

【各 論】

新しい腎性貧血治療薬：HIF-PHI

HIF の悪性腫瘍への関与\*

平和伸仁\*\* 畠山萌枝\*\* 亀丸愛子\*\* 蔵口裕美\*\* 森 梓\*\* 古宮士朗\*\*

■ はじめに

慢性腎臓病や維持透析患者では、エリスロポエチンの産生低下に伴い腎性貧血を生じることは周知のごとくである。1980年代後半にエリスロポエチン製剤が開発され、腎性貧血患者への福音となった。それから30年の時を経て、経口投与可能な内因性エリスロポエチン産生刺激作用を有するHIF-PHIが開発され、実臨床に利用可能となった。HIF-プロリン水酸化酵素を阻害することによりHIFの作用を高めることがその主なメカニズムである。HIFにはさまざまな作用が報告されているが、エリスロポエチンの産生を促進するのみならず、細胞増殖を刺激することも知られている。そこで、HIF-PHIの投与により貧血の改善のみならず、さまざまな細胞の増殖が刺激されることにより、悪性腫瘍の発生やその進展に寄与する危険性が考えられる。本稿では、HIF-PHIによる悪性腫瘍リスクについて基礎的、臨床的なデータをまとめて検討してみたい。

■ HIF と悪性腫瘍

ヒトの細胞は、エネルギー産生のためにミトコ

ンドリアにてATP産生をする際に酸素を必要とする。悪性腫瘍は急速な拡大をする一方で、相対的に血管に乏しいため固形腫瘍内部の癌細胞は、低酸素状態、低栄養状態に曝れている。そのような環境で生き延びるためにHIFが産生されることになる。HIF-1 $\alpha$ は、このように低酸素環境下で産生が刺激され、赤血球産生を刺激するのみならず、細胞増殖、血管の新生<sup>1)</sup>や分化を促すが知られているが<sup>2)</sup>、低酸素系以外でもPI3-Akt-mammalian target of rapamycin (mTOR) シグナル伝達経路によっても制御されており<sup>3)</sup>、悪性腫瘍時にこれらの系が活性化されていてHIFが活性化されると報告されている。

HIFは、さまざまな癌関連遺伝子を活性化させることが知られている(図)。多くの成長因子を刺激し、上皮間葉転換<sup>4)</sup>にも関連する。また、さまざまな腫瘍の浸潤や転移に関係している<sup>5)</sup>。さらに、癌に対する放射線治療<sup>6)</sup>や化学療法時<sup>7)</sup>にも影響を与えているといわれている。HIFは腫瘍の形成促進、拡大に関連するとともに、転移、さらに治療抵抗性にまで関連することから、癌治療の対象因子として以前から癌研究における注目されていた。

すでに、HIFが刺激するさまざまな因子は、癌治療の重要なターゲットとなっている。例えば、

\* Relationship between HIF and malignant tumor

key words : HIF-PHI, 細胞増殖, 悪性腫瘍, 臨床試験

\*\* 横浜市立大学附属市民総合医療センター腎臓・高血圧内科/血液浄化療法部 HIRAWA Nobuhito, HATAKEYAMA Moe, KAMEMARU Aiko, KURAGUCHI Hiromi, MORI Azusa, KOMIYA Shirou  
〔〒232-0024 横浜市南区浦舟町 4-57〕

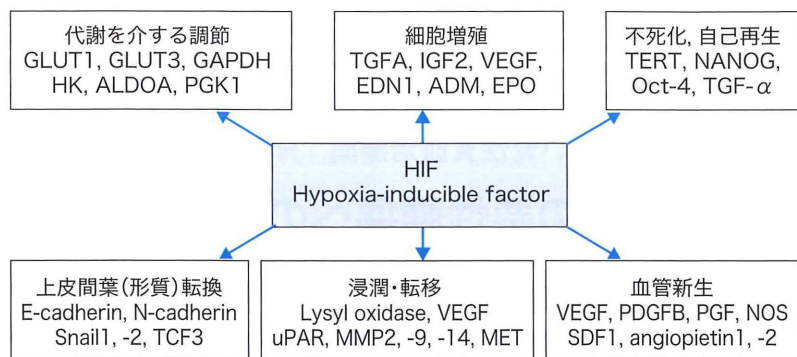


図 HIF が活性化するさまざまな癌関連因子

GLUT : glucose transporter, TGFA : transforming growth factor- $\alpha$ , TERT : telomerase, GAPDH : glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, IGF2 : insulin-like growth factor-2, Oct-4 : octamer-binding transcription factor 4, VEGF : vascular endothelial growth factor, TGF- $\alpha$  : transforming growth factor- $\alpha$ , HK : hexokinase, EDN1 : endothelin 1, ADM : adrenomedullin, ALDOA : aldolase A, EPO : erythropoietin, VEGF : vascular endothelial growth factor, PGK1 : phosphoglycerate kinase 1, PDGF : platelet-derived growth factor B, uPAR : urokinase type plasminogen activator receptor, PGF : placental growth factor, TCF3 : transcription factor 3, NOS : nitric oxide synthase, MMP : metalloprotease, SDF1 : stromal-derived factor 1, MET : Met proto-oncogene/hepatocyte growth factor receptor

HIFにより活性化されるVEGFの阻害薬であるアフリベルセプトは、進行・再発の大腸癌治療薬として使用されている。また抗VEGF抗体は、結腸・大腸癌に加えて非小細胞肺癌、卵巣癌、乳癌、悪性神経腫瘍などで保険適用されている。このように、HIFと癌とは密接な関係性が認められている。

## I HIF-PHIと悪性腫瘍（基礎）

HIF-PHIは、HIFの分解を抑制することによりHIFの効果を増強させ、その結果としてエリスロポエチン遺伝子の発現増加を介した増血作用を高める。そして、HIF-PHIの1つであるroxadustatは、2019年よりわが国の腎性貧血治療薬として保険適用されるに至っている。一方でHIFは、エリスロポエチン遺伝子のみならず、さまざまな癌に関連する遺伝子を活性化させる(図)ことが知られている。よって、HIFの作用を増強するHIF-PHIは、さまざまな遺伝子賦活を介して癌を発症

させやすくする可能性がある。Frostらは、HIF-PHIのHeLa細胞への作用を検討し、低酸素刺激と同様な癌遺伝子発現への影響を報告している<sup>8)</sup>。このデータから、HIF-PHIによる治療によりHIF作用が高まり、さまざまな遺伝子の発現が増強していることを示しており、長期での*in vivo*への投与のリスクを示唆している。

Beckらは、CD-1マウスおよびSDラットをroxadustatにて最長104週間治療して、その毒性を評価している<sup>9)</sup>。CD-1マウスの治療に使用した用量は最大60 mg/kgであったが、18カ月治療におけるHct値は軽度増加していた程度であった。生存率には有意差はなく、roxadustatの安全性が示されている。一方で、腫瘍による死亡の記載では、オスでは肺癌、メスでは乳癌が、コントロールと比較してroxadustat群で多く発症しており、懸念すべきデータであった(表)。また、全体評価は、肺アデノーマは治療の有無にかかわらず同等の発生頻度であったが、肺癌はオスの治療群で多く認められた。また死亡脱落報告と同様

表

		各発生数									
Beck, et al 2017		オス					メス				
Roxadustat (mg/kg)	CD-1 マウス (各群 n=60)	0	15	30	60		0	15	30	60	
腫瘍関連死亡	乳腺 腺癌	0	0	0	0		0	0	4	3	
	肺癌	0	3	2	5		2	3	0	1	
	リンパ腫	4	1	2	4		3	8	4	9	
腫瘍発生 個体数	乳腺 腺癌	—	—	—	—		1	0	5	3	
	肺癌	0	11	4	8		2	5	3	1	
	リンパ腫	5	2	3	5		9	10	7	16	
	SD ラット (各 n=75)	0	2.5	5	10		0	2.5	5	10	
腫瘍関連死亡	乳腺腫瘍 (腺腫, 腺癌)	0	0	0	0		1	1	3	4	
	リンパ腫	2	1	0	1		0	1	0	1	
腫瘍発生個体数	乳腺 腺腫	2	0	0	0		8	11	23	9	
	脾臓 血管肉腫	0	0	0	2		0	0	0	0	
Adams, et al 2020		オス					メス				
Daprodustat (mg/kg/日)	CD-1 マウス (各群 n=60)	0	0.2 <sup>a</sup>	0.8	0.8 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	0	0.2 <sup>a</sup>	0.8	0.8 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>
腫瘍関連死亡	肝細胞癌/腺腫	1	0	4	1	3	0	1	0	0	0
	肺癌, 腺腫	9	7	6	12	16	2	6	5	2	4
	血管肉腫	1	4	2	1	0	0	1	2	4	4
	SD ラット (各 n=70)	0	0.02	0.1	0.8	4	0	0.02	0.1	0.8	7
腫瘍関連死亡	乳腺腫瘍 (腺腫, 腺癌)	1	0	0	0	0	9	13	13	8	11
	下垂体腫瘍	12	10	12	8	6	28	27	22	14	14
腫瘍発生個体数	乳腺癌+乳腺扁平上皮癌	2	0	0	0	0	9	6	10	3	11
	脾臓 血管肉腫	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0

a: 治療期間中にヒトの dapodustat 代謝産物を皮下に投与 (3 回) しているグループ

に、メスの乳癌は治療群で多く認められている。SD ラット研究では、roxadustat 10 mg/kg を最大投与量として使用されている。生存率に差はなく、roxadustat の安全性を報告している。一方、腫瘍による予定外死亡数の記載では、メスの乳癌死亡が 5 mg/kg 以上の投与群で増加していた。全体評価でも、メスの乳癌だけで評価すれば増加傾向があるが、最大投与群で増加しておらず、用量

依存性がないことから roxadustat によるものと結論づけることは難しいが、注意が必要であろう。このように、メスにおける乳癌が気になるところであるが、Seeley らは、乳癌自然発症 (MMTV-Neu<sup>ndi</sup>-YD5) マウスを用いた 7 週間治療の効果を検討して、その関連性を評価した<sup>10)</sup>。Roxadustat は、腫瘍の発症速度・腫瘍の増大速度に影響を与えずにエリスロポエチン濃度を用量依



存性に増加させたが、VEGF 濃度は変化がなかった。FG-4497 という別の HIF-PHI でも同様のデータが記載されており、乳癌自然発症マウスでは HIF-PHI の癌リスク増加効果は認められていない。

Adams らは、daprodustat の発癌性に主眼を置いて、2 年間の長期治療を SD ラットを中心に CD-1 マウスを含めて検討をした<sup>11)</sup>。Daprodustat の使用量は、オスでは 0.02~4 mg/kg、メスは 0.02~7 mg/kg であったが、この研究ではコントロール群の死亡率も高かったため、104 週の観察予定であったが、94~100 週で終了となっている。オスの最高用量 (4 mg/kg) 群で有意に生存率が低下していたが、これらの高齢ラットに認められた進行性の心筋症や心房血栓が daprodustat による死亡率増加の一因となっている可能性が考察されている。治療に伴う新生物の発生はなかったと記載されているが、腫瘍による死亡症例に限るとメスの乳腺腫瘍が増加傾向であり、高用量でオスの肺腫瘍が増加傾向であった (表)。しかし、試験に用いたすべての個体で評価すると、乳癌に関しても影響は明らかではなかった。筆者らは、高濃度治療群の使用量はヒトに用いる臨床用量の 143 倍以上であり、daprodustat およびその代謝産物は実臨床用量では発癌リスクはないであろうと考察している。

HIF-PHI が腫瘍を抑制する可能性も報告されている。Nishide らは、腫瘍におけるマクロファージの働きと HIF-PHI の役割について検討している<sup>12)</sup>。Lewis 肺癌株化細胞を用いたマウス研究で、roxadustat が用量依存性に腫瘍増大抑制効果を示すことを証明した。しかし、*in vitro* の研究により roxadustat が癌細胞のアポトーシスや細胞増殖、サイトカイン産生に影響を与えていないことが示された。よって、roxadustat そのものが腫瘍に直接作用して腫瘍抑制効果を示したものではないと考えられた。そこで、腫瘍血管への作用を検討している<sup>13)</sup>。腫瘍血管は、正常血管と異なり管腔径の減少、不規則な血管発芽、タイトジャンクションの形成不全などがあり、血流が遅くなるとともに漏出しやすい特徴を有している。このよう

な環境では低酸素や間質圧上昇などが生じており、免疫細胞の機能が低下していることが指摘されている。Nishide らは、HIF-PHI による治療で、マウスの腫瘍血管を正常化 (血管内腔面積、構造、機能) することにより腫瘍への血流や酸素分布を改善させることを示した。通常、腫瘍への酸素供給が改善すると病態を悪化させることが考えられるが、彼らは逆に、腫瘍局所におけるマクロファージの機能が改善し、食食作用が高まり腫瘍増殖を抑制することを示している。これは、HIF-PHI が HIF の作用を増強することによる悪性腫瘍リスクとは真逆の抗腫瘍作用を有する可能性を示すものであり、HIF-PHI の悪性新生物に対する影響を評価するうえで興味深い報告である。なお、HIF-PHI にはいくつかの種類があるが、近年、HIF2 $\alpha$  への作用が異なることが報告された。HIF2 $\alpha$  と癌についての研究も進められており、さらなる検討が期待されている。

### III HIF-PHI 治療における悪性腫瘍に関する情報

HIF-PHI は維持透析患者の貧血治療薬として、2019 年からわが国においても実臨床で使用できるようになった。HIF-PHI と発癌に関しては、動物モデルでは明らかな関連性はなさそうであった。しかし、維持透析あるいは保存期の CKD 患者に使用されるので、その使用期間は年余に及ぶことになる。このため、数年規模での治療経験によりリスク評価することが必要であるが、HIF-PHI は開発されてそれほどの期間はたっていない。よって、最終的な判断はまだ待たなければならないが、現在までに報告されている臨床試験の結果から、現時点での癌発症リスクについてまとめる。

Roxadustat はもっとも臨床経験が蓄積されている薬剤である。2016 年に報告された安全性と効果に関する第 II 相研究では、維持透析患者への 19 週間治療により roxadustat 群 (108 名) で甲状腺腫瘍 (neoplasm) が 1 例のみ副作用として記載されている<sup>14)</sup>。また、保存期 CKD に対する 24 週治療の効果を検討した研究では、145 名の参加者の

うち1名に大腸癌がみつかったが、その症例は治験参加時に便潜血が陽性であり、治療7週目の大腸ファイバーでアップルコア型の大腸癌がみつかった<sup>15)</sup>。よって、治験薬が発癌に関与したとは考えにくいと考えられた。最近の大規模研究(26週程度の期間)では癌に関する記載がなく<sup>16,17)</sup>、Akizawaらによる日本の透析患者に対する第Ⅲ相(24週間)試験では、roxadustat群で1名、darbepoetin群で4名の悪性腫瘍発生を報告している<sup>18)</sup>。

Daprodustatは比較的多くの研究がなされている。2019年、保存期CKD 252人を対象とした24週間治療の報告がされたが、副作用としての癌記載はなかった<sup>19)</sup>。同様に、216人の維持透析患者を対象とした24週治療も報告されているが、癌に関する記載はやはりない<sup>20)</sup>。2020年、日本から少数の透析患者での24週治療効果が報告されたが、癌の発症は特に認めていない<sup>21)</sup>。

Vadadustatは、2016年にCKD患者を対象とした20週治療の第Ⅱ(b)相研究が報告されているが、癌に関する記載はなかった<sup>22)</sup>。2019年の透析患者を対象とした16週の第Ⅱ相研究でも、癌関連記載はない<sup>23)</sup>。2019年の米国腎臓学会で第Ⅲ相試験の結果が日本から報告されているが、まだ論文化されておらず詳細は不明である。Enarodustatに関する臨床データはまだ少ないが、透析患者の24週間治療(197名)で、ESA未使用群で大腸癌1例、ESAからの切替群で骨癌が1例認められたと報告<sup>24)</sup>されている。Molidustatの治験も進んでいるが、16週間の第Ⅱ(b)相試験で最大36カ月間フォローした報告があり、腸管型腺癌がmolidustat群で1名(118名中)、darbepoetin群では0名(42名中)との記載がある。

現時点で5つのHIF-PHIに関する臨床試験のデータが報告されているが、HIF-PHIによる発癌リスクは高まらないようである。しかし、癌の発生には長期間の曝露が関与する可能性が高いため、長期間の治療効果を確認する必要がある。ヒトを対象としたHIF-PHI治療に関しては1年を超える研究はほとんどなく、よって、今後長期にわたる前向きの観察研究が必須である。われわれ

臨床医は、最良の医療を提供するために、新薬の使用については十分に注意を払い、そして安全性を含めたエビデンスを創出することが必要である。

## ■ おわりに

HIF-PHIと悪性腫瘍について、その推測されているメカニズムから臨床でのデータまで、現時点で報告されていることをまとめた。HIFが癌遺伝子の発現を増強させるため、HIF-PHI治療によりHIFの効果を高めると、悪性腫瘍発症リスクを高めることが考えられる。しかし、逆にある種の悪性腫瘍に対しては抑制的に働く可能性が示され、また実臨床では癌が増えるとする報告は、今のところない。HIF-PHI治療における癌リスクあるいは抗腫瘍効果を明らかにするために基礎検討が必要であるが、実臨床における市販後調査など積極的に行い、安全で患者に有用である薬剤であることを継続的に評価していく必要がある。

## 文 献

- 1) Liao D, Johnson RS : Hypoxia : a key regulator of angiogenesis in cancer. *Cancer Metastasis Rev* **26** : 281-290, 2007
- 2) Manalo DJ, Rowan A, Lavoie T, et al : Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1. *Blood* **105** : 659-669, 2005
- 3) Semenza GL : Hypoxia-inducible factors : mediators of cancer progression and targets for cancer therapy. *Trends Pharmacol Sci* **33** : 207-214, 2012
- 4) Wu MZ, Tsai YP, Yang MH, et al : Interplay between HDAC3 and WDR5 is essential for hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition. *Mol Cell* **43** : 811-822, 2011
- 5) Krishnamachary B, Semenza GL : Analysis of hypoxia-inducible factor 1alpha expression and its effects on invasion and metastasis. *Methods Enzymol* **435** : 347-354, 2007
- 6) Moeller BJ, Richardson RA, Dewhirst MW : Hypoxia and radiotherapy : opportunities for improved outcomes in cancer treatment. *Cancer Metastasis Rev* **26** : 241-248, 2007
- 7) Rohwer N, Cramer T : Hypoxia-mediated drug resistance : novel insights on the functional interaction of HIFs and cell death pathways. *Drug Resist Updat* **14** : 191-201, 2011
- 8) Frost J, Ciulli A, Rocha S : RNA-seq analysis of PHD



- and VHL inhibitors reveals differences and similarities to the hypoxia response. *Wellcome Open Res* **4** : 17, 2019
- 9) Beck J, Henschel C, Chou J, et al : Evaluation of the Carcinogenic Potential of Roxadustat (FG-4592), a Small Molecule Inhibitor of Hypoxia-Inducible Factor Prolyl Hydroxylase in CD-1 Mice and Sprague Dawley Rats. *Int J Toxicol* **36** : 427-439, 2017
  - 10) Seeley TW, Sternlicht MD, Klaus SJ, et al : Induction of erythropoiesis by hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors without promotion of tumor initiation, progression, or metastasis in a VEGF-sensitive model of spontaneous breast cancer. *Hypoxia (Auckl)* **5** : 1-9, 2017
  - 11) Adams DF, Watkins MS, Durette L, et al : Carcinogenicity Assessment of Daprodustat (GSK1278863), a Hypoxia-Inducible Factor (HIF)-Prolyl Hydroxylase Inhibitor. *Toxicol Pathol* **48** : 362-378, 2020
  - 12) Nishide S, Matsunaga S, Shiota M, et al : Controlling the Phenotype of Tumor-Infiltrating Macrophages via the PHD-HIF Axis Inhibits Tumor Growth in a Mouse Model. *iScience* **19** : 940-954, 2019
  - 13) Nishide S, Uchida J, Matsunaga S, et al : Prolyl-hydroxylase inhibitors reconstitute tumor blood vessels in mice. *J Pharmacol Sci* **143** : 122-126, 2020
  - 14) Provenzano R, Besarab A, Wright S, et al : Roxadustat (FG-4592) Versus Epoetin Alfa for Anemia in Patients Receiving Maintenance Hemodialysis : A Phase 2, Randomized, 6-to 19-Week, Open-Label, Active-Comparator, Dose-Ranging, Safety and Exploratory Efficacy Study. *Am J Kidney Dis* **67** : 912-924, 2016
  - 15) Provenzano R, Besarab A, Sun CH, et al : Oral Hypoxia-Inducible Factor Prolyl Hydroxylase Inhibitor Roxadustat (FG-4592) for the Treatment of Anemia in Patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* **11** : 982-991, 2016
  - 16) Chen N, Hao C, Liu BC, et al : Roxadustat Treatment for Anemia in Patients Undergoing Long-Term Dialysis. *N Engl J Med* **381** : 1011-1022, 2019
  - 17) Chen N, Hao C, Peng X, et al : Roxadustat for Anemia in Patients with Kidney Disease Not Receiving Dialysis. *N Engl J Med* **381** : 1001-1010, 2019
  - 18) Akizawa T, Iwasaki M, Yamaguchi Y, et al : Phase 3, Randomized, Double-Blind, Active-Comparator (Darbepoetin Alfa) Study of Oral Roxadustat in CKD Patients with Anemia on Hemodialysis in Japan. *J Am Soc Nephrol* **31** : 1628-1639, 2020
  - 19) Holdstock L, Cizman B, Meadowcroft AM, et al : Daprodustat for anemia : a 24-week, open-label, randomized controlled trial in participants with chronic kidney disease. *Clin Kidney J* **12** : 129-138, 2019
  - 20) Meadowcroft AM, Cizman B, Holdstock L, et al : Daprodustat for anemia : a 24-week, open-label, randomized controlled trial in participants on hemodialysis. *Clin Kidney J* **12** : 139-148, 2019
  - 21) Tsubakihara Y, Akizawa T, Nangaku M, et al : A 24-Week Anemia Correction Study of Daprodustat in Japanese Dialysis Patients. *Ther Apher Dial* **24** : 108-114, 2020
  - 22) Pergola PE, Spinowitz BS, Hartman CS, et al : Vadadustat, a novel oral HIF stabilizer, provides effective anemia treatment in nondialysis-dependent chronic kidney disease. *Kidney Int* **90** : 1115-1122, 2016
  - 23) Haase VH, Chertow GM, Block GA, et al : Effects of vadadustat on hemoglobin concentrations in patients receiving hemodialysis previously treated with erythropoiesis-stimulating agents. *Nephrol Dial Transplant* **34** : 90-99, 2019
  - 24) Akizawa T, Nangaku M, Yamaguchi T, et al : A Placebo-Controlled, Randomized Trial of Enarodustat in Patients with Chronic Kidney Disease Followed by Long-Term Trial. *Am J Nephrol* **49** : 165-174, 2019

\* \* \*