

領域融合レビュー, 7, e009 (2018)  
DOI: 10.7875/leading.author.7.e009  
2018年12月27日 公開

## Wnt シグナルの研究を基盤とした新規の抗がん剤の開発

### Wnt signaling pathways in cancers: key targets and implications in cancer therapy

松本真司・菊池 章

Shinji Matsumoto & Akira Kikuchi

大阪大学大学院医学系研究科 分子病態生化学

#### 要約

Wnt は分泌性糖タンパク質であり、Wnt シグナル伝達経路を活性化することにより、増殖、分化、細胞運動、極性など、多岐にわたる細胞の応答を制御する。Wnt シグナルは動物の胎生期における発生の過程に必須であり、種々の臓器の形成を制御する。出生ののちには臓器の恒常性の維持に関与し、再生や修復の過程において活性化される。一方、大腸がんをはじめとするヒトの種々のがんにおいて、Wnt シグナル伝達経路の異常な活性化の関与について報告されている。これまで、Wnt シグナル伝達経路の遮断を目的とした抗がん剤の開発が試みられてきたものの、医薬品として実用化された例はない。しかし、近年のヒトのがんゲノムの網羅的な解析やオルガノイド培養技術とあいまって、新たながんシグナルタンパク質の発見および分子標的治療薬の開発が期待されている。

#### はじめに

1982年、マウスの乳がんの原因遺伝子として *Int-1* 遺伝子がクローニングされ、ショウジョウバエにおける *Int-1* 遺伝子のホモログが *Wingless* 遺伝子という分節の形成に重要な役割をはたす遺伝子であったことから、*Int-1* は Wnt-1 (*Wingless* + *Int-1*) と名づけられた<sup>1)</sup>。それから 35 年以上がたち、腫瘍医学、発生生物学、幹細胞生物学においても解析が進み、Wnt の研究領域は大きく展開してきた。ヒトのがんにおける Wnt シグナルの重要性は、おもに大腸がんにおいて明らかにされてきた。しかし、近年のヒトのがんゲノムの網羅的な解析や、幹細胞の研究において発展したオルガノイド培養技術の応用などにより、Wnt シグナル伝達経路の構成タンパク質および Wnt 関連タンパク質の異常がヒトの多様ながんに関与することが明らかにされてきた。一方で、これまで、Wnt

シグナル伝達経路の遮断を目的とした抗がん剤の開発が試みられてきたものの、効果と安全性の問題から医薬品として実用化された例はない。このレビューにおいては、これまでに明らかにされてきた Wnt シグナルの活性化の機構に関する知見から、ヒトのがんにおける Wnt シグナル伝達経路の構成タンパク質の異常、また、現在、臨床試験が進められている Wnt 関連タンパク質を標的とした抗がん剤の開発について解説する。

#### 1. Wnt シグナル伝達経路の概要

Wnt は分子量が約 4 万の分泌性糖タンパク質で、ショウジョウバエから哺乳動物にいたるまで種をこえて保存され、初期発生や形態形成、また、出生ののちの増殖、分化、細胞運動、極性などを制御する<sup>2)</sup>。Wnt シグナル伝達経路には、 $\beta$ カテニンを介して遺伝子の発現を制御する  $\beta$ カテニン経路と、 $\beta$ カテニン経路とは独立し主として細胞骨格や細胞運動などを制御する  $\beta$ カテニン非依存性経路が存在する<sup>3)</sup> (図 1)。これまでに、リガンドとしての Wnt はヒトおよびマウスにおいて 19 種類が同定されている<sup>2)</sup>。また、Wnt の受容体としては、7 回膜貫通型の Frizzled (Fz1~Fz10 の 10 種類)にくわえ、1 回膜貫通型の LRP5、LRP6、Ror2、Ryk が存在する<sup>3)</sup>。少なくとも、 $\beta$ カテニン経路の活性化には 1 種類の Frizzled と LRP5 あるいは LRP6 が共役受容体として機能する。一方、Wnt5a は Frizzled、Ror1 あるいは Ror2 と三者複合体を形成することにより  $\beta$ カテニン非依存性経路を活性化する<sup>4)</sup>。

**Wnt タンパク質の翻訳後修飾と分泌:** すべての Wnt は合成の過程において小胞体に局在するアシル転移酵素 Porcn によりパルミトイル化される。脂質修飾をうけた Wnt は、そのうち、7 回膜貫通型ソーティング受容体である Evi/Wls と結合し、ゴルジ体を介して Wls に依存的に細胞外へと分泌される。Wnt の分泌にともない細胞膜に移行する Wls は、レトロマー複合体による逆行性輸送に

よりゴルジ体にもどされる<sup>5)</sup>。Porcn による脂質修飾は Wnt の分泌のみならず、受容体との結合や疎水性な細胞膜との親和性にも寄与する。ほとんどの場合、Wnt はその疎水性から非常に近い距離にある細胞に対し作用すると考えられているが、分泌された Wnt が標的になる細胞にまで輸送される機構については、直接的な分泌、エクソソーム、リボタンパク質粒子による輸送などが示唆されているものの、いまだ判然としない (図 2)。

**βカテニン経路:** βカテニンはカドヘリン結合タンパク質として同定され、細胞接着に重要なはたらきをもつと同時に、Wntシグナルのメディエーターとしても機能する。Wnt による刺激のない状態においては、細胞質のβカテニンが Axin, APC, GSK-3β からなる Axin 複合体によるリン酸化と、それにともなう β-TrCP によるユビキチン化を受け、最終的にはプロテアソームにより分解されるため、βカテニンの量は低いレベルに保たれる<sup>3)</sup>。Wnt3a や Wnt1 などが受容体である Frizzled あるいは共役受容体である LRP5, LRP6 と結合すると、Dvl が細胞膜へとリクルートされる結果、Axin 複合体の機能が抑制され、βカテニンは安定化して核へと移行したのち、転写因子である Tcf/Lef と結合し、Cyclin D1 遺伝子や c-Myc 遺伝子などの発現を促進することにより細胞の増殖や分化を制御する。

**βカテニン非依存性経路:** βカテニン非依存性経路には、平面内細胞極性 (planar cell polarity: PCP) を制御する PCP 経路と、細胞内における Ca<sup>2+</sup>の動員を促進する Ca<sup>2+</sup>経路の、少なくとも 2 種類が存在する<sup>3)</sup>。Wnt5a や Wnt11 などが受容体である Frizzled あるいは共役受容体である Ror1, Ror2, Ryk と結合すると、細胞において多様な βカテニン非依存性経路が活性化される。第 1 の経路である

PCP 経路は、ショウジョウバエの翅の表面において 1 層の上皮細胞から形成される翅毛の配向を決定するシグナル伝達経路として見いだされた。PCP 経路は Frizzled あるいは Dvl を介して Rho ファミリーの低分子量 G タンパク質を活性化し、さらに、Rho キナーゼや JNK の活性化により細胞骨格を制御して細胞極性や細胞運動、また、遺伝子の発現を促進する。第 2 の経路である Ca<sup>2+</sup>経路については、Wnt が細胞内における Ca<sup>2+</sup>の動員をひき起こし、CaMK および PKC を活性化することも報告されている。生理的な意義は不明であるが、βカテニン非依存性経路は βカテニン経路に対し拮抗することが示されている<sup>6)</sup>。このように、PCP 経路と Ca<sup>2+</sup>経路のほかにも βカテニンを介さないシグナル伝達経路の存在が見いだされており、βカテニン非依存性経路は多様性が高いと考えられる<sup>7)</sup>。

**R-spondin 経路:** 最近になり、Wnt および Wnt 受容体にくわえ、βカテニン経路を強力に増強する第 3 のタンパク質として R-spondin (Rspo1~Rspo4 の 4 種類) が同定され、ヒトのがんとのかかわりも報告されている。R-spondin の刺激のない状態においては、膜貫通型のユビキチンリガーゼである RNF43/ZNRF3 は細胞膜の Frizzled をユビキチン化し、Frizzled はリソソームにおいて分解される。R-spondin が細胞膜において LGR4, LGR5, LGR6 および RNF43/ZNRF3 と結合すると、RNF43/ZNRF3 が自己ユビキチン化により細胞膜から除去され、その結果、Frizzled が細胞膜において安定化し βカテニン経路を増強する<sup>8)</sup> (図 3)。R-spondin シグナルは Frizzled の安定化をひき起こすことから、βカテニン経路にくわえ βカテニン非依存性経路も活性化すると考えられているが、その生理的な意義については十分に解明されていない。

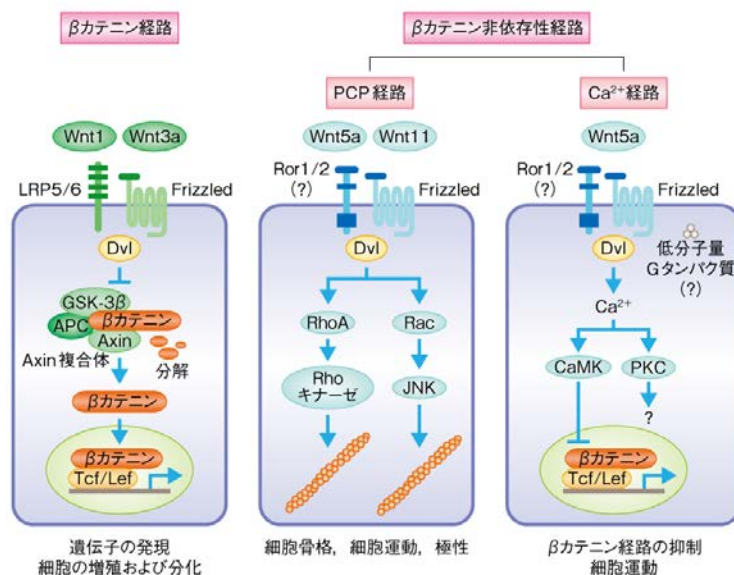


図 1 Wnt シグナル伝達経路の多様性

Wnt シグナルは βカテニン経路, PCP 経路, Ca<sup>2+</sup>経路の 3 つの経路を活性化する。

このように、Wnt は複数の細胞内シグナル伝達機構を活性化することにより、多彩な細胞応答を制御する。したがって、Wnt シグナル伝達経路に異常が生じると、がんをはじめとして種々の疾患が引き起こされる<sup>9)</sup>。

## 2. $\beta$ カテニン経路の異常とがん

近年、組織幹細胞を *in vitro* において培養するオルガノイド培養技術が急速に発展し、Wnt シグナルが腸管、胃、肝臓や膵臓といった多くの上皮組織幹細胞の増殖および維持に重要な役割をはたすことが明らかにされ、上皮を発生之母地とする多くのがん Wnt シグナルが関与する可能性が示唆されている。実際、The Cancer Genome Atlas (TCGA) や International Cancer Genome Consortium (ICGC) といった大規模ながんゲノムプロジェクトにより、DNA メチル化や遺伝子あるいはタンパク質の発現の異常に関する網羅的なデータが公開され、Wnt シグナル伝達経路の構成タンパク質の異常が多様ながん種において認められることが明らかにされている<sup>10)</sup>。

**APC 遺伝子の異常**：APC 遺伝子は家族性大腸腺腫症の原因遺伝子として同定された<sup>11)</sup>。APC タンパク質は約 2800 個のアミノ酸残基からなり、Axin および  $\beta$  カテニンと直接に結合して  $\beta$  カテニンの分解を促進する。APC 遺伝子の異常は家族性大腸腺腫症にくわえ大腸がんにおいても約 80% の症例で見出されている。家族性大腸腺腫症や大腸がんにおける APC 遺伝子の異常の大部分は、途中で終止コドンが生じ APC の C 末端側の半分が欠損するものである。この変異 APC は  $\beta$  カテニンとの結合能は保たれているが、Axin とは結合できない。したがって、 $\beta$  カテニンが効率よくリン酸化されないため、 $\beta$  カテニンの

分解能が低下し蓄積する。最近になり、ヒトの大腸オルガノイドの培養モデルにおいて、CRISPR-Cas9 法によるゲノム編集を用いて APC 遺伝子を含む複数の遺伝子に変異を導入することにより、多段階の発がんが *in vitro* において再現され、さらに実際に大腸がんが引き起こされることが示され、発がんの過程における APC 遺伝子の異常の重要性があらためて確認された<sup>12)</sup>。

**$\beta$  カテニン遺伝子の異常**：大腸がんの約 15% の症例で  $\beta$  カテニン遺伝子の異常が認められ、その変異はエキソン 3 に集中している<sup>11)</sup>。この領域には CK1 $\alpha$  および GSK-3 $\beta$  によりリン酸化されるアミノ酸配列、および、 $\beta$ -TrCP によるユビキチン化の認識配列が存在する。これらのアミノ酸残基の変異、あるいは、エキソン 3 の完全欠損あるいは部分欠損により、 $\beta$  カテニンは CK1 $\alpha$  や GSK-3 $\beta$  によりリン酸化されなくなる、あるいは、ユビキチン化をうけなくなり、変異  $\beta$  カテニンは細胞質や核に蓄積する。 $\beta$  カテニン遺伝子の異常は、肝臓がん、副腎皮質がん、胃がん、前立腺がん、小児肝がんである肝芽腫などにおいて高い頻度で認められる。

**Axin 遺伝子の異常**：ヒトには *Axin1* 遺伝子および *Axin2* 遺伝子 (ラット *Axil* 遺伝子、マウス *conductin* 遺伝子) の 2 つの *Axin* 遺伝子が存在し、肝臓がんにおいて *Axin1* 遺伝子、大腸がんにおいて *Axin2* 遺伝子の異常が報告されている<sup>13,14)</sup>。Axin の異常により APC、 $\beta$  カテニン、GSK-3 $\beta$  との複合体が形成されなくなり、 $\beta$  カテニンのリン酸化やユビキチン化が抑制され、その結果、 $\beta$  カテニンが蓄積すると考えられている。

**R-spondin 経路における遺伝子の異常**：最近になり、*RNF43* 遺伝子の機能欠失変異が膵がん<sup>15)</sup> および大腸がん<sup>16)</sup> において、また、*ZNRF3* 遺伝子の変異が副腎皮質がん<sup>17)</sup> において、はじめて報告された。さらに、*Rspo2* 遺伝子あるいは *Rspo3* 遺伝子の融合が約 10% の大腸がんにおいて認められている<sup>18)</sup>。大腸がんにおいて、*RNF43* 遺伝子の変異あるいは *R-spondin* 遺伝子の融合と APC 遺伝子の変異は相互排他的な関係にあることから、Wnt シグナル伝達経路の活性化および腫瘍の形成に関与すると考えられる。一方で、*RNF43/ZNRF3* 遺伝子に変異をもつ膵がんおよび大腸がんは Porcn の阻害剤に感受性を示すことから、細胞の増殖が Wnt の分泌に強く依存することが明らかにされた<sup>19,20)</sup>。

## 3. $\beta$ カテニン非依存性経路の異常とがん

**Wnt5a のがんの悪性化作用**：膵がんや悪性黒色腫をはじめとするヒトの多くのがんにおいて、 $\beta$  カテニン非依存性経路を活性化する Wnt5a は細胞運動や浸潤能を促進し、腫瘍の進展に関与する<sup>6)</sup>。非小細胞肺癌においては *Wnt5a* 遺伝子の過剰な発現と腫瘍の増殖および間質における血管の新生とのあいだに正の相関が認められる<sup>21)</sup>。胃がんにおいても、*Wnt5a* 遺伝子は約 30% の症例におい

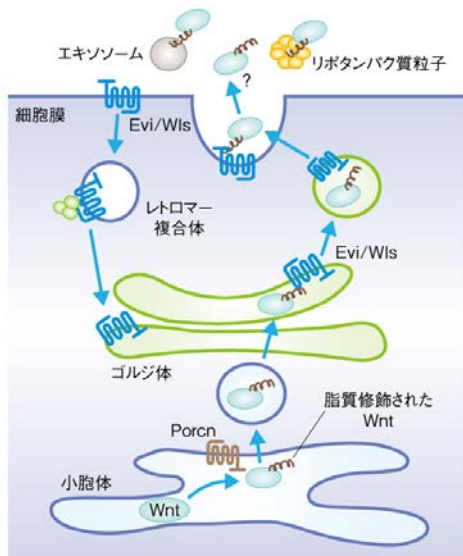


図 2 Wnt の分泌経路

Wnt は、小胞体において Porcn によりパルミトイル化 (脂質修飾) をうけ、Wls に依存的に細胞外へと分泌される。

て過剰に発現しており、悪性度の高いスキルス型において *Wnt5a* 陽性の症例が有意に多い<sup>22)</sup>。さらに、*Wnt5a* 陽性例の術後 5 年の生存率は陰性例に比べ有意に低い。また、*Wnt5a* 遺伝子が高発現している前立腺がんの症例では病理組織学的な悪性度が高く、術後の再発率も高い<sup>23)</sup>。したがって、*Wnt5a* はがん種に応じてがんの悪性を促進する作用をもつことから、ある種のがんにおいては診断マーカーや予後の判定指標、あるいは、治療の標的になる可能性がある。

***Wnt5a* のがんの抑制作用**：これに対し、*Wnt5a* は  $\beta$  カテニン経路を抑制するはたらきがあることから、がんの抑制作用をもつとも考えられている<sup>6)</sup>。たとえば、甲状腺がんや卵巣がんの細胞株において *Wnt5a* は細胞の増殖を抑制する<sup>24,25)</sup>。これらの結果と一致して、*Wnt5a* のヘテロノックアウトマウスを長期間にわたり飼育すると、24 カ月以内に約 20% のマウスにおいて B リンパ腫あるいは慢性骨髄性白血病が自然発症する<sup>26)</sup>。ヒトの白血病においても、*Wnt5a* 遺伝子の発現が抑制される症例が認められる。

#### 4. Wnt シグナル関連タンパク質の発現の異常と新規のがんシグナル

$\beta$  カテニン経路を制御する Axin 複合体の構成タンパク質の遺伝子の異常とがんとの関係が明らかにされたことから、これまで、 $\beta$  カテニン経路を直接に阻害する抗がん剤の開発が進められてきたが、いまだ実用化にはいたっていない。そこで、Wnt シグナル伝達経路に関連する創薬

の標的になりうる新規の経路の探索が進められている (図 4)。

**DKK1 によるがん細胞の増殖能の促進の分子機構**：DKK1 は、LRP6 と結合し  $\beta$  カテニン経路を阻害する分泌性タンパク質で、動物の発生に必須である<sup>27)</sup>。出生ののちの組織における発現はきわめて低いが、がん組織において特異的な高発現が認められる。その作用機構から、sFRP1 や sFRP2 と同様に、DKK1 はがんの抑制能をもつと考えられていたが、*DKK1* 遺伝子が肺がんや食道がんにおいて高発現することや、抗 DKK1 抗体が肺がん細胞株の増殖を抑制することから、DKK1 が Wnt シグナルの阻害とは関係なく、細胞の増殖を促進する可能性も示唆されていた<sup>28-30)</sup>。DKK1 結合タンパク質の探索の結果、細胞膜 1 回膜貫通 II 型膜タンパク質である CKAP4 が DKK1 の新規の受容体であることが判明した。DKK1-CKAP4 シグナル軸は、PI3K および AKT を活性化することにより細胞の増殖を促進する<sup>31)</sup>。*DKK1* 遺伝子および *CKAP4* 遺伝子は膀胱がん、肺腺がん、肺扁平上皮がん、食道扁平上皮がんの約 40~60% の症例においてがん組織に特異的に発現しており、*DKK1* 遺伝子および *CKAP4* 遺伝子が発現している症例は、*DKK1* 遺伝子および *CKAP4* 遺伝子がともに発現していない症例、および、いずれか一方のみが発現している症例に比べ、予後が有意に不良であった<sup>31,32)</sup>。くわえて、DKK1 と同様にがんの促進効果が認められながらこれまで受容体が不明であった DKK3 も、食道がんの約 50% の症例において p53 ファミリーの転写因子である p63 (TP63) に依存的に過剰に発現し、CKAP4 を介して

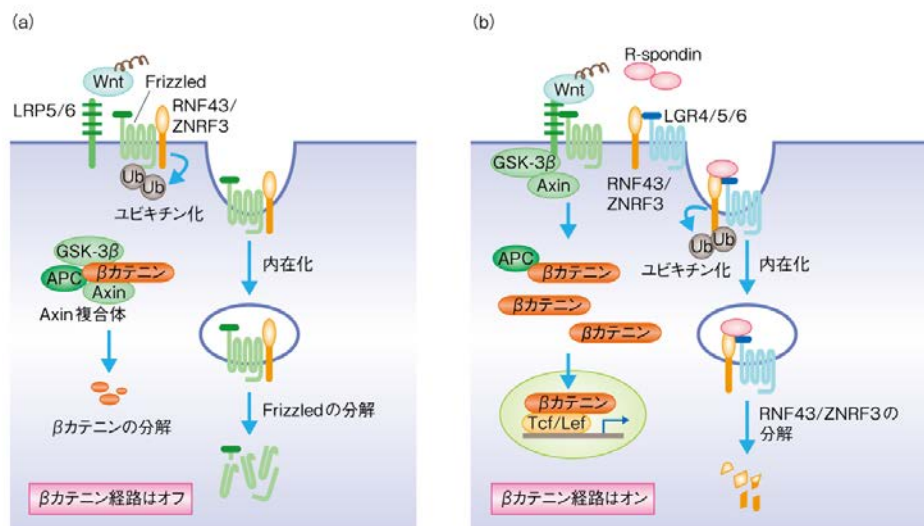


図 3 R-spondin-RNF43/ZNRF3 シグナルによる  $\beta$  カテニン経路の制御機構

- (a) R-spondin なし.
- (b) R-spondin あり.

RNF43/ZNRF3 は Frizzled のユビキチン化と分解をひき起こし、 $\beta$  カテニン経路を抑制する。R-spondin が RNF43/ZNRF3 および LGR4, LGR5, LGR6 と結合すると、RNF43/ZNRF3 は細胞膜から除かれ、Frizzled が安定化することにより  $\beta$  カテニン経路が活性化される。

細胞の増殖および腫瘍の形成を促進することが明らかにされている<sup>33)</sup>。さらに、抗 CKAP4 抗体が、*DKK1* 遺伝子あるいは *DKK3* 遺伝子を発現する膵がん細胞株、肺がん細胞株、食道がん細胞株の *in vivo* における腫瘍の形成を抑制することから、CKAP4 はある種のがんにおいて新規の診断マーカーや治療の標的になると考えられる。

**Arl4c によるがん細胞の運動および増殖能の促進の分子機構:** ヒトの多くのがんにおいてドライバーシグナルとして機能する EGF-Ras シグナルおよび Wnt- $\beta$  カテニンシグナルの共通の標的遺伝子として、*Arl4c* 遺伝子が同定された<sup>34)</sup>。正常な上皮細胞における管状構造の形成の過程は、がん細胞が運動能および増殖能を獲得して間質へと侵入していく過程と類似している。Wnt- $\beta$  カテニンシグナルと EGF-Ras シグナルが同時協調的に活性化すると *Arl4c* 遺伝子が発現し、上皮細胞の形態変化と活発な増殖を介して管状構造の形成をひき起こす。Arl4c は別種の低分子量 G タンパク質である Arf6, Rac, Rho の活性を制御し、その結果、YAP/YAZ が核へと移行することにより細胞の増殖を促進する<sup>34)</sup>。また、*Arl4c* 遺伝子は大腸がん、肺腺がん、肺扁平上皮がん、舌扁平上皮がんの約 50~80% の症例において腫瘍部に特異的に高発現しており、細胞の運動能、浸潤能、増殖能を促進する<sup>35,36)</sup>。くわえて、最近では、*Arl4c* 遺伝子の発現が胃がんの腹膜播種を促進することも報告されている<sup>37)</sup>。*Arl4c* 遺伝子は大腸がん細胞株、肺がん細胞株、肝がん細胞株、胃がん細胞株において、Wnt- $\beta$  カテニンシグナルあるいは EGF-Ras シグナルに依存して過剰に発現する。大腸がん細胞株や肝がん細胞株の *in vivo* における腫瘍の形成は、Arl4c に対する siRNA

やアンチセンス核酸の投与により抑制されることから、新たな Wnt 関連タンパク質として治療の標的になる可能性がある<sup>38)</sup>。

## 5. Wnt シグナル伝達経路を標的にした抗がん剤の開発

APCや $\beta$ カテニンといったAxin複合体の構成タンパク質の遺伝子変異の頻度の高さから、Wnt シグナルを標的にした初期の阻害剤の開発は、おもに $\beta$ カテニン-TCF複合体を標的にして精力的に進められてきた。一般に、核内転写因子に対する阻害剤の開発はむずかしいとされていて、 $\beta$ カテニン-TCF複合体に対しても、いまだ治療に用いられるような薬剤は存在しない。一方で、近年、Wntの分泌経路が詳細に明らかにされたことで、Wnt や Wnt 受容体のレベルでの阻害剤の開発が進められている。以下、現在、臨床試験が行われている主要な Wnt シグナル阻害剤について解説する(図5)。

**Porcn あるいは Wnt の分泌阻害剤:** さきに述べたように、Wnt の細胞外への分泌は Porcn による脂質修飾に依存することが明らかにされ、Porcn の阻害剤の開発が進んでいる。これまで、IWP-2, WNT-C59, LGK974 (WNT974), ETC-159 (ETC-1922159) が開発され、*RNF43* 遺伝子に変異をもつ膵がん<sup>39)</sup>、*RNF43* 遺伝子あるいは *R-spondin* 遺伝子の融合をもつ大腸がん<sup>40)</sup> に対する抗腫瘍効果が確認されている。このうち、LGK974 および ETC-159 は難治性の大腸がんに対し第1相の臨床試験が行われている。

**細胞外の Wnt 関連リガンドあるいは Wnt 関連受容体に対する阻害剤:** 近年、特定の Wnt 関連リガンドや Wnt 関

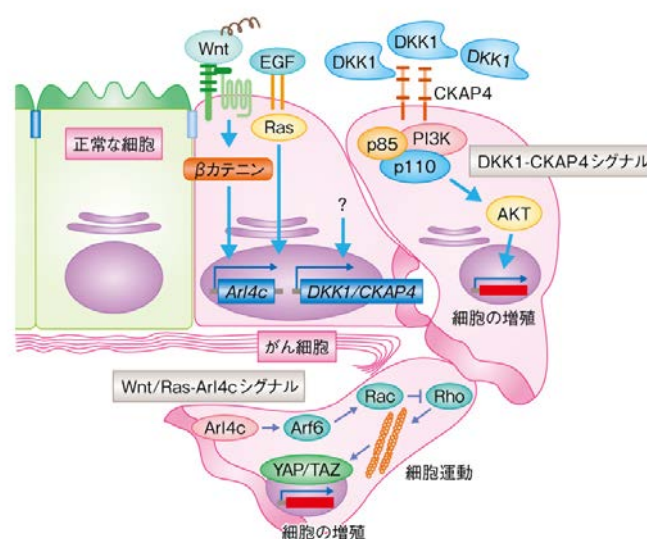


図4 がんの特異性の高い新たな Wnt 関連タンパク質とがんシグナル

がん化の過程において Wnt- $\beta$  カテニン経路と EGF-Ras シグナルが同時協調的に活性化すると、標的になる遺伝子として低分子量 G タンパク質をコードする *Arl4c* 遺伝子が発現し、Arl4c は細胞運動および細胞の増殖を活性化する。一方、発現の制御機構は不明だが、がん細胞に特異的に *DKK1* 遺伝子および *CKAP4* 遺伝子が過剰に発現すると、DKK1 は細胞膜受容体である CKAP4 と結合することにより PI3K-AKT シグナルを活性化し細胞の増殖を促進する。

連受容体の異常とがんの関連も報告され、多くの阻害剤が開発されている。

OMP-54F28 は Fz8 のシステインリッチドメインとヒト免疫グロブリン G の Fc 領域との融合タンパク質であり、Wnt に対するデコイ受容体として機能し  $\beta$  カテニン経路を阻害する<sup>41)</sup>。OMP-54F28 はヒトの肝がんおよび卵巣がんのマウスへの異種移植による腫瘍の形成を抑制することが確認されており、現在、既存の化学療法との併用により肝がん、卵巣がん、膵がんに対し第 1 相の臨床試験が行われている。

OMP-131R10 は Rspo3 に対するモノクローナル抗体で、Rspo3 遺伝子の融合をもつ大腸がん、あるいは、Rspo3 遺伝子を過剰に発現する非小細胞肺がんの異種移植による腫瘍の形成を抑制する。現在、転移性の大腸がんに対し第 1 相の臨床試験が行われている。

OMP-18R5 は Fz7 に対するモノクローナル抗体として作製されたが、くわえて、Fz1, Fz2, Fz5, Fz8 に対する認識能をもち、 $\beta$  カテニン経路を阻害することにより種々のヒトのがん細胞の異種移植による腫瘍の形成を抑制する<sup>42)</sup>。現在、膵がん、転移性乳がん、非小細胞肺がんに対し第 1 相の臨床試験が行われている。

OTSA101 は放射性同位元素により標識した Fz10 に対するモノクローナル抗体で、Fz10 が滑膜肉腫において特異的に過剰に発現することから、現在、滑膜肉腫に対し第 1 相の臨床試験が行われている<sup>43)</sup>。

**$\beta$  カテニンを含む複合体に対する阻害剤**: PRI-724 は  $\beta$  カテニンと転写共役因子である CBP との結合を阻害する低分子化合物で、 $\beta$  カテニンに依存的な遺伝子の発現を阻

害する<sup>44)</sup>。現在、 $\beta$  カテニンを含む複合体に対する阻害剤としては唯一、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、大腸がん、膵がんに対し第 1 相および第 2 相の臨床試験が行われている。

**$\beta$  カテニン非依存性経路を標的にした抗がん剤**: Cirmtuzumab (UC-961) は Ror1 に対するモノクローナル抗体で、Wnt5a-Ror1 シグナル伝達経路を阻害することにより、Ror1 遺伝子を過剰に発現する慢性リンパ性白血病細胞の増殖を抑制する<sup>45,46)</sup>。現在、慢性リンパ性白血病に対し第 1 相の臨床試験が行われている。Foxy5 は Wnt5a の類似ペプチドで、Wnt5a シグナルのアゴニストとして作用する。さきに述べたように、Wnt5a はある種のがんにおいて抑制的に作用するが、実際、マウスモデルにおいて Foxy5 は乳がん細胞の肺および肝転移を抑制する<sup>47)</sup>。また、Wnt5a 遺伝子の低発現は乳がん、大腸がん、前立腺がんにおいて予後不良と相関することから<sup>48-50)</sup>、現在、これらのがんに対して第 1 相の臨床試験が行われている。しかし、Wnt5a は  $\beta$  カテニン非依存性経路を介してがんに促進的に作用することもあるので、現状では、Wnt5a のアゴニストが抗腫瘍効果を発揮するがんの明確な識別は困難である。現在、これらを識別するためのマーカー遺伝子の探索が試みられている<sup>51)</sup>。

おわりに

35 年以上におよぶ Wnt の研究の結果、Wnt シグナル伝達経路の異常がヒトの多様ながんに関与することが明らかにされてきた。しかし、Wnt シグナルが毛包や腸管を

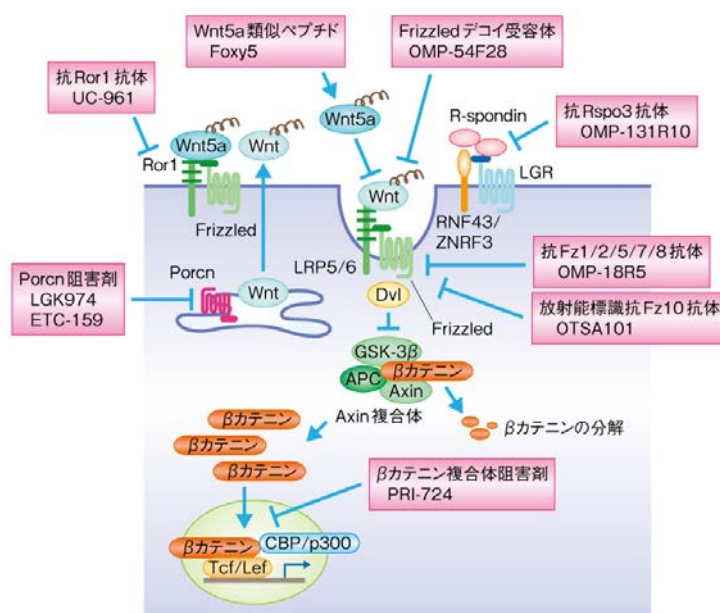


図 5 臨床試験が行われている Wnt シグナルを標的にした抗がん剤

阻害剤の多くは Wnt 関連リガンドあるいは Wnt 関連受容体を標的にする。いずれの阻害剤も、現在、第 1 相あるいは第 2 相の臨床試験が行われている。

はじめとする多くの正常な組織幹細胞の維持, 増殖, 分化にきわめて重要な役割をもつことから, Wnt シグナルを標的にした阻害剤にはつねに深刻な副作用が懸念される. そのため, 主要な Wnt シグナル伝達経路の構成タンパク質にくわえ, がんに特異的に機能する新たな Wnt 関連タンパク質やシグナル伝達経路を同定する試みは, 今後, ますます重要になると考えられる. また, 既存の分子標的薬や抗腫瘍薬と組み合わせて Wnt シグナルを阻害する試みも, 副作用の回避につながるかもしれない.

最近になり, Wnt シグナルはがん細胞そのものにくわえ, 周囲のがん微小環境に対しても多様なはたらきをもつことが示されている. とくに, 腫瘍免疫に対する作用は, 今後, ますます注目されるだろう. 実際, Wnt- $\beta$  カテニンシグナルの活性化が腫瘍において CD8 陽性 T 細胞の排除にはたらくなど, 抗腫瘍免疫を抑制する可能性が示唆されており<sup>52)</sup>, Wnt シグナル伝達経路の阻害剤とがん免疫療法との併用による治療効果の改善も期待される.

## 文献

- 1) Nusse, R. & Varmus, H. E.: Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell*, 31, 99-109 (1982)
- 2) Steinhart, Z. & Angers, S.: Wnt signaling in development and tissue homeostasis. *Development*, 145, dev146589 (2018)
- 3) Kikuchi, A., Yamamoto, H. & Sato, A.: Selective activation mechanisms of Wnt signaling pathways. *Trends Cell Biol.*, 19, 119-129 (2009)
- 4) Nishita, M., Enomoto, M., Yamagata, K. et al.: Cell/tissue-tropic functions of Wnt5a signaling in normal and cancer cells. *Trends Cell Biol.*, 20, 346-354 (2010)
- 5) Langton, P. F., Kakugawa, S. & Vincent, J. P.: Making, exporting, and modulating Wnts. *Trends Cell Biol.*, 26, 756-765 (2016)
- 6) Kikuchi, A. & Yamamoto, H.: Tumor formation due to abnormalities in the  $\beta$ -catenin-independent pathway of Wnt signaling. *Cancer Sci.*, 99, 202-208 (2008)
- 7) Niehrs, C.: The complex world of WNT receptor signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 13, 767-779 (2012)
- 8) De la, W., Peng, W. C., Gros, P. et al.: The R-spondin/Lgr5/Rnf43 module: regulator of Wnt signal strength. *Genes Dev.*, 28, 305-316 (2014)
- 9) Nusse, R. & Clevers, H.: Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. *Cell*, 169, 985-999 (2017)
- 10) Wiese, K. E., Nusse, R. & Van Amerongen, R.: Wnt signalling: conquering complexity. *Development*. 145, dev165902 (2018)
- 11) Polakis, P.: The many ways of Wnt in cancer. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 17, 45-51 (2007)
- 12) Matano, M., Date, S., Shimokawa, M. et al.: Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids. *Nat. Med.*, 21, 256-262 (2015)
- 13) Satoh, S., Daigo, Y., Furukawa, Y. et al.: *AXIN1* mutations in hepatocellular carcinomas, and growth suppression in cancer cells by virus-mediated transfer of *AXIN1*. *Nat. Genet.*, 24, 245-250 (2000)
- 14) Liu, W., Dong, X., Mai, M. et al.: Mutations in *AXIN2* cause colorectal cancer with defective mismatch repair by activating  $\beta$ -catenin/TCF signalling. *Nat. Genet.*, 26, 146-147 (2000)
- 15) Wu, J., Jiao, Y., Dal Molin, M. et al.: Whole-exome sequencing of neoplastic cysts of the pancreas reveals recurrent mutations in components of ubiquitin-dependent pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 21188-21193 (2011)
- 16) Giannakis, M., Hodis, E., Jasmine Mu, X. et al.: *RNF43* is frequently mutated in colorectal and endometrial cancers. *Nat. Genet.*, 46, 1264-1266 (2014)
- 17) Assie, G., Letouze, E., Fassnacht, M. et al.: Integrated genomic characterization of adrenocortical carcinoma. *Nat. Genet.*, 46, 607-612 (2014)
- 18) Seshagiri, S., Stawiski, E. W., Durinck, S. et al.: Recurrent R-spondin fusions in colon cancer. *Nature*, 488, 660-664 (2012)
- 19) Jiang, X., Hao, H. X., Growney, J. D. et al.: Inactivating mutations of *RNF43* confer Wnt dependency in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 12649-12654 (2013)
- 20) Koo, B. K., van Es, J. H., van den Born, M. et al.: Porcupine inhibitor suppresses paracrine Wnt-driven growth of *Rnf43:Znrf3*-mutant neoplasia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112, 7548-7550 (2015)
- 21) Huang, C. L., Liu, D., Nakano, J. et al.: Wnt5a expression is associated with the tumor proliferation and the stromal vascular endothelial growth factor: an expression in non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 23, 8765-8773 (2005)
- 22) Kurayoshi, M., Oue, N., Yamamoto, H. et al.: Expression of Wnt-5a is correlated with aggressiveness of gastric cancer by stimulating cell migration and invasion. *Cancer Res.*, 66, 10439-10448 (2006)

- 23) Yamamoto, H., Oue, N., Sato, A. et al.: Wnt5a signaling is involved in the aggressiveness of prostate cancer and expression of metalloproteinase. *Oncogene*, 29, 2036-2046 (2010)
- 24) Kremenevskaja, N., von Wasielewski, R., Rao, A. S. et al.: Wnt-5a has tumor suppressor activity in thyroid carcinoma. *Oncogene*, 24, 2144-2154 (2005)
- 25) Bitler, B. G., Nicodemus, J. P., Li, H. et al.: Wnt5a suppresses epithelial ovarian cancer by promoting cellular senescence. *Cancer Res.*, 71, 6184-6194 (2011)
- 26) Liang, H., Chen, Q., Coles, A. H. et al.: Wnt5a inhibits B cell proliferation and functions as a tumor suppressor in hematopoietic tissue. *Cancer Cell*, 4, 349-360 (2003)
- 27) Niehrs, C.: Function and biological roles of the Dickkopf family of Wnt modulators. *Oncogene*, 25, 7469-7481 (2006)
- 28) Sheng, S. L., Huang, G., Yu, B. et al.: Clinical significance and prognostic value of serum Dickkopf-1 concentrations in patients with lung cancer. *Clin. Chem.*, 55, 1656-1664 (2009)
- 29) Li, S., Qin, X., Liu, B. et al.: Dickkopf-1 is involved in invasive growth of esophageal cancer cells. *J. Mol. Histol.*, 42, 491-498 (2011)
- 30) Sato, N., Yamabuki, T., Takano, A. et al.: Wnt inhibitor Dickkopf-1 as a target for passive cancer immunotherapy. *Cancer Res.*, 70, 5326-5336 (2010)
- 31) Kimura, H., Fumoto, K., Shojima, K. et al.: CKAP4 is a Dickkopf1 receptor and is involved in tumor progression. *J. Clin. Invest.*, 126, 2689-2705 (2016)
- 32) Shinno, N., Kimura, H., Sada, R. et al.: Activation of the Dickkopf1-CKAP4 pathway is associated with poor prognosis of esophageal cancer and anti-CKAP4 antibody may be a new therapeutic drug. *Oncogene*, 37, 3471-3484 (2018)
- 33) Kajiwara, C., Fumoto, K., Kimura, H. et al.: p63-Dependent Dickkopf3 expression promotes esophageal cancer cell proliferation via CKAP4. *Cancer Res.*, 78, 6107-6120 (2018)
- 34) Matsumoto, S., Fujii, S., Sato, A. et al.: A combination of Wnt and growth factor signaling induces Arl4c expression to form epithelial tubular structures. *EMBO J.*, 33, 702-718 (2014)
- 35) Fujii, S., Matsumoto, S., Nojima, S. et al.: Arl4c expression in colorectal and lung cancers promotes tumorigenesis and may represent a novel therapeutic target. *Oncogene*, 34, 4834-4844 (2015)
- 36) Fujii, S., Shinjo, K., Matsumoto, S. et al.: Epigenetic upregulation of ARL4C, due to DNA hypomethylation in the 3'-untranslated region, promotes tumorigenesis of lung squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, 7, 81571-81587 (2016)
- 37) Hu, Q., Masuda, T., Sato, K. et al.: Identification of *ARLAC* as a peritoneal dissemination-associated gene and its clinical significance in gastric cancer. *Ann. Surg. Oncol.*, 25, 745-753 (2018)
- 38) Harada, T., Matsumoto, S., Hirota, S. et al.: Chemically modified antisense oligonucleotide against ARL4C inhibits primary and metastatic liver tumor growth. *Mol. Cancer Ther.*, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-18-0824
- 39) Jiang, X., Hao, H. X., Gowney, J. D., et al.: Inactivating mutations of *RNF43* confer Wnt dependency in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 12649-12654 (2013)
- 40) van de Wetering, M., Francies, H. E., Francis, J. M. et al.: Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell*, 161, 933-945 (2015)
- 41) Le, P. N., Mcdermott, J. D. & Jimeno, A.: Targeting the Wnt pathway in human cancers: therapeutic targeting with a focus on OMP-54F28. *Pharmacol. Ther.*, 146, 1-11 (2015)
- 42) Gurney, A., Axelrod, F., Bond, C. J. et al.: Wnt pathway inhibition via the targeting of Frizzled receptors results in decreased growth and tumorigenicity of human tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 11717-11722 (2012)
- 43) Nielsen, T. O., Poulin, N. M. & Ladanyi, M.: Synovial sarcoma: recent discoveries as a roadmap to new avenues for therapy. *Cancer Discov.*, 5, 124-134 (2015)
- 44) Gang, E. J., Hsieh, Y. T., Pham, J. et al.: Small-molecule inhibition of CBP/catenin interactions eliminates drug-resistant clones in acute lymphoblastic leukemia. *Oncogene*, 33, 2169-2178 (2014)
- 45) Khan, A. S., Hojjat-farsangi, M., Daneshmanesh, A. H. et al.: Dishevelled proteins are significantly upregulated in chronic lymphocytic leukaemia. *Tumour Biol.*, 37, 11947-11957 (2016)
- 46) Choi, M. Y., Widhopf, G. F., Wu, C. C. et al.: Pre-clinical specificity and safety of UC-961, a first-in-class monoclonal antibody targeting ROR1. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.*, 15, S167-S1659 (2015)
- 47) Safholm, A., Tuomela, J., Rosenkvist, J. et al.: The Wnt-5a-derived hexapeptide Foxy-5 inhibits breast cancer metastasis in vivo by targeting cell motility. *Clin. Cancer Res.*, 14, 6556-6563 (2008)



- 48) Dejmeek, J., Dejmeek, A., Saffholm, A. et al.: Wnt-5a protein expression in primary dukes B colon cancers identifies a subgroup of patients with good prognosis. *Cancer Res.*, 65, 9142-9146 (2005)
- 49) Dejmeek, J., Leandersson, K., Manjer, J. et al.: Expression and signaling activity of Wnt-5a/discoidin domain receptor-1 and Syk plays distinct but decisive roles in breast cancer patient survival. *Clin. Cancer Res.* 11, 520-528 (2005)
- 50) Syed Khaja, A. S., Helczynski, L., Edsjo, A. et al.: Elevated level of Wnt5a protein in localized prostate cancer tissue is associated with better outcome. *PLoS One*, 6, e26539 (2011)
- 51) Mehdawi, L. M., Prasad, C. P., Ehrnstrom, R. et al.: Non-canonical WNT5A signaling up-regulates the expression of the tumor suppressor 15-PGDH and induces differentiation of colon cancer cells. *Mol. Oncol.*, 10, 1415-1429 (2016)
- 52) Wang, B., Tian, T., Kalland, K. H. et al.: Targeting Wnt/ $\beta$ -catenin signaling for cancer immunotherapy. *Trends Pharmacol. Sci.*, 39, 648-658 (2018)

## 著者プロフィール

**松本 真司** (Shinji Matsumoto)

**略歴**: 2009年 広島大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程 修了, 同年 大阪大学大学院医学系研究科 特任研究員を経て, 2012年より同 特任助教 (現 助教).

**研究テーマ**: 発生の過程から疾患まで多岐にわたる Wnt シグナルの生理的な意義.

**抱負**: 数多くある増殖因子のなかで, Wnt シグナルが具体的になぜ, どのように大事なのか, 生理と病理の両面からその本質にせまりたい.

**菊池 章** (Akira Kikuchi)

大阪大学大学院医学系研究科 教授.

**研究室 URL**:

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molbiobc/>