

## 【第80回生涯教育講座】

がん治療における新規標的分子としての  
細胞分裂期キナーゼ Auroraうら の たけし  
浦 野 健キーワード：Aurora, 染色体分配, 細胞質分裂,  
チェックポイント, キナーゼ阻害剤

## 要 旨

がんは、厳密に制御されているはずの細胞周期が乱れ、細胞が異常な増殖をした結果である。とりわけ、細胞分裂期における染色体分配の異常は、細胞のがん化の要因となる異数体細胞の形成を引き起こすきっかけとなる。さまざまながんにおいて過剰発現が見られる細胞分裂期キナーゼ Aurora は、細胞分裂において重要な役割を果たしているセリン・スレオニンキナーゼである。Aurora の過剰発現に依存するがんでは、主として Aurora の過剰なキナーゼ活性により引き起こされる細胞分裂の異常が原因と考えられており、近年 Aurora のキナーゼ阻害剤は抗がん剤としての有用性が期待されている。

## はじめに

細胞の持つ遺伝情報を正確に娘細胞に継承させるため、細胞はその遺伝情報を正確に複製し、さらに娘細胞へ正確に分配しなければならない。がんにおける染色体不安定性や異数性は、細胞分裂、特に細胞質分裂の失敗によって引き起こされることが多く、細胞のがん化の原因の一つとして考えられている<sup>1)</sup>。これらの過程は非常に複雑であり、さまざまな分子によって実に巧妙に制御されている。

細胞分裂は、タンパク質の可逆的リン酸化とユ

ビキチン化という2種類の翻訳後修飾によって主に制御されている。ユビキチン化を認識したタンパク質分解の解明については、2004年のノーベル化学賞の対象となったので、記憶に新しい読者も多いと思う。リン酸化に関しては、2001年のノーベル医学・生理学賞の対象となった Cdc2/Cyclin B 複合体である MPF (卵成熟促進因子) をはじめ、多数の細胞分裂期キナーゼが知られている。ある特定のタンパク質が空間的に正確な位置で、適切な時にこれらキナーゼによりリン酸化されることが、正常な分裂の進行には必要不可欠である<sup>2,3)</sup>。うらを返せば、これら細胞分裂期キナーゼ群の異常 (過剰発現や機能欠損など) は分裂の失敗による染色体不安定性を引き起こし、細胞のがん化をもたらす。実際、細胞分裂期キナー

Takeshi URANO

島根大学医学部病態生化学講座

連絡先：〒693-8501 出雲市塩冶町89-1

ゼ群を含め、多くのキナーゼの異常や破綻は疾患や発がんに関与することが報告されている。これらの理由により、キナーゼは重要な薬剤標的となっている。細胞分裂期キナーゼ群の中でも、特に細胞分裂のさまざまなイベントを制御するキナーゼである Aurora ファミリーは、がんとの関連性も多数報告されており、近年がん治療における標的分子として注目を浴びている。本稿では基礎研究の立場から、Aurora とがん分子標的治療について述べる。

## I Aurora の機能とがんとの関連性

Aurora 遺伝子は1995年、分裂期に紡錘体形成異常を示すショウジョウバエ変異体から単離された<sup>4)</sup>。この変異体では、染色体分配に必須である紡錘体の作用点として働く中心体の分離ができず、その顕微鏡像が夜空のオーロラのものであったことが名前の由来である。Aurora は酵母からヒトまで高く保存されている細胞分裂期に特異的に発現するセリン・スレオニンキナーゼで、ヒトやマウスには Aurora-A, B, C の3種類が存在する<sup>5)</sup>。興味深いことに、タンパク質レベルでのファミリー間の相同性は84%以上と高いにもかかわらず、分裂期におけるこれらの細胞内における局在および機能は大きく異なっている。

### Aurora-A

Aurora ファミリーの中でもがんとの関連が最も報告されているのが Aurora-A である。Aurora-A 遺伝子はヒト染色体 20q 13.2-13.3 に存在し、この部位はさまざまながんで遺伝子増幅が見られる領域である。実際 Aurora-A の遺伝子増幅が乳がんや大腸がん、膀胱がんなど種々の悪性腫瘍において検出されており、また Aurora-A

の mRNA とタンパク質の過剰発現が種々のがんで報告されている<sup>6)</sup>。また最近では、Aurora-A の分解や活性に影響を与える遺伝子多型と種々のがんとの関連性も報告されている。

Aurora-A は細胞分裂期特異的な発現パターンを示し、G 2 期から mRNA およびタンパク質の発現が上昇し、分裂期前半でピークを迎える。この時、Aurora-A のキナーゼ活性も最も高くなる。分裂後期以降は速やかにユビキチン化を介したタンパク質分解を受け、Aurora-A のタンパク質量は低レベルとなる。がんで見られる Aurora-A の過剰発現の原因としては、遺伝子増幅の他に転写制御やタンパク質分解の異常が考えられる。

図に示すように、Aurora-A は細胞分裂期において主に中心体および紡錘体上に局在し、分裂期への進入、中心体の成熟・分離、紡錘体形成など主に分裂期前半のイベントを制御していることがこれまでの研究で明らかになっている。これらのイベントはすべて、正常な染色体分配を行うための準備段階であり、Aurora-A の発現やキナーゼ活性を抑制・阻害すると、分裂期進入の遅延や中心体分離の失敗が起こり、染色体を両極へ引っ張るための両極性紡錘体が形成されない。前述した紡錘体形成異常を示すショウジョウバエ変異体から単離された Aurora 遺伝子も、現在の Aurora-A に相当する。逆に、Aurora-A を過剰発現させると、中心体数の増加や異数体形成が引き起こされる。さらに、すべての染色体が分裂中期赤道面に整列するまで分裂後期への進入を阻害する紡錘体チェックポイントの破綻が起こるという報告からも、Aurora-A の過剰発現による異常な細胞分裂から異数体細胞が誘導され、結果、細胞のがん化に至ると考えられる。

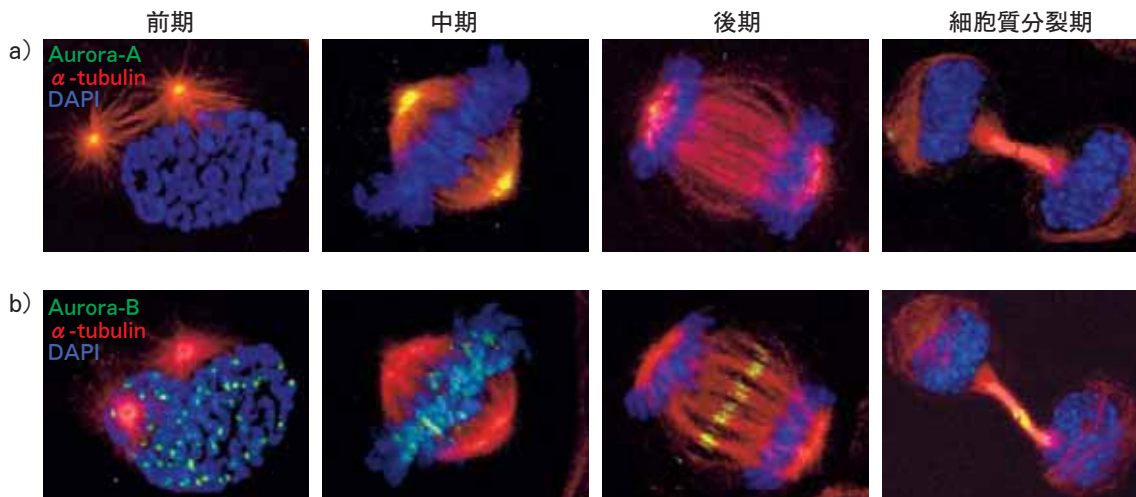


図 Aurora タンパク質の細胞周期における細胞内局在

我々が作製した抗 Aurora-A モノクローナル抗体(a)および抗 Aurora-B モノクローナル抗体(b)を用いて、HeLa 細胞を免疫染色した(緑色)。紡錘体は抗チューブリン抗体(赤色)、染色体を DAPI で同時に染色(青色)した。

これまで報告されている Aurora ファミリーの活性制御因子と基質の中でも Aurora-A と p53 の関連性は重要である。Aurora-A による p53 のリン酸化は p53 の DNA 結合能および転写活性を抑制し、結果 DNA 損傷で誘導されるはずの p53 を介したアポトーシスや細胞周期停止が起こらない。また逆に、Aurora-A の過剰発現で引き起こされる表現型は、転写活性のない p53 によっても抑制されるという報告もある。がん抑制遺伝子 p53 は細胞周期の各チェックポイントを制御する重要な分子であり、Aurora-A の異所性・過剰発現は分裂期だけでなく細胞周期全体のチェックポイントの破綻を引き起こしている可能性がある。

### Aurora-B

Aurora-B 遺伝子はヒト染色体 17p 13.1 に存在する。Aurora-A とは異なり遺伝子増幅は報告されていないが、やはり mRNA とタンパク質の高発現が大腸がんをはじめ種々のがん細胞において

高頻度で見られる。また CHO 細胞に Aurora-B を過剰発現させると染色体分配と細胞質分裂に異常をきたし、異数体細胞の派生およびヌードマウスにおける腫瘍形成が見られることが報告されている。

Aurora-B も分裂期特異的な発現パターンを示すが、Aurora-A の発現パターンとは少し異なり、分裂期全般にわたりタンパク質の発現レベルが高く、分裂期以降はゆるやかに低下していく。これもおそらくユビキチン化を介した分解によるものと思われるが、詳細は明らかにはなっていない。遺伝子増幅がないにもかかわらず、種々のがん細胞で Aurora-B の mRNA 量とタンパク質量の増加が見られるため、転写制御に異常をきたしている可能性が高い。

分裂期細胞内において、Aurora-B は Aurora-A とは全く異なる挙動を示す。Aurora-B は分裂中期までは染色体のセントロメア領域に存在するが、分裂後期の開始と同時に染色体から離れ、中央紡錘体(分離する染色体間に存在する微小管)

へと移動し、最終的にミッドボディに集積する(図参照)。分裂期でこのような局在を見せるタンパク質群は「染色体パッセンジャータンパク質」と呼ばれており、Aurora-Bと複合体を形成し制御因子として機能しているINCENP, survivin, Borealinも同じく染色体パッセンジャータンパク質である。これら制御因子に活性や局在を制御されながら、Aurora-Bは分裂期前半では紡錘体チェックポイント分子の一員として染色体分離に、そして分裂期後半では引き続いて行われる細胞質分裂と、分裂期の2大イベントに関与している。

分裂中期では、姉妹染色分体のセントロメア領域に形成される2つの動原体と紡錘体微小管が両極性に連結した結果生じる張力により、染色体が中期赤道面に整列する。Aurora-Bはこの張力を感知し、キネシンの1種であるMCAKのリン酸化などを介して動原体-微小管の連結調節を行っていると考えられており、Aurora-Bの発現や機能を抑制・阻害すると染色体の整列と分配に異常が起こる。さらに分裂後期以降では、細胞質分裂に必須である中央紡錘体の形成や収縮環の収縮・維持、そして細胞質分裂の完了にAurora-Bのキナーゼ活性が必須であり、キナーゼ不能型Aurora-Bや、Aurora-Bの活性化不能型INCENPの過剰発現は、細胞質分裂の異常を引き起こす。細胞質分裂におけるAurora-Bの基質は主に中央紡錘体および分裂溝に局在し、どれも細胞質分裂を制御している因子である。このように、Aurora-Bの機能欠損は分裂の失敗による細胞のがん化を引き起こす可能性が高いと考えられ、正常な分裂を行う上でAurora-Bは必須なキナーゼであると言える。

## Aurora-C

Aurora-C遺伝子はヒト染色体19q13.43に存在し、この領域はがんにおいてしばしば組換えや欠損が起こっている。またAurora-Cのタンパク質量増加がやはり種々のヒトがん細胞でみられている。p53の機能を欠損している細胞にAurora-Cを過剰発現させると、中心体数の増加や異数体形成が引き起こされることが報告されているが、現在までのところがんとの関連性は不明である。

Aurora-CはmRNA、タンパク質ともに精巣においてのみ高い発現がみられる。またAurora-A, B同様に分裂期特異的な発現である。Aurora-Cもユビキチン化される(未発表データ)ことから、おそらくプロテアソームによるタンパク質分解を受けると考えられるが、詳細は解析されていない。またがんにおけるAurora-Cタンパク質の高発現の原因は不明であるが、ヒト甲状腺がんにおいては、Aurora-AとBはmRNA量の増加に伴ってタンパク質量の増加もみられる一方で、Aurora-CはmRNA量とタンパク質量に相関性がないことから、転写レベルではなく転写後レベルでの制御機構(おそらくタンパク質分解)に異常があると考えられる。

Aurora-Cは当初、Aurora-Aと同様分裂期において中心体に局在すると言われていた。最近の研究よりAurora-CはAurora-B複合体中に存在する染色体パッセンジャータンパク質であり、分裂期ではAurora-B同様の局在を示すことが明らかになった<sup>8)</sup>。Aurora-Cの機能自体はおそらくAurora-Bと重複しており、分裂期においてはAurora-Bと協調して染色体分配および細胞質分裂の制御を行っていると考えられるが、詳細は明らかではない。

最近、Aurora-C遺伝子のノックアウトマウス

が作製された<sup>9)</sup>。この遺伝子を破壊しても、マウスは正常に生まれる。しかし、精子の形態および機能異常による不妊が認められた。Aurora-B タンパク質はこれらの精子において十分発現しているため、精子形成においては、Aurora-B と Aurora-C は独立した特異的な機能を有することが明らかとなった。

## II Aurora 阻害剤と抗がん剤としての有用性

これまで述べてきたように、Aurora とがんは密接な関係にあり、がん治療の標的分子として注目されてきている。Aurora の高発現が見られるすべてのがんにおいて、果たして野生型が過剰発現しているのかどうかは定かではないが、少なくとも Aurora の過剰なキナーゼ活性はがん化の要因になり得ると推測される。それゆえ、Aurora 特異的阻害剤は、Aurora の過剰発現依存性の悪性腫瘍に対する抗がん剤としての有用性が期待されている。

### 1. Aurora 阻害剤の実情

Aurora 特異的阻害剤の開発は着々と進行しており、現在までに主に3種類の代表的な阻害剤が知られている。ZM 447439 (AstraZeneca) と Hesperadin (Boehringer Ingelheim) は2003年に同時に報告された最初の Aurora 阻害剤である。ZM 447439 は *in vitro* において Aurora-A, B どちらのキナーゼ活性も阻害するが、ZM 447439 で処理した細胞では、染色体の整列や分配、細胞質分裂の失敗が起こる。これは Aurora-B の発現を抑制した時の表現型と同じであることから、細胞内における ZM 447439 の標的は Aurora-B のようである。また ZM 447439 は p53 依存的な細胞周期停止を誘導し、細胞増殖を抑制する。これ

までの報告で、細胞質分裂を失敗し二核化した細胞は、それ以降の分裂では高い確率で染色体分離に異常をきたし異数体を形成することが明らかになっている。そこでこれを阻止するため、細胞には p53 依存的な細胞分裂後チェックポイントが備わっており、分裂異常をきたした細胞を次の細胞周期に進ませずに偽 G<sub>1</sub> 期で停止させる。ZM 447439 による増殖抑制は、おそらくこのチェックポイントを介したものと考えられるため、p53 が機能していないがん細胞では効果が見られない。Hesperadin に関しては、Aurora-A のキナーゼ活性を阻害するかは検討されていないが、*in vitro* および細胞内において Aurora-B を阻害し、ZM 447439 同様、分裂異常の表現型が見られる。

現段階で抗がん作用が最も期待されているのが、続いて報告された VX-680 (Vertex) である。VX-680 は *in vitro* ではすべての Aurora ファミリーのキナーゼ活性を阻害するが、細胞内においてはやはり Aurora-B を優先的に阻害する(未発表データ)。作用機序は明らかになっていないが、VX-680 は種々のがん細胞において細胞周期停止およびアポトーシス誘導により増殖を抑制する<sup>10)</sup>。さらに注目すべきは、急性骨髄性白血病、膵がんおよび大腸がんのゼノグラフトモデルにおいても、VX-680 投与によりアポトーシスを誘導し、腫瘍形成が抑制されるという結果である。これを受けて、VX-680 はすでに臨床試験の段階に入っている。しかしながら、VX-680 によるこれらの効果が Aurora の阻害によるものかどうかは疑問が残る。キナーゼを標的とした薬剤の中でも、特にチロシンキナーゼ阻害剤は主要な抗がん剤として使用されているが、薬剤抵抗性である変異型 Abl や Kit, EGFR チロシンキナーゼを

発現しているがんには効果がなく、そのためこれらのがんの治療は困難となっている。しかし最近、VX-680が薬剤耐性変異型Abl, Kit, EGFRのキナーゼ活性を阻害するという報告があり、VX-680の効果はこれら変異型チロシンキナーゼに作用した結果という可能性も否定できない。

## 2. がん治療標的分子としての Aurora

これまで報告されている Aurora 阻害剤は、いずれも細胞内においては Aurora-B に優先的に作用しているようであるが、果たして Aurora-A と B, どちらががん治療における標的分子として適切なのでしょうか? この疑問に関しては現段階では明確な答えはないが、これまでの Aurora 研究の結果に基づく可能性を以下に述べる。

微小管脱重合阻害剤であるタキソール (パクリタキセル) は、抗がん剤として広く使用されている。その作用機序は、分裂期細胞において紡錘体の形成を阻害し、これにより紡錘体チェックポイントが作動し細胞を分裂前中期に停止させ、最終的に分裂期細胞死を起こさせるというものである。したがって、細胞周期がとめどなく進行し分裂し続けるがん細胞に対して、タキソールは効率よく細胞死を誘導できる点で優れている薬剤である。抗がん剤として作用するためには、分裂期において紡錘体チェックポイントが正常に作動することが必要条件となる。前述したように、Aurora-A を過剰発現している細胞では紡錘体チェックポイント関連因子の機能が阻害されチェックポイントが作動せず、結果としてタキソールで誘導される分裂期細胞死に耐性となってしまう。つまり、Aurora-A の高発現が見られるがんには、タキソールは有効ではないということになる。またタキソールのような微小管阻害剤は、

正常細胞、特に神経細胞の微小管ネットワークにも大きな影響をおよぼし、末梢神経障害などを引き起こしてしまうため、副作用をできる限り抑えるためにも低濃度での効能が求められる。この点をふまえて考えると、Aurora-A の活性を大幅に落とすことができれば、タキソール耐性細胞におけるタキソールの有用性や、効用濃度の引き下げなどが期待できる。

一方、現在までに報告されている Aurora 阻害剤の効果から、Aurora-B を標的とする有効性を支持する意見もある。これまでの Aurora 基礎研究から、Aurora-B の機能阻害は染色体分配・細胞質分裂の失敗を引き起こすことが明らかにされてきた。Aurora-B を適切とする意見は、前述した p53 依存的細胞分裂後チェックポイントというバックアップシステムに基づいたものである。ただし、p53 は多くのがんにおいて機能欠損がみられることから、p53 に依存した経路を利用することは問題があると思われる。実際、p53 が機能していない HeLa 細胞などを VX-680 で処理すると、ほぼ100%の細胞で多核化・異数体形成が起こる (未発表データ)。これは、がんの悪化や新たな腫瘍形成の危険性がある。したがって、抗がん剤の安全性を重視すると、基礎研究を行っている著者らとしては Aurora-B よりも Aurora-A を標的とした方が適切であると考えている。

## III 今後の展望

Aurora-A を標的とするにあたって、重要となってくるのは Aurora-A 特異的阻害剤の開発である。現在までに報告されている Aurora 阻害剤はいずれも ATP 競合剤であるが、Aurora-A, B, C ともに類似した ATP 結合部位を持つことから、このようなタイプの阻害剤では Aurora

ファミリーすべてに作用してしまうことは否めない。前述した3種類の Aurora 阻害剤以外にも、大腸がんのゼノグラフトモデルにおいて腫瘍形成を抑制する compound 46 や、急性骨髄性白血病や卵巣がん、大腸がんのゼノグラフトモデルにおける抗腫瘍形成能を示す PHA-680632 といった Aurora 阻害剤が報告されているが、やはり両者とも Aurora-A, B どちらにも作用する。最近新たに報告された ZM 447439 関連化合物である ZM 3 は、細胞内では Aurora-A に優先的に作用するようであるが、やはり Aurora-B の活性も阻害できるため、完全な Aurora-A 特異的阻害剤とまでは言えない。そのため、新しいタイプの阻害剤の開発が求められるわけであるが、有用と思われる可能性としては、実際細胞内において各

Aurora の抑制因子として機能している分子の起用である。幸いなことに、Aurora ファミリーの活性制御因子は、各 Aurora でそれぞれ異なる。そこで、Aurora-A とその抑制因子との結合様式をもとにした、Aurora-A との結合状態を模倣できるような構造体や、それをさらに ATP 競合剤に付加した型の化合物などで Aurora-A への特異性をもたせることができるであろう。そのためには、どういった抑制因子が最適であるか、あるいはまだ知られていない抑制因子が存在するかなど、さらなる研究が必要である。また、このような化合物をデザインするにあたっては、Aurora-A と抑制因子との結合様式を明らかにすることが必須であり、結晶構造解析の重要性が示唆される。

## 文 献

- 1) Ganem NJ, Zuzana Storchova X, and Pellman D, Tetraploidy, aneuploidy and cancer: Opin. Genet. Dev. 17: 157-162, 2007
- 2) Nigg EA, Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints: Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2: 21-32, 2001
- 3) Ferrari S, Protein kinases controlling the onset of mitosis: Cell. Mol. Life Sci. 63: 781-795, 2006
- 4) Glover DM, Leibowitz MH, McLean DA, *et al*, Mutations in *aurora* prevent centrosome separation leading to the formation of monopolar spindles: Cell 81: 95-105, 1995
- 5) Carmena M, and Earnshaw WC, The cellular geography of aurora kinases: Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 4: 842-854, 2003
- 6) Mountzios G, Terpos E, and Dimopoulos M-A, Aurora kinases as targets for cancer therapy: Cancer Treatment Reviews, in press
- 7) Taguchi S, Honda K, Sugiura K, *et al*, Degradation of human Aurora-A protein kinase is mediated by hCdh1: FEBS Lett. 519: 59-65, 2002
- 8) Li X, Sakashita G, Matsuzaki H, *et al*, Direct association with inner centromere protein (INCENP) activates the novel chromosomal passenger protein, Aurora-C: J. Biol. Chem. 279: 47201-47211, 2004
- 9) Kimmins S, Crosio C, Kotaja N, *et al*, Differential functions of the Aurora-B and Aurora-C kinases in mammalian spermatogenesis: Mol. Endocrinol. 21: 726-739, 2007
- 10) Harrington EA, Bebbington D, Moore J, *et al*, VX-680, a potent and selective small-molecule inhibitor of the Aurora kinases, suppresses tumor growth in vivo: Nat. Med. 10: 262-267, 2004