

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「がん微小環境を標的とした革新的治療法の実現」
(結晶構造解析を基盤とするリード化合物の活性向上・最適化による低分子 HGF-Met 阻害剤の創製研究)
2. 研究開発代表者： 松本 邦夫 (国立大学法人金沢大学・がん進展制御研究所)
3. 研究開発の成果

HGF(肝細胞増殖因子)は MET 受容体を介して生物活性を発揮する。とりわけ、HGF は細胞外マトリックス融解と細胞の遊走促進、強い生存促進活性を示すことから、がん組織においては、がん微小環境を介したがんの浸潤・転移や分子標的薬に対する薬剤耐性に深く関与する。HGF-MET 相互作用を阻害する分子は、浸潤・転移や分子標的薬に対する薬剤耐性を阻害する分子標的薬候補になることが考えられる。本研究開発においては、HGF-MET タンパク質間相互作用を阻害する低分子化合物やペプチドを探索・創製することを目的とした。

本研究開発のアプローチの 1 つとして、HGF-MET タンパク質間相互作用を阻害する低分子化合物の探索・活性向上を進めた。HGF と MET 受容体は 2 カ所のインターフェースを介して結合し、HGF 依存的 MET 活性化には両インターフェースを介した相互作用が必須である。また、HGF 分子内 β 鎖と MET 相互作用に関する結晶構造が取得されている。そこで、HGF-MET 相互作用に関与する分子内ポケット構造をターゲットとして、複数のインシリコ化合物探索技術によって、HGF-MET 阻害化合物のスクリーニングを行った。得られた初期ヒット化合物から、①ドッキング構造予測ならびに化合物との共結晶解析情報による分子設計と化合物合成、②アッセイ(HGF-MET 相互作用阻害、MET 活性化阻害)による合成化合物評価を繰り返し、化合物の最適化・活性向上を進め、IC₅₀ 値 2-3 μ M の HGF-MET 阻害化合物が得られた。これら化合物は HGF によって引き起こされるがん細胞の浸潤や薬剤耐性を阻害した。また、HGF-MET タンパク質間相互作用阻害の High-Throughput-Screening 系を構築し、約 180,000 化合物ライブラリーの HTS を実施した。1 次、2 次、3 次スクリーニングと絞り込みによって、IC₅₀ 値 10-30 μ M の HGF-MET 阻害化合物を取得した。

近年、ペプチドを医薬候補とする創薬開発が注目されている。私たちは、Random Peptide Integrated Discovery (RaPID) 法によって、MET 受容体に高い選択性と親和性で結合する特殊環状ペプチドを取得することに成功した (Nature Communications, 6: 6373, 2015)。そこで、HGF-MET 相互作用阻害のもう 1 つのアプローチとして、HGF を中和・阻害する特殊環状ペプチドを探索・創製した。HGF タンパク質を標的分子として、RaPID 法によって、HGF に高親和性結合する特殊環状ペプチドを取得した。HGF 結合ペプチドについて、HGF-MET タンパク質間相互作用ならびに HGF による MET 活性化に対する作用を調べた結果、HGF 結合ペプチドは HGF-MET 相互作用ならびに HGF によって引き起こされる MET 活性化を nM オーダーで阻害した。また、作用機作として、HGF 阻害ペプチドはアロステリックメカニズムによって HGF-MET 相互作用を阻害することが明らかになった。さらに、HGF 阻害ペプチドは HGF によって誘導されるヒトがん細胞の遊走、ならびに HGF によって誘導されるヒト肺がん細胞の EGF 受容体チロシンキナーゼ阻害剤に対する薬剤耐性を阻害したことから、分子標的薬候補としての特性をもつことがわかった。