

所属	名古屋市立大学大学院薬学研究科 分子生物薬学分野
筆頭演者	中津海 洋一

タイトル

## 定量的リン酸化プロテオミクスによる mTOR 下流の大規模シグナル解析

要旨本文

シロリムスの標的タンパク質である mTORC1 は栄養依存的に活性化するリン酸化酵素であり、下流分子をリン酸化し活性を制御することで細胞の栄養応答を実現する。mTORC1 による栄養応答はたんぱく質の翻訳促進とオートファジーの抑制を中心に、様々な細胞応答を介して制御される。これらはいずれも下流分子のリン酸化によって引き起こされるため、mTORC1 による細胞応答の理解には下流のリン酸化を知ることが重要である。

近年、タンパク質リン酸化の解析法として質量分析計を用いた方法が注目を集めている。われわれは細胞内のリン酸化を数千から一万の規模で同定し、また異なるサンプル間で各々のリン酸化の変動について定量比較可能な手法（Phospho-iTRAQ System）を開発した。mTORC1 の活性化に摂動を与え、本手法により延べ 20000 を超えるリン酸化の変動を解析したところ、mTORC1 下流のリン酸化分子群として、既知分子を含めて 53 の遺伝子群を同定した。それらの中でも特に新規に同定した転写因子 FOXP1 について解析を行ったところ、FOXP1 は mTORC1 依存的に脱リン酸化を受けることで転写因子としての機能が活性化し、炎症性ケモカインである CCL2 を産生することがわかった。すなわち栄養により活性化する mTORC1 に依存した、炎症の惹起を示唆する分子メカニズムが明らかとなった。

様々ながん細胞において、mTORC1 の異常活性化と CCL2 の発現上昇はどちらも高頻度で観察される。また mTORC1 阻害剤は抗がん効果を示し、CCL2 阻害薬についても近年抗がん剤としての開発が進められている。そこでわれわれはがんにおける mTORC1-FOXP1-CCL2 経路の重要性を調べたところ、本シグナル経路の活性化が腫瘍組織へのマクロファージの浸潤を促し、がんを促進することを明らかにした。また mTORC1 阻害剤の新たな効果としてマクロファージ浸潤阻害を見出した。mTORC1 下流の分子メカニズムの解析を土台にして、mTORC1 の新たながん進展メカニズムを明らかにした。

所属	順天堂大学大学院 医学研究科 分子病理病態学
筆頭演者	小林敏之

タイトル

結節性硬化症を克服するための両輪となる「基礎研究」と「当事者との協働」

要旨本文

常染色体優性遺伝様式をとる結節性硬化症(TSC)は、腎血管筋脂肪腫(AML)、顔面血管線維腫など種々の腫瘍性病変の発生と、てんかん・自閉症などの精神神経症状を主症状とする難病である。リンパ脈管筋腫症(LAM)はTSCの女性患者に高頻度に合併する病態であり、生命に関わる重篤な症状をもたらすこともまれではない。近年、原因遺伝子産物であるTSC1/TSC2複合体の機能喪失に伴うmTORC1の活性化を標的とし、シロリムス等のラパマイシン系薬剤によるTSCやLAMの治療が進み、症状の改善が達成されるようになった。しかしながら、腫瘍の完全な根絶が困難であり、投薬中断による再増大が認められることや、各種の生理反応の中心に位置するmTORC1阻害による副作用発生の危惧などから、他の介入法の開発が待たれているのは周知の通りである。我々はこれまで、その課題に取り組むべく、モデル動物を用いて探索を進めてきた。本研究会では、最近我々が注目しているBCAT1やHSP27など、いくつかの分子を巡る研究について紹介したい。一方、動物モデルが確実に新たな治療標的の解明に貢献することは疑いの余地は無いが、ヒトでしか解決できない要因が存在することもまた事実である。TSCは非常に多様な症状を示すが、モザイク変異などの他、遺伝的背景が病態発生に関与することが推察される。LAMが女性特有の症状であることはその典型とも言えよう。今後は、患者・家族、医師・医療従事者、研究者の協働体制を基盤としてゲノム解析を進め、病態発生のみならず、各種の治療奏功性に関わる遺伝的要因を解明することが重要な取組になると考えられる。日本結節性硬化症学会の運営に関わっている立場から、全国的な協働体制作りについても概略を紹介したい。

所属	新潟大学医歯学総合病院臨床研究推進センター・臨床研究品質管理部門
筆頭演者	田中 崇裕

タイトル

血球吸着モデルを用いた LAM 患者におけるシロリムス最適薬用量決定法の提言

要旨本文

本研究では、ますます適応が広がる mTOR 阻害剤-シロリムスの薬用量を決定するための薬物動態モデルを勘案し、今までに得られている既知トラフ値データ、薬物動態データを用いてモデルを構築し最適化を行うことを目指す。リンパ脈管筋腫症に対するシロリムスの安全性と有効性のための医師主導治験（MLSTS 試験）の解析過程で、服薬 24 時間後の血中濃度（トラフ値）が用量に対して線型とならないことから、in vitro でのシロリムスの赤血球への結合や薬物動態のデータを検討したところ、シロリムスは、赤血球と高親和性と低親和性の二つの結合を取るという仮説を立てた。そこで新たに導入する薬物動態解析ソフトを用いて内服 2 コンパートメントモデルを構築することとした。本研究では、最終的にはモデルを用いて小児や高齢者や肝不全の患者等、薬用量決定に明確な基準がない集団における薬物動態の予測に役立てたい。

第1回シロリムス新作用研究会（JASMIN 研究会）2020/10/10 WEB 開催

所属	昭和大学医学部小児科学講座・昭和大学病院てんかん診療センター（筆頭演者）
筆頭演者	加藤光広
共同演者	白石秀明、遠山潤、中川栄二、高橋幸利、秋山倫之、井上有史、嘉田晃子、柿田明美、三宅紀子

タイトル

限局性皮質異形成 II 型のでんかん発作に対するシロリムスの臨床研究と治験

要旨本文

限局性皮質異形成 (focal cortical dysplasia:FCD) は難治性のでんかん発作を乳幼児期に発症し、特異的な病理像を呈する疾患である。国内では約 1000 例の患者が存在すると推測されている。手術以外に有効な治療法がなく、症状が進行すると、認知機能障害や片麻痺などを伴い日常生活に大きな影響を与える。我々は 2015 年にバルーン細胞を認める FCD 2b 型の約半数に *MTOR* 遺伝子の体細胞モザイク変異を同定し、mTOR 機能の活性化が FCD 2 型の病態であることを明らかにした。海外からはバルーン細胞を認めない 2a 型でも機能亢進型の *MTOR* 変異が報告された。シロリムスは mTOR を選択的に阻害し、*Mtor* 変異による FCD モデルマウスの痙攣発作を抑制する。本研究では、2017 年度から Proof of Concept (POC) 取得のための臨床研究を 3 例で行ない、うち 2 例で有効性を示した。2018 年度から 15 例を目標として国内 5 施設による「限局性皮質異形成 II 型のでんかん発作に対するシロリムスの有効性と安全性に関する無対照非盲検医師主導治験」(FCDS-01) を開始し 16 例が登録された。2019 年度から臨床研究と医師主導治験の維持療法期後の継続投与試験として、「限局性皮質異形成 II 型のでんかん発作に対するシロリムスの安全性に関する臨床研究」(FCDS-02) を開始し、9 例が FCDS-02 に移行した。さらに 3 例が FCDS-02 へ移行予定であるが、COVID-19 の影響を受け、同意取得待ちとなっている。シロリムス非投与群の発作頻度等については、厚労科研「稀少てんかんに関する調査研究」(井上有史班長) と連携し、目標 60 例のレジストリに対し 63 例が登録された。また 32 例の組織診断を行い、遺伝子解析を行った 62 例中約 1/3 で原因を同定し、その多くは *MTOR* 関連遺伝子であった。

所属	岐阜大学医学部附属病院小児科
筆頭演者	小関 道夫

タイトル

## 難治性脈管異常に対するシロリムス療法

要旨本文

従来より「血管腫」、「リンパ管腫」と呼ばれていた疾患は、近年の病態、病理学的理解の進歩に伴い、脈管異常（脈管腫瘍・脈管奇形）と呼ばれるようになった。これらは様々な疾患を含むが、代表的なものは、カサバツハメリット現象を伴う血管性腫瘍や、リンパ管腫（嚢胞性リンパ管奇形）、リンパ管腫症、静脈奇形、動静脈奇形、混合型脈管奇形、クリッペル・トレノネー・ウェバー症候群などである。これらの難治例に対する有効な治療法は確立されていないばかりか、承認されている薬剤もない。近年、遺伝子解析技術の発達に伴い、病変部位より PI3/AKT/mTOR 経路の遺伝子変異が検出され、本疾患の原因との関連性が示唆されている。こうした研究を背景に、mTOR 阻害剤であるシロリムスがこれらの疾患の病状を高い確率で抑え、病変を縮小させることが国内外で報告されており、新しい治療薬として注目されている。2014 年頃より、岐阜大学ではエベロリムスの臨床研究を開始し、その後、本邦でシロリムスがリンパ脈管筋腫症に承認されたため、本剤の薬事承認を目指し、医師主導治験を計画した。2016 年に日本医療研究開発機構（AMED）より研究を獲得し、2017 年より、リンパ管疾患（リンパ管腫、リンパ管腫症、ゴーハム病）に対するシロリムス錠の医師主導治験を実施したところ、高い有効性を認めた。さらに 2020 年より、小児用製剤である顆粒剤を加え、上記の難治性脈管異常に対する治験も開始し、世界初の薬事承認を目指している。今後、疾患の原因遺伝子がさらに明らかとなると、その遺伝子に対する分子標的薬による個別化医療が進むことが予想され、本研究はその先駆けとなると考えている。本演題では脈管異常に対するシロリムス療法の有効性の他、小児患者への使用経験および小児用製剤の開発の中で臨床薬理専門家との連携を通じて考案した、乳幼児患者でも安全にシロリムスを使用する戦略についても提案したい。

所属	国立大学法人 東京医科歯科大学 小児科/臨床試験管理センター
筆頭演者	遠藤明史
共同演者	石橋恵理、今井耕輔

タイトル

## 原発性免疫不全症に対する mTOR 阻害剤の有効性の可能性

要旨本文

mTOR は、免疫応答の調節において、中心的な役割を果たし、好中球、単球、B 細胞、T 細胞の機能に關与する。mTOR の阻害剤によって、制御性 T 細胞への分化が促進されることやまた、mTOR 欠損により、B 細胞の増殖や分化が障害されることが知られている。

原発性免疫不全症（primary immunodeficiency disease: PID）とは遺伝的に免疫機構の欠陥を原因とする疾患の総称であり、350 種類以上の疾患に分類される。この症候群のうち、病態的に mTOR 阻害剤の有効性が示唆されている疾患が複数ある。

例えば、APDS は、PI3K/AKT/mTOR 経路に關わる PIK3CD または PIK3R1 を原因遺伝子とする疾患で、この経路が異常活性化することによりリンパ組織腫大や易感染性などを生じると考えられている。CTLA-4 ハプロ不全症や LRBA 欠損症、ICOS 欠損症などは、T 細胞異常活性化を抑制する CTLA-4 の発現誘導不全により T 細胞の異常活性化が認められる疾患だが、下流の経路に mTOR が關わっており、mTOR 阻害剤による治療が期待されている。ALPS は、FAS のシグナル伝達障害によりアポトーシスが抑制され、慢性のリンパ増殖と自己免疫症状を特徴とする疾患であるが、最近の研究で、mTOR の活性が亢進していることが示された。また、PI3K/AKT/mTOR 経路のシグナル伝達により内因性アポトーシスが抑制されることから、mTOR は ALPS の治療標的としても有望である。

このように、PI3K/AKT/mTOR 経路の異常を背景とする PID は複数知られており、今後分子基盤の解明がさらに進むことによってその数は増える可能性がある。近年では、Immune TOR-opathies というような新たな疾患概念が提唱されてきており、分子病態のさらなる理解と治療開発が期待される。

所属	北海道大学大学院医学研究院 呼吸器内科学教室
筆頭演者	鈴木 雅
共同演者	今野 哲

タイトル

当科におけるリンパ脈管筋腫症に対するシロリムス治療の実際

要旨本文

リンパ脈管筋腫症(lymphangiomyomatosis: LAM)は、平滑筋様の腫瘍細胞 (LAM 細胞) が増殖し、肺に多発性嚢胞を形成する進行性かつ全身性の腫瘍性稀少疾患であり、孤発性 LAM と結節性硬化症(TSC)に伴って発生する TSC-LAM とに分類される。主として妊娠可能年齢の女性に発症し、進行に伴って労作時呼吸困難や乳び胸水などの症状や所見が出現し、自然気胸を反復することが多い。腎臓などに血管筋脂肪腫を合併することもある。孤発性 LAM、TSC-LAM とともに TSC の原因遺伝子として同定された *TSC* 遺伝子異常が発症に関与しており、*TSC1* または *TSC2* の変異によって細胞内シグナル伝達系において mTOR の恒常的な活性化が起こり、LAM の病態に繋がることが解明されてきた。そして、mTOR 阻害薬であるシロリムスにより LAM の呼吸機能の低下が抑制される効果が報告され、本邦において 2014 年 7 月に薬事承認された。以来、当科では計 19 名の LAM 症例（うち TSC-LAM 1 例、在宅酸素療法 5 例）に対してシロリムスを投与した。口内炎等の有害事象を考慮し、投与量は 1mg/日から開始とし、忍容性があれば 2mg/日へ増量する方針としている。19 例全例でシロリムスの継続投与は可能であったが、2 例は LAM 以外の原因で死亡、1 例は肺移植待機のため投与中止した。5 例は有害事象により投与量を 2mg/日から 1mg/日に減量し（口内炎 3 例、肝機能障害 2 例、消化器症状 1 例）、1 例は初期投与量の 1mg/日で著明に乳び胸水が改善したため 1mg/日で継続している。現在の投与継続症例では呼吸機能の急激な悪化は認めず、特に巨大血管筋脂肪腫合併例、乳び胸水合併例では著明な改善を得ている。シロリムス薬事承認後の LAM 治療の実際を、症例呈示とともに報告する。