異なる BH3-only protein の活性化をもたらす治療戦略の開発も TKI 治療抵抗性克服に寄与すると考えられる。最近、われわれは β -galactoside 結合性レクチンで Galectin ファミリーに属する Galectin-9 (Gal-

9) が Noxa 誘導を伴うアポトーシスを CML 細胞や MM 細胞に誘導することを見出した^{39,40}。Noxa は p53 活性化によるアポトーシス誘導のエフェクター分子として同定された BH3-only protein であるが^{41,42}、CML では p53 の機能喪失がしばしば生じるため p53-Noxa 経路は治療上の標的とできない状況が生じる。Gal-9 は ATF/CREB 転写因子 family に属する Activating transcription factor-3 (ATF-3) を介して p53 非依存的に Noxa を誘導し、Bcr-Abl TKI と相加的にアポトーシスを誘導すること、各種の治療抵抗性を克服しうることが見出された。このように分子標的治療薬による Bcl-2 ファミリー分子の制御メカニズムの明確化と応用によって、より効率的なアポトーシス誘導治療戦略の設計が期待できる (図 3)。

Bcr-Abl TK阻害による caspase非依存性アポトーシスと オートファジー

従来、Bcr-Abl TKI による PCD 誘導は caspase 依存性アポトーシスであるとされてきた²²。最近、われわれは、Bcr-Abl TKI による PCD には 2 種の caspase 非依存的細胞死誘導パターンも存在することを *in vitro*, *in vivo* で見出した⁴³。このうち一方は速効性の caspase 非依存的アポトーシスであり、他方は遅発性の caspase 非依存的ネクロシス様細胞死 (caspase-independent necrotic cell death; CIND) (CIND と necroptosis の異同は明確ではない) である。これらの結果は、caspase 活性化は Bcr-Abl シグナル阻害による PCD において必須ではなく、PCD の amplifier であることを示唆している⁴³。さらに CIND の過程を詳細に観察したところ、Bcr-Abl シグナル阻害によって CML 細胞にオートファジーが誘導されることが明らかになった。オートファジーは細胞生存のための飢餓適応現象として機能する傍ら、細胞死誘導の過程としての機能もあり、細胞ストレスの状況により両刃の剣となる細胞現象である²⁴⁴。そこで、TKI によるオートファジーの意義を検討したところ、オートファジー阻害によって CML 細胞は速やかに細胞死

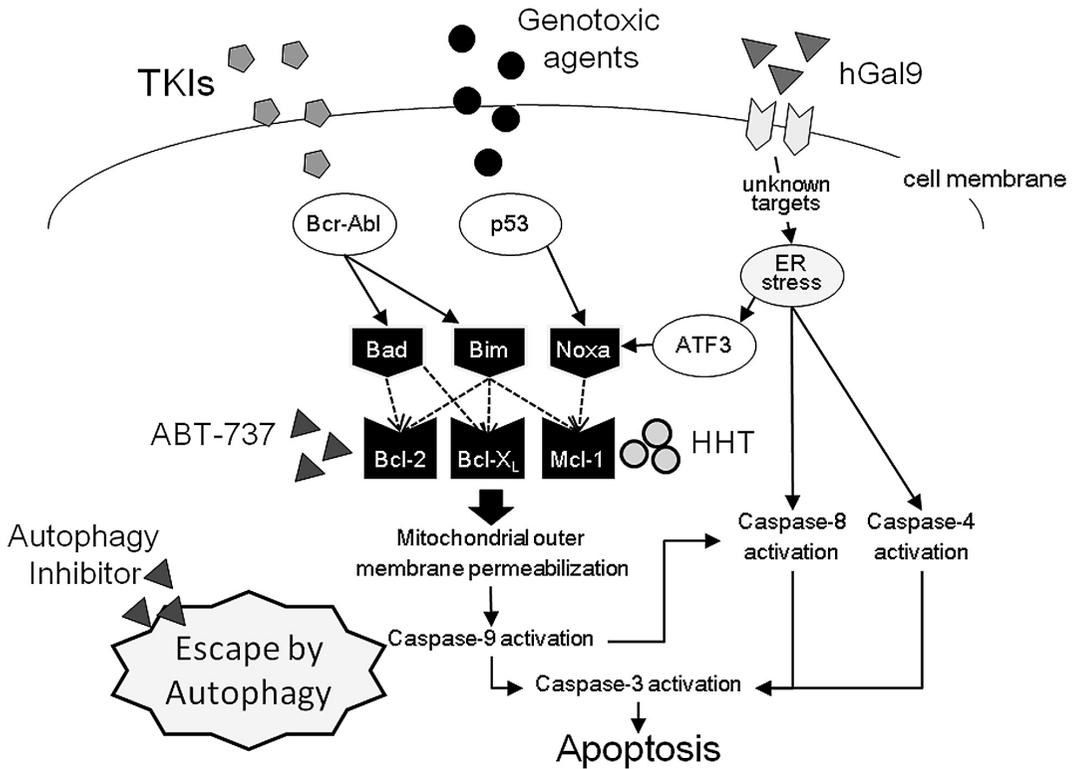


図3 プログラム細胞死から見たCMLにおける分子標的治療と標的分子
hGal9; human Galectin-9, HHT; homoharringtonine, TKI; tyrosine kinase inhibitor

に誘導された⁴³⁾。このことはTKIによって細胞増殖シグナル欠乏状態にあるCML細胞は、あたかも成長因子欠乏状態にある正常造血細胞のごとくオートファジーによる飢餓反応を起こすことで生存維持を試みていることを示唆している⁴⁵⁾。Bcr-Abl陽性白血病細胞は高度の遺伝子不安定性を有することから、TKI治療下にオートファジーによって生き長らえるCML細胞クローンが種々の染色体異常や遺伝子変異を重複して有することとなればclonal evolutionが招来され、急性転化に至る可能性も想像されよう。

CMLのPCD制御と腫瘍環境由来治療抵抗性 (environment-mediated drug resistance; EMDR)

EMDRを招来する分子機序の解明による分子標的の探索研究も急展開を迎えている。骨髓腫

瘍環境は骨髓間質細胞 (Bone marrow stromal cell; BMSC)、細胞外マトリクス、サイトカインやケモカイン、低酸素状態などにより構成されるが、CMLなど白血病では細胞接着分子VLA-4、VLA-5らとfibronectinなど細胞外マトリクスを介した細胞シグナル⁴⁶⁾、Integrin-linked kinaseを介したAkt経路の活性化⁴⁷⁾、β-integrinによる細胞接着を介したBimの分解亢進⁴⁸⁾などがアポトーシス誘導抑制によるEMDR誘導に関わることが報告されている。

われわれは骨髓において血液細胞の多くが低酸素状態にあることに注目し、複数のCML細胞株において1.0%酸素下で継代可能な低酸素環境適応亜株を樹立し、その細胞生物学的特徴を検討した。その結果、驚いたことに低酸素適応CML細胞では、Bcr-Abl TKの恒常的ATPリン酸化そのものが低下しているにも関わらず下

流のシグナルは活性化状態にあることが明らかになった。こうして低酸素条件で Bcr-Abl 依存性を喪失した CML 細胞に対して Bcr-Abl TKI を暴露しても、先述したような Bcl-2 ファミリーによって制御されたアポトーシスの分子メカニズムは機能しない可能性が懸念されるが、実際、低酸素適応 CML 細胞では TKI によるアポトーシス誘導効果は著明に低下している⁴⁹⁾。これらの結果は、生体内において CML 細胞はその局在により異なる PCD 制御を受けている可能性を示唆しており、“Total Cell Kill”を目指すうえでは更に新規の治療標的分子を見出す必要性を示唆している。一例として、解糖系解毒酵素である Glyoxalase-I の発現・活性が低酸素適応 CML 細胞では亢進していること、その阻害が効率よく低酸素適応 CML 細胞に PCD を誘導することが明らかになっており、こうした新規

分子標的の応用と Bcr-Abl TKI の併用により、異なる細胞局在に起因する PCD 抵抗性獲得の克服が期待される。現在、我々は BMSC が CML 細胞に与える分子発現の変化を網羅的に検討することにより、さらなる新規の分子標的の探索を継続中である（当科大学院生 山本、志村ら、投稿準備中）。

終わりに

本稿では主に CML における研究を題材に、PCD の分子メカニズムの解明が、理論的背景に基づく、より効果的な分子標的治療の設計を実現する手立てとなりうる可能性について概説した。完治に至る化学療法完成への道のりは平坦ではないが、“Total Cell Kill”という最もベーシックでシンプルなコンセプトをゴールに、現在も紆余曲折ながら研究を継続中である。

文 献

- 1) Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 217-245.
- 2) Eisenberg-Lerner A, Bialik S, Simon HU, Kimchi A. Life and death partners: apoptosis, autophagy and the cross-talk between them. *Cell Death Differ* 2009; 16: 966-975.
- 3) Tait SW, Green DR. Caspase-independent cell death: leaving the set without the final cut. *Oncogene* 2008; 27: 6452-6461.
- 4) Adams JM, Huang DC, Strasser A, Willis S, Chen L, Wei A, van Delft M, Fletcher JI, Puthalakath H, Kuroda J, Michalak EM, Kelly PN, Bouillet P, Villunger A, O'Reilly L, Bath ML, Smith DP, Egle A, Harris AW, Hinds M, Colman P, Cory S. Subversion of the Bcl-2 life/death switch in cancer development and therapy. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2005; 70: 469-477.
- 5) Kuroda J, Taniwaki M. Involvement of BH3-only proteins in hematologic malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009; 71: 89-101.
- 6) Zhong S, Salomoni P, Ronchetti S, Guo A, Ruggero D, Pandolfi PP. Promyelocytic leukemia protein (PML) and Daxx participate in a novel nuclear pathway for apoptosis. *J Exp Med* 2000; 191: 631-640.
- 7) Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* 1985; 228: 1440-1443.
- 8) Wuillème-Toumi S, Robillard N, Gomez P, Moreau P, Le Gouill S, Avet-Loiseau H, Harousseau JL, Amiot M, Bataille R. Mcl-1 is overexpressed in multiple myeloma and associated with relapse and shorter survival. *Leukemia* 2005; 19: 1248-1252.
- 9) Nakagawa Y, Abe S, Kurata M, Hasegawa M, Yamamoto K, Inoue M, Takemura T, Suzuki K, Kitagawa M. IAP family protein expression correlates with poor outcome of multiple myeloma patients in association with chemotherapy-induced overexpression of multidrug resistance genes. *Am J Hematol* 2006; 81: 824-831.
- 10) Seki R, Ohshima K, Fujisaki T, Uike N, Kawano F, Gondo H, Makino S, Eto T, Moriuchi Y, Taguchi F, Kamimura T, Tsuda H, Ogawa R, Shimoda K, Yamashita K, Suzuki K, Suzushima H, Tsukazaki K, Higuchi M, Utsunomiya A, Iwahashi M, Imamura Y, Tamura K, Suzumiya J, Yoshida M, Abe Y, Matsumoto T, Okamura T. Prognostic impact of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era. *Cancer Sci* 2009; 100: 1842-1847.
- 11) Yoshimoto G, Miyamoto T, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Iino T, Rocnik JL, Kikushige Y, Mori Y, Shima T, Iwasaki H, Takenaka K, Nagafuji K, Mizuno S, Niuro H,

- Gilliland GD, Akashi K. FLT3-ITD up-regulates MCL-1 to promote survival of stem cells in acute myeloid leukemia via FLT3-ITD-specific STAT5 activation. *Blood* 2009; 114: 5034-5043.
- 12) Giam M, Huang DC, Bouillet P. BH3-only proteins and their roles in programmed cell death. *Oncogene* 2008; 27: S128-136.
- 13) Adams JM, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 488-496.
- 14) Chen L, Willis SN, Wei A, Smith BJ, Fletcher JL, Hinds MG, Colman PM, Day CL, Adams JM, Huang DC. Differential targeting of prosurvival Bcl-2 proteins by their BH3-only ligands allows complementary apoptotic function. *Mol Cell* 2005; 17: 393-403.
- 15) Letai A, Bassik MC, Walensky LD, Sorcinelli MD, Weiler S, Korsmeyer SJ. Distinct BH3 domains either sensitize or activate mitochondrial apoptosis, serving as prototype cancer therapeutics. *Cancer Cell* 2002; 2: 183-192.
- 16) Tamm I, Wang Y, Sausville E, Scudiero DA, Vigna N, Oltersdorf T, Reed JC. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res* 1998; 58: 5315-5320.
- 17) Fernandez-Luna JL. Regulation of pro-apoptotic BH3-only proteins and its contribution to cancer progression and chemoresistance. *Cell Signal* 2008; 20: 1921-1926.
- 18) Cortes J. Natural history and staging of chronic myelogenous leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2004; 18: 569-584, viii.
- 19) Goldman JM. Treatment strategies for CML. *Best Pract Res Clin Haematol* 2009; 22: 303-313.
- 20) Van Etten RA. Oncogenic signaling: new insights and controversies from chronic myeloid leukemia. *J Exp Med* 2007; 204: 461-465.
- 21) Dan S, Naito M, Tsuruo T. Selective induction of apoptosis in Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia cells by an inhibitor of BCR - ABL tyrosine kinase, CGP 57148. *Cell Death Differ* 1998; 5: 710-715.
- 22) Fang G, Kim CN, Perkins CL, Ramadevi N, Winton E, Wittmann S, Bhalla KN. CGP57148B (STI-571) induces differentiation and apoptosis and sensitizes Bcr-Abl-positive human leukemia cells to apoptosis due to antileukemic drugs. *Blood* 2000; 96: 2246-2253.
- 23) Kuroda J, Puthalakath H, Cragg MS, Kelly PN, Bouillet P, Huang DC, Kimura S, Ottmann OG, Druker BJ, Villunger A, Roberts AW, Strasser A. Bim and Bad mediate imatinib-induced killing of Bcr/Abl⁺ leukemic cells, and resistance due to their loss is overcome by a BH3 mimetic. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 14907-14912.
- 24) Kuroda J, Kimura S, Strasser A, Andreeff M, O'Reilly LA, Ashihara E, Kamitsuji Y, Yokota A, Kawata E, Takeuchi M, Tanaka R, Tabe Y, Taniwaki M, Maekawa T. Apoptosis-based dual molecular targeting by INNO-406, a second-generation Bcr-Abl inhibitor, and ABT-737, an inhibitor of antiapoptotic Bcl-2 proteins, against Bcr-Abl-positive leukemia. *Cell Death Differ* 2007; 14: 1667-1677.
- 25) Kuribara R, Honda H, Matsui H, Shinjyo T, Inukai T, Sugita K, Nakazawa S, Hirai H, Ozawa K, Inaba T. Roles of Bim in apoptosis of normal and Bcr-Abl-expressing hematopoietic progenitors. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 6172-6183.
- 26) Aichberger KJ, Mayerhofer M, Krauth MT, Vales A, Kondo R, Derdak S, Pickl WF, Selzer E, Deininger M, Druker BJ, Sillaber C, Esterbauer H, Valent P. Low-level expression of proapoptotic Bcl-2-interacting mediator in leukemic cells in patients with chronic myeloid leukemia: role of BCR/ABL, characterization of underlying signaling pathways, and reexpression by novel pharmacologic compounds. *Cancer Res* 2005; 65: 9436-9444.
- 27) San José-Eneriz E, Agirre X, Jiménez-Velasco A, Cordeu L, Martín V, Arqueros V, Gárate L, Fresquet V, Cervantes F, Martínez-Climent JA, Heiniger A, Torres A, Prósper F, Roman-Gomez J. Epigenetic down-regulation of BIM expression is associated with reduced optimal responses to imatinib treatment in chronic myeloid leukaemia. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1877-1889.
- 28) Horita M, Andreu EJ, Benito A, Arbona C, Sanz C, Benet I, Prosper F, Fernandez-Luna JL. Blockade of the Bcr-Abl kinase activity induces apoptosis of chronic myelogenous leukemia cells by suppressing signal transducer and activator of transcription 5-dependent expression of Bcl-xL. *J Exp Med* 2000; 191: 977-1984.
- 29) Aichberger KJ, Mayerhofer M, Krauth MT, Skvara H, Florian S, Sonneck K, Akgul C, Derdak S, Pickl WF, Wacheck V, Selzer E, Monia BP, Moriggl R, Valent P,

- Sillaber C. Identification of mcl-1 as a BCR/ABL-dependent target in chronic myeloid leukemia (CML): evidence for cooperative antileukemic effects of imatinib and mcl-1 antisense oligonucleotides. *Blood* 2005; 105: 3303-3311.
- 30) Cragg MS, Harris C, Strasser A, Scott CL. Unleashing the power of inhibitors of oncogenic kinases through BH3 mimetics. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 321-326.
- 31) Labi V, Grespi F, Baumgartner F, Villunger A. Targeting the Bcl-2-regulated apoptosis pathway by BH3 mimetics: a breakthrough in anticancer therapy? *Cell Death Differ* 2008; 15: 977-987.
- 32) van Delft MF, Wei AH, Mason KD, Vandenberg CJ, Chen L, Czabotar PE, Willis SN, Scott CL, Day CL, Cory S, Adams JM, Roberts AW, Huang DC. The BH3 mimetic ABT-737 targets selective Bcl-2 proteins and efficiently induces apoptosis via Bak/Bax if Mcl-1 is neutralized. *Cancer Cell* 2006; 10: 343-345.
- 33) Oltersdorf T, Elmore SW, Shoemaker AR, Armstrong RC, Augeri DJ, Belli BA, Bruncko M, Deckwerth TL, Dingess J, Hajduk PJ, Joseph MK, Kitada S, Korsmeyer SJ, Kunzer AR, Letai A, Li C, Mitten MJ, Nettesheim DG, Ng S, Nimmer PM, O'Connor JM, Oleksijew A, Petros AM, Reed JC, Shen W, Tahir SK, Thompson CB, Tomaselli KJ, Wang B, Wendt MD, Zhang H, Fesik SW, Rosenberg SH. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours. *Nature* 2005; 435: 677-681.
- 34) Kuroda J, Kimura S, Andreeff M, Ashihara E, Kamitsuji Y, Yokota A, Kawata E, Takeuchi M, Tanaka R, Murotani Y, Matsumoto Y, Tanaka H, Strasser A, Taniwaki M, Maekawa T. ABT-737 is a useful component of combinatory chemotherapies for chronic myeloid leukaemias with diverse drug-resistance mechanisms. *Br J Haematol* 2008; 140: 181-190.
- 35) Kuroda J, Kamitsuji Y, Kimura S, Ashihara E, Kawata E, Nakagawa Y, Takeuchi M, Murotani Y, Yokota A, Tanaka R, Andreeff M, Taniwaki M, Maekawa T. Anti-myeloma effect of homoharringtonine with concomitant targeting of the myeloma-promoting molecules, Mcl-1, XIAP, and beta-catenin. *Int J Hematol* 2008; 87: 507-515.
- 36) Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Cortes J. Homoharringtonine, omacetaxine mepesuccinate, and chronic myeloid leukemia circa 2009. *Cancer* 2009; 115: 5382-5393.
- 37) Pérez-Galán P, Roué G, Villamor N, Campo E, Colomer D. The BH3-mimetic GX15-070 synergizes with bortezomib in mantle cell lymphoma by enhancing Noxa-mediated activation of Bak. *Blood* 2007; 109: 4441-4449.
- 38) Trudel S, Li ZH, Rauw J, Tiedemann RE, Wen XY, Stewart AK. Preclinical studies of the pan-Bcl inhibitor obatoclax (GX015-070) in multiple myeloma. *Blood* 2007; 109: 5430-5438.
- 39) Kuroda J, Yamamoto M, Nagoshi H, Kobayashi T, Sasaki N, Shimura Y, Horiike S, Kimura S, Yamauchi A, Hirashima M, Taniwaki M. Targeting Activating Transcription Factor 3 by Galectin-9 Induces Apoptosis and Overcomes Various Types of Treatment Resistance in Chronic Myelogenous Leukemia. *Mol Cancer Res* 2010; 8: 994-1001.
- 40) Kobayashi T, Kuroda J, Ashihara E, Oomizu S, Terui Y, Taniyama A, Adachi S, Takagi T, Yamamoto M, Sasaki N, Horiike S, Hatake K, Yamauchi A, Hirashima M, Taniwaki M. Galectin-9 exhibits anti-myeloma activity through JNK and p38 MAP kinase pathways. *Leukemia* 2010; 24: 843-850.
- 41) 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* 2000; 288: 1053-1058.
- 42) Villunger A, Michalak EM, Coultas L, Müllauer F, Böck G, Ausserlechner MJ, Adams JM, Strasser A. p53- and drug-induced apoptotic responses mediated by BH3-only proteins puma and noxa. *Science* 2003; 302: 1036-1038.
- 43) Kamitsuji Y, Kuroda J, Kimura S, Toyokuni S, Watanabe K, Ashihara E, Tanaka H, Yui Y, Watanabe M, Matsubara H, Mizushima Y, Hiraumi Y, Kawata E, Yoshikawa T, Maekawa T, Nakahata T, Adachi S. The Bcr-Abl kinase inhibitor INNO-406 induces autophagy and different modes of cell death execution in Bcr-Abl-positive leukemias. *Cell Death Differ* 2008; 15: 1712-1722.
- 44) Moreau K, Luo S, Rubinsztein DC. Cytoprotective roles for autophagy. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22: 206-211.
- 45) Kuroda J, Taniwaki M. Life and death of leukemic cells under Bcr-Abl signaling control. *Current Cancer Therapy Reviews* 2009; 5: 303-309.
- 46) Matsunaga T, Takemoto N, Sato T, Takimoto R,

- Tanaka I, Fujimi A, Akiyama T, Kuroda H, Kawano Y, Kobune M, Kato J, Hirayama Y, Sakamaki S, Kohda K, Miyake K, Niitsu Y. Interaction between leukemic-cell VLA-4 and stromal fibronectin is a decisive factor for minimal residual disease of acute myelogenous leukemia. *Nat Med* 2003; 9: 1158-1165.
- 47) Tabe Y, Jin L, Tsutsumi-Ishii Y, Xu Y, McQueen T, Priebe W, Mills GB, Ohsaka A, Nagaoka I, Andreeff M, Konopleva M. Activation of integrin-linked kinase is a critical prosurvival pathway induced in leukemic cells by bone marrow-derived stromal cells. *Cancer Res* 2007; 67: 684-694.
- 48) Hazlehurst LA, Argilagos RF, Dalton WS. Beta1 integrin mediated adhesion increases Bim protein degradation and contributes to drug resistance in leukaemia cells. *Br J Haematol* 2007; 136: 269-275.
- 49) Takeuchi M, Kimura S, Kuroda J, Ashihara E, Kawatani M, Osada H, Umezawa K, Yasui E, Imoto M, Tsuruo T, Yokota A, Tanaka R, Nagao R, Nakahata T, Fujiyama Y, Maekawa T. Glyoxalase-I is a novel target against Bcr-Abl⁺ leukemic cells acquiring stem-like characteristics in a hypoxic environment. *Cell Death Differ* 2010; 17: 1211-1220.

著者プロフィール



黒田 純也 Junya Kuroda

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科学・学内講師

略 歴：1996年3月 京都府立医科大学卒業

1996年4月 京都府立医科大学第一内科学教室研修医

1998年4月 京都第2赤十字病院血液内科

2000年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科大学院生

2002年6月 京都大学病院輸血細胞治療部 特別派遣研究留学生

2004年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科卒業医学博士

2004年4月 The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research (豪州), 博士研究員

2006年4月 京都府立医科大学血液・腫瘍内科併任助手

2008年4月 京都府立医科大学血液・腫瘍内科病院助教

2009年4月～現職

専門分野：血液内科学，化学療法，分子標的治療，造血幹細胞移植

主な業績：1. Kuroda J, Yamamoto M, Nagoshi H, et al. Targeting ATF-3 by Galectin-9 induces apoptosis and overcomes various types of treatment resistance in chronic myelogenous leukemia. *Mol Cancer Res* 2010; 8: 994-1001.

2. Kobayashi T, Kuroda J, Ashihara E, et al. Galectin-9 exhibits anti-myeloma activity through JNK and p38 MAP kinase pathways. *Leukemia* 2010; 24: 843-850.

3. Takeuchi M, Kimura S, Kuroda J, et al. Glyoxalase-I is a novel target against Bcr-Abl⁺ leukemic cells acquiring stem-like characteristics in hypoxic environment. *Cell Death Differ* 2010; 17: 1211-1220.

4. Kuroda J, Taniwaki M. Involvement of BH3-only proteins in hematologic malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009; 71: 89-101.

5. Kamitsuji Y, Kuroda J, Kimura S, et al. The Bcr-Abl kinase inhibitor INNO-406 induces autophagy and different modes of cell death execution in Bcr-Abl-positive leukemias. *Cell Death Differ* 2008; 15: 1712-1722.

6. Kuroda J, Kimura S, Andreeff M, et al. ABT-737 is a useful component of combinatory chemotherapies for chronic myelogenous leukaemias with diverse drug resistance mechanisms. *Br J Haematol* 2008; 140: 181-190.

7. Cragg MS, Kuroda J, Puthalakath H, et al. Gefetinib-induced killing of NSCLC cell lines expressing mutant EGFR requires pro-apoptotic BH3-only protein Bim and can be enhanced by BH3 mimetics. *PLoS Med* 2007; 4: 1681-1690.

8. Kuroda J, Kimura S, Strasser A, et al. Apoptosis-based dual molecular targeting by INNO-406, a second generation Bcr-Abl inhibitor, and ABT-737, an inhibitor of anti-apoptotic Bcl-2 proteins, against Bcr-Abl-positive leukemia. *Cell Death Differ* 2007; 14: 1667-1677.

9. Kuroda J, Puthalakath H, Cragg MS, et al. Bim and Bad Mediate Imatinib-Induced Killing of Bcr/Abl⁺ Leukemic Cells and Resistance due to their Loss Is Overcome by a BH3 Mimetic. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 14907-14912.

10. Kimura S, Naito H, Segawa H, Kuroda J, et al. NS-187, a potent and selective dual Bcr-Abl/Lyn tyrosine kinase inhibitor, is a novel agent for imatinib-resistant leukemia. *Blood* 2005; 106: 3948-3954.

11. Kuroda J, Kimura S, Segawa H, et al. p53-independent anti-tumor effects of the nitrogen-containing bisphosphonate zoledronic acid. *Cancer Sci* 2004; 95: 186-192.

12. Kuroda J, Kimura S, Segawa H, et al. The third-generation bisphosphonate Zoledronate synergistically augments the anti-Ph⁺ leukemia activity of imatinib mesylate. *Blood* 2003; 102: 2229-2235.

(他, 49編)