

## Hedgehogシグナルを標的とした癌治療法の可能性

中村, 雅史  
九州大学大学院医学研究院先端医療医学部門腫瘍制御学

片野, 光男  
九州大学大学院医学研究院先端医療医学部門腫瘍制御学

<https://doi.org/10.15017/11871>

---

出版情報：福岡醫學雑誌. 99 (5), pp.102-106, 2008-05-25. 福岡医学会  
バージョン：  
権利関係：

# Hedgehog シグナルを標的とした癌治療法の可能性

九州大学大学院医学研究院 先端医療医学部門 腫瘍制御学

中村 雅史, 片野 光男

## はじめに

Hedgehog (Hh) シグナルは、胎生期の臓器形成において重要な因子として同定された。その後、Hh シグナル上に属する伝達因子の変異で、基底細胞癌、髄芽腫、黄紋筋肉腫が発生することが明らかになった。最近、様々な癌でリガンド依存性に Hh シグナルが活性化し、癌の発生・進展に関与していることが明らかにされつつある。この発見は、これらの癌細胞が細胞外シグナル伝達により制御できる可能性を示しており、Hh シグナル制御が新たな分子標的治療の候補となってきている。

## 1. Hedgehog (Hh) シグナルの伝達機構

Hh シグナルは、胎生期の形態形成に関わるシグナルとして同定されたいわゆる“モルフォゲン”の一つである。分泌細胞が分泌したリガンドの濃度勾配によって受容体を持つ受容細胞内の Hh シグナル活性が制御されて、様々な表現形を発現する<sup>1)</sup>。ヒトのリガンドとしては、3種類の蛋白が同定されている (Sonic Hedgehog (Shh), Indian Hedgehog (Ihh), Desert Hedgehog (Dhh))。Hh リガンドは、分泌細胞内で前駆体蛋白がプロセッシングされたのち、NH<sub>2</sub> 末端を含むフラグメントが脂質による修飾を受けて活性化リガンドとなる。その後、Dispatched 依存性に細胞外へ分泌される<sup>2)</sup>。

Hh リガンドが存在しない状態では、シグナルに対し抑制的に働くレセプターである 12 回膜貫通型蛋白 Patched1 (Ptch1) が、7 回膜貫通型蛋白 Smoothed (Smo) の細胞膜局在を抑制し、下流のシグナル分子への伝達も阻害している (図 1)<sup>3)~5)</sup>。この状況では、Smo の下流である 5 つのジンク・フィンガーを持つ転写因子 Gli ファミリー (Gli1, Gli2, Gli3) に Hh シグナルが伝わらず標的遺伝子の転写が活性化しない。特に、Gli3 はプロセッシングを受けてリプレッサーとして Gli1, Gli2 の転写を抑制することになる<sup>6)</sup>。産生細胞より Hh リガンドが産生されて受容細胞に到達すると、リガンドの結合により Ptch1 の Smo に対する抑制的な効果がなくなり、Smo より転写因子 Gli に至るシグナル系路が活性化し標的遺伝子が転写される。シグナルの構成因子である Ptch1, Gli1 も標的遺伝子であり、Hh シグナル活性化の指標となっている<sup>7)</sup>。受容体に結合できる Hh リガンドの量は、Hh リガンド結合蛋白によって厳密にコントロールされている。結合蛋白としては、Hh interacting protein (Hip) や growth arrest-specific gene (Gas-1) が同定されている<sup>8)9)</sup>。また、最近 cell adhesion molecule-related/down-regulated by oncogenes (Cdon/Cdo) や brother of Cdo (Boc) といった Hh リガンドと Ptch1 の結合を促す因子も同定されてきている<sup>10)11)</sup>。

## 2. Hh シグナル因子の変異と腫瘍発生

Hh シグナル活性化と悪性腫瘍の関係は、中枢神経系と皮膚の悪性腫瘍で明らかにされてきた。最初は、1987 年にヒトの髄芽腫で Gli の遺伝子増幅が報告された<sup>12)</sup>。Gli の名称もここに由来する。その後、1996 年に、皮膚の基底細胞癌に対する高危険群である Gorlin 症候群の原因遺伝子変異として Ptch1 の変異が同定された<sup>13)14)</sup>。Gorlin 症候群は、脳腫瘍である髄芽腫や筋腫瘍の黄紋筋肉腫を合併することで知られてい

Masafumi NAKAMURA\* and Mitsuo KATANO

Department of Cancer Therapy and Research, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan  
Hedgehog Signaling Pathway and Its Impact on Development of Cancer Therapy

\*Corresponding author:

3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

Phone: 81-92-642-6220, Fax: 81-92-642-6221

E-mail: mnaka@surg1.med.kyushu-u.ac.jp.

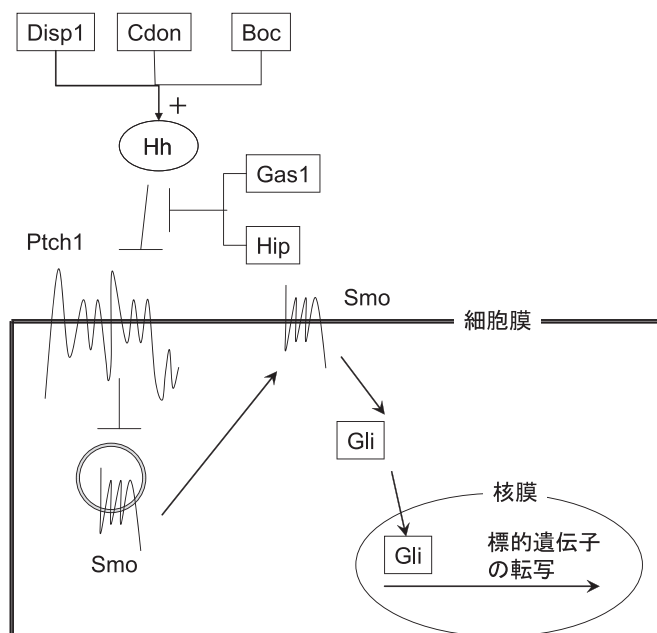


図1 Hh シグナル伝達経路の模式図

Hh リガンドが存在しない状態では、シグナルに対し抑制的に働くレセプターである Patched1 (Ptc1) が Smoothened (Smo) の細胞膜局在を抑制し、下流のシグナル分子への伝達も阻害している。Hh リガンド (Hh) が受容細胞に到達すると、リガンドの結合により Ptc1 の Smo に対する抑制的な効果がなくなり、Smo より転写因子 Gli に至るシグナル系路が活性化し Gli が核内に移行し標的遺伝子が転写される。Hh リガンドは、Hh interacting protein (Hip) や growth arrest-specific gene (Gas-1) により抑制されている。また、cell adhesion molecule-related/down-regulated by oncogenes (Cdon/Cdo) や brother of Cdo (Boc) は、Hh リガンドと Ptc1 の結合を促している。

る。また、大部分の非家族性基底細胞癌の症例でも Ptc1 が変異を起こしているが<sup>4)</sup>、10%以下の症例では Ptc1 変異の代わりに Smo の活性化型変異が存在し Smo 以下のシグナル伝達を活性化している<sup>15)</sup>。同様に、髄芽腫でも Ptc1 の体細胞変異が報告されている<sup>16)</sup>。総括すると、これらの悪性腫瘍では、Ptc1 以下のシグナル因子のゲノムが増幅や変異を起こし Hh シグナルが活性化していた。

### 3. Hh リガンドの過剰発現と発癌

2003年に、肺小細胞癌で、遺伝子変異によらない Hh シグナルのリガンドの一つ Shh の発現増強を原因とする Hh シグナル活性化と、これに依存した癌細胞の増殖が報告された<sup>17)</sup>。これに続き、食道癌・胃癌・膵癌といった多種の消化器癌で、肺小細胞癌と同様の Shh 依存性の Hh シグナル活性化と、Hh シグナル依存性の癌細胞増殖が存在することが明らかとなってきている<sup>18)~20)</sup>。これらの癌と同様に、乳癌でも、Gli1 の核内移行を指標にした乳癌切除例の検討により、癌組織内で Hh シグナルが活性化していることが証明された<sup>7)</sup>。シグナル活性化の機序としては、Hh シグナル因子の変異を認めるがごく少数に限られており、Shh 過剰発現が原因であることが明らかになった<sup>21)</sup>。Hh シグナル阻害剤による癌細胞の発育抑制も確認された<sup>7)</sup>。このリガンド依存性 Hh シグナル活性化の系では、Hh シグナル系は、腫瘍細胞がリガンドを自己分泌する autocrine となっている。

癌細胞による Shh 過剰発現の機構は、膵癌で最初に明らかになった。通常型膵癌にほぼ必然的に伴う炎症性変化と Shh 発現の関連性解析より、切除された慢性膵炎と膵癌標本で、炎症反応に関連した転写因子

NF $\kappa$ ・B と Shh 発現の間に緊密な正相関が発見された<sup>22)</sup>。炎症性サイトカインを介した NF $\kappa$ ・B 活性化で膵癌細胞の Shh の発現上昇と Hh シグナルの活性化が惹起され、逆に、NF $\kappa$ ・B 抑制で Shh の発現低下・Hh シグナル不活化を認めた。また、炎症性サイトカインを介した NF $\kappa$ ・B 活性化は膵癌細胞を増殖させるが、Hh シグナルの抑制は NF $\kappa$ ・B を介した腫瘍細胞の増殖を抑制した。

乳癌でも、リガンド過剰分泌のメカニズムが明らかにされた。エストロゲンレセプター(ER)・経由のシグナルが Shh の発現を増強すること、及び Shh 依存性に Hh シグナルを活性化することが明らかになった<sup>21)</sup>。これら、ER・により産生誘導された Shh は細胞増殖活性を持っていた。in vitro のデータと符合して、乳癌組織を用いた検討でも ER・発現と Shh mRNA 発現は正の相関を示した。

Hh シグナルは、中枢神経系<sup>23)~25)</sup>、乳腺<sup>26)</sup>、造血系<sup>27)</sup>の幹細胞増殖に関与することも報告されている。また、乳癌の癌性幹細胞候補である CD44<sup>+</sup>CD24<sup>-/low</sup>分画で高発現していることが確認されている<sup>28)</sup>。

#### 4. Hh シグナルと癌浸潤

腫瘍内 Hh シグナル活性化と癌浸潤の関連については、前立腺癌で最初に報告された。転移能が低い AT2.1 細胞に Gli1 を過剰発現させることにより、肺転移が多発するようになった<sup>29)</sup>。その後、膵癌細胞株を用いたマウス移植モデルでも、Hh シグナルの抑制で転移が抑制されることが報告された<sup>30)</sup>。Hh シグナルによる浸潤能活性化の機序としては、Hh シグナル活性化による MMP9 発現の増加が報告されている<sup>31)</sup>。

#### 5. 癌組織内 Hh シグナル活性化の臓器特異性

癌組織内 Hh シグナルの活性化は臓器により異なり、大腸癌では活性化しておらず、WNT シグナルが増殖シグナルとなっている。胎生期には、Hh シグナルは WNT シグナルを抑制することが遺伝的解析より予測されていたが<sup>32)</sup>、成人期の大腸上皮でも同様に、Hh シグナルのリガンドの一つである Ihh が WNT シグナルの antagonist として働き上皮を分化させることを示唆する証拠が示された<sup>33)</sup>。この Hh シグナルと WNT シグナルの抑制的関係は、大腸癌細胞を用いた研究で直接的に証明された<sup>34)</sup>。切除大腸癌組織の検討より、WNT シグナルと Hh シグナルの活性指標である  $\beta$ -catenin と Gli1 の核内蓄積量は 40 症例の大腸癌で反比例し、WNT シグナルの転写活性は Gli1 の過剰発現で減少した。Gli1 による WNT シグナルの抑制効果は、 $\beta$ -catenin の安定型変異を有する細胞でも観察され、これら細胞内での Gli1 過剰発現に反比例し  $\beta$ -catenin の核内蓄積量は減少した。 $\beta$ -catenin の突然変異によるケースでさえ Gli1 が WNT 活性を抑制できる事実は、Hh シグナルによる大腸癌治療の可能性を示唆している<sup>34)</sup>。

#### 6. Hh シグナル抑制法

Hh シグナルは様々な癌で活性化しているが、特に膠芽腫、髄芽腫、膵癌といった難治性腫瘍では、Hh シグナル抑制による治療法開発が期待される。現在、Hh シグナル阻害剤としては、ユリ科植物より抽出されたアルカロイドであるシクロパミンや Shh の中和抗体が知られている<sup>35)</sup>。このほか、低分子阻害剤の開発が現在進行中である<sup>36)37)</sup>。この他、我々は Hh シグナルに対する分子標的治療への展開に向けて、Ptch1 上のオリゴペプチド配列に対する抗体を作成し、リガンド結合阻害による Ptch1 を介した Smo 抑制による Hh シグナル抑制効果を検証した。抗 Ptch1 抗体の存在下では、Hh シグナル依存性増殖を示す乳癌細胞・膵癌細胞の Hh シグナル活性が低下し、細胞増殖も制御可能であった。Hh シグナルが活性化していない大腸癌細胞では抗 Ptch1 抗体による影響を認めなかった<sup>38)</sup>。現在、Ptch1 蛋白上の標的となったオリゴペプチドに対する親和性オリゴペプチドを合成しているが、これら数種のペプチドも抗体同様の効果があることを確認している。

#### まとめ

Hh シグナルを癌との関連を中心に概説した。Hh シグナルは、多種の癌において、癌性幹細胞も含めた

発癌・増殖・浸潤・転移といった広い分野で重要な役割を行っていることが明らかになりつつある。今後、特に膀胱癌等の難治性癌で、Hh シグナルを標的にした治療法開発が重要な研究課題になるとと思われる。臨床応用にあたっては、癌によっては Hh シグナル抑制が増殖に働くものがあることや、正常幹細胞への影響、催奇性の問題を充分考慮する必要があると思われる。

### 参 考 文 献

- 1) 久保真, 中村雅史, 片野光男:【各科領域癌に対する分子標的治療】 乳癌に対する新たな治療標的 Hedgehog シグナル伝達系. 癌の臨床 51: 265-271, 2005.
- 2) Burke R, Nellen D, Bellotto M et al.: Dispatched, a novel sterol-sensing domain protein dedicated to the release of cholesterol-modified hedgehog from signaling cells. *Cell* 99: 803-815, 1999.
- 3) Stone DM, Hynes M, Armanini M et al.: The tumour-suppressor gene patched encodes a candidate receptor for Sonic hedgehog. *Nature* 384: 129-134, 1996.
- 4) Evangelista M, Tian H and de Sauvage FJ: The hedgehog signaling pathway in cancer. *Clin Cancer Res* 12: 5924-5928, 2006.
- 5) Taipale J, Cooper MK, Maiti T and Beachy PA: Patched acts catalytically to suppress the activity of Smoothened. *Nature* 418: 892-897, 2002.
- 6) Ruiz i Altaba A, Mas C and Stecca B: The Gli code: an information nexus regulating cell fate, stemness and cancer. *Trends Cell Biol* 17: 438-447, 2007.
- 7) Kubo M, Nakamura M, Tasaki A et al.: Hedgehog signaling pathway is a new therapeutic target for patients with breast cancer. *Cancer Res* 64: 6071-6074, 2004.
- 8) Chuang PT, Kawcak T and McMahon AP: Feedback control of mammalian Hedgehog signaling by the Hedgehog-binding protein, Hip1, modulates Fgf signaling during branching morphogenesis of the lung. *Genes Dev* 17: 342-347, 2003.
- 9) Lee CS, Buttitta L and Fan CM: Evidence that the WNT-inducible growth arrest-specific gene 1 encodes an antagonist of sonic hedgehog signaling in the somite. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 11347-11352, 2001.
- 10) Tenzen T, Allen BL, Cole F et al.: The cell surface membrane proteins Cdo and Boc are components and targets of the Hedgehog signaling pathway and feedback network in mice. *Dev Cell* 10: 647-656, 2006.
- 11) Yao S, Lum L and Beachy P: The ihog cell-surface proteins bind Hedgehog and mediate pathway activation. *Cell* 125: 343-357, 2006.
- 12) Kinzler KW, Bigner SH and Bigner DD et al.: Identification of an amplified, highly expressed gene in a human glioma. *Science* 236: 70-73, 1987.
- 13) Hahn H, Wicking C, Zaphiropoulos PG and et al.: Mutations of the human homolog of Drosophila patched in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Cell* 85: 841-851, 1996.
- 14) Johnson RL, Rothman AL, Xie J et al.: Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science* 272: 1668-1671, 1996.
- 15) Lam CW, Xie J, To KF et al.: A frequent activated smoothened mutation in sporadic basal cell carcinomas. Activating Smoothened mutations in sporadic basal-cell carcinoma. *Oncogene* 18: 833-836, 1999.
- 16) Vorechovsky I, Tingby O, Hartman M et al.: Somatic mutations in the human homologue of Drosophila patched in primitive neuroectodermal tumours. *Oncogene* 15: 361-366, 1997.
- 17) Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG et al.: Hedgehog signalling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. *Nature* 422: 313-317, 2003.
- 18) Thayer SP, di Magliano MP, Heiser PW et al.: Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. *Nature* 425: 851-856, 2003.
- 19) Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A et al.: Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* 425: 846-851, 2003.
- 20) Yanai K, Nagai S, Wada J et al.: Hedgehog signaling pathway is a possible therapeutic target for gastric cancer. *J Surg Oncol* 95: 55-62, 2007.
- 21) Koga K, Nakamura M, Nakashima H et al.: A Novel Link Between Estrogen Receptor  $\alpha$  and the Hedgehog Pathway in Breast Cancer. *Anticancer Res* in press, 2008.
- 22) Nakashima H, Nakamura M, Yamaguchi H et al.: Nuclear factor- $\kappa$ B contributes to hedgehog signaling pathway activation through sonic hedgehog induction in pancreatic cancer. *Cancer Res* 66: 7041-7049, 2006.
- 23) Palma V, Lim DA, Dahmane N et al.: Sonic hedgehog controls stem cell behavior in the postnatal and adult

- brain. *Development* 132 : 335-344, 2005.
- 24) Ahn S and Joyner AL : In vivo analysis of quiescent adult neural stem cells responding to Sonic hedgehog. *Nature* 437 : 894-897, 2005.
- 25) Machold R, Hayashi S, Rutlin M et al. : Sonic hedgehog is required for progenitor cell maintenance in telencephalic stem cell niches. *Neuron* 39 : 937-950, 2003.
- 26) Liu S, Dontu G and Wicha MS : Mammary stem cells, self-renewal pathways, and carcinogenesis. *Breast Cancer Res* 7 : 86-95, 2005.
- 27) Bhardwaj G, Murdoch B, Wu D et al. : Sonic hedgehog induces the proliferation of primitive human hematopoietic cells via BMP regulation. *Nat Immunol* 2 : 172-180, 2001.
- 28]** Liu S, Dontu G, Mantle ID et al. : Hedgehog signaling and Bmi-1 regulate self-renewal of normal and malignant human mammary stem cells. *Cancer Res* 66 : 6063-6071, 2006.
- 29) Karhadkar SS, Bova GS, Abdallah N et al. : Hedgehog signalling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis. *Nature* 431 : 707-712, 2004.
- 30]** Feldmann G, Dhara S, Fendrich V et al. : Blockade of hedgehog signaling inhibits pancreatic cancer invasion and metastases: a new paradigm for combination therapy in solid cancers. *Cancer Res* 67 : 2187-2196, 2007.
- 31]** Nagai S, Nakamura M, Yanai K et al. : Gli1 contributes to the invasiveness of pancreatic cancer through matrix metalloproteinase-9 activation. *Cancer Science* in press, 2008.
- 32) Glise B, Jones DL, Ingham PW: Notch and Wntless modulate the response of cells to Hedgehog signalling in the *Drosophila* wing. *Dev Biol* 248 : 93-106, 2002.
- 33) van den Brink GR, Bleuming SA, Hardwick JC et al. : Indian Hedgehog is an antagonist of Wnt signaling in colonic epithelial cell differentiation. *Nat Genet* 36 : 277-282, 2004.
- 34]** Akiyoshi T, Nakamura M, Koga K et al. : Gli1, downregulated in colorectal cancers, inhibits proliferation of colon cancer cells involving Wnt signalling activation. *Gut* 55 : 991-999, 2006.
- 35) Katano M : Hedgehog signaling pathway as a therapeutic target in breast cancer. *Cancer Lett* 227 : 99-104, 2005.
- 36) Frank-Kamenetsky M, Zhang XM, Bottega S et al. : Small-molecule modulators of Hedgehog signaling : identification and characterization of Smoothed agonists and antagonists. *J Biol* 1 : 10, 2002.
- 37) Chen JK, Taipale J, Young KE et al. : Small molecule modulation of Smoothed activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 : 14071-14076, 2002.
- 38) Nakamura M, Kubo M, Yanai K et al. : Anti-patched-1 antibodies suppress hedgehog signaling pathway and pancreatic cancer proliferation. *Anticancer Res* 27 : 3743-3747, 2007.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です.)

## プロフィール

中村 雅史 (なかむら まさふみ)

九州大学准教授 (大学院・医学研究院・腫瘍制御学). 医学博士

◆**略歴**: 1988年九州大学医学部卒業. 1999年同大学院博士課程終了. 同年よりハーバード大学癌生物学プロジェクト研究員. 2004年より現職.

◆**研究テーマ**: 固形癌の臨床につながるトランスレーショナル・リサーチ