

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「がん幹細胞を標的とした根治療法の開発」
(酸化ストレス回避機構を標的としたがん幹細胞治療戦略の考案)
2. 研究開発代表者：学校法人慶應義塾 慶應義塾大学医学部 専任講師 永野 修
3. 研究開発の成果

本研究は、酸化ストレス回避機構を標的としたがん幹細胞治療戦略の考案において、実臨床で、がん治療を行う際に問題となっているがんの酸化ストレス回避機構を標的とした薬剤開発を目標とし、阻害剤スクリーニング系の構築、ハイスループットスクリーニングを行い、ヒット化合物の取得を目指すと共に、マウスモデルを使用した前臨床試験及び治療効果判定を行った。最終年度である平成 27 年度は、酸化ストレス回避機構を標的とした新規がん治療法の開発を到達点とし、臨床試験に移行可能なヒット化合物の取得によって、その達成度を判断する。

①酸化ストレス抵抗性及び感受性がん細胞を用いた化合物スクリーニング

まず、薬剤スクリーニング系を構築し、1500 種類の既存薬ライブラリーを用いてスクリーニングを行った。その結果、グルタチオン依存性がん細胞に対して非依存性がん細胞と比較して 5 倍以上選択的に増殖抑制効果を持つ既存薬が 102 種類得られた。さらに、これらの活性酸素誘導能を検討し、特に効果の高い 3 種を取得した (US-077、US-262、US-438)。次に、動物モデルを使用して治療実験を行ったところ、いずれの化合物も抗腫瘍効果を有することが分かったが、US-077 は、最も低濃度で高い抗腫瘍効果を有することが分かった。そこで次に、CD44 バリエーション (CD44v) 陽性細胞への選択性を検証するために、階層性を有する腫瘍を形成するマウスモデルを作成し、US-077 を用いた治療実験を行って CD44v 陽性細胞数の変化を調査した。その結果、US-077 は、CD44v 陽性腫瘍細胞を選択的に駆逐できることが明らかとなり、「がん幹細胞の増殖抑制および細胞内活性酸素蓄積誘導剤」として特許取得を行った。また、US-077 の構造類似体を用いて活性部位を同定するとともに、2400 種の新規化合物についてもスクリーニングを実施し、US-077 と同様の活性部位を有する新規化合物 5C2 を取得した。また、US-077 の標的および機序を探索するために、細胞内代謝を調査したところ、US-077 はミトコンドリア呼吸系の阻害活性を有することが分かった。次に、CD44v 陽性がん細胞のミトコンドリア活性化に関わるグルタミントランスポーターASCT2 の発現について調査したところ、明らかな ASCT2 陽性細胞の減少が認められたことから、US-077 はグルタミン代謝が亢進し、ミトコンドリアの活性化が生じているがん幹細胞に対し選択的に細胞障害作用を発揮することが明らかとなり、医師主導型臨床試験へと移行することが可能になった。

②CD44 バリエーション高発現がん細胞を用いた化合物スクリーニング

CD44v 高発現細胞におけるスプライス制御因子 ESRP1 の発現を抑制する薬剤の探索のために、上記スクリーニング①で既に得られた 102 種の化合物を CD44v 高発現がん細胞に添加し、ウェスタンブロット法にて ESRP1 タンパク質の発現変化を確認した。その結果、ESRP1 タンパク質の発現低下を誘導する化合物 9 種を取得した。次にバリエーション特異的 PCR 法を用いて詳細な検討を行ったところ、DL-054 が ESRP1 の発現低下を引き起こす効果が高いことが分かった。次に、マウスモデルを用いて薬剤の生体レベルにおける効果を検討した。その結果、DL-054 単剤投与による抗腫瘍効果は低かったものの、腫瘍細胞における CD44v および ESRP1 の著明な発現低下が認められることが分かった。このことから、DL-054 は生体レベルにおいてもスプライス制御因子 ESRP1 の発現低下を誘導し、CD44v 発現の低下を引き起こす効果を持つことが明らかとなった。また、DL-054 を用いた治療では CD44v および ESRP1 の発現がバイオマーカーとして有用であることが明らかとなり、今後、臨床試験へ移行可能になった。