

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「がん染色体・分裂期チェックポイントを標的とした治療法の確立」
(がん分子標的治療薬シーズとしてのタンキラーゼ阻害剤の探索開発)
2. 研究開発代表者： 清宮啓之 (公益財団法人がん研究会 がん化学療法センター分子生物治療研究部)
3. 研究開発の成果

ポリ ADP-リボシル化 (PAR 化) 酵素タンキラーゼは、テロメア結合タンパク質 TRF1 を PAR 化してテロメラーゼによるテロメア伸長を促進する一方、 β -カテニン経路の抑制因子アキシンを PAR 化してユビキチン分解に導き、 β -カテニンシグナルを増強する。タンキラーゼの阻害は、テロメラーゼ阻害剤によるテロメア短縮を加速して同阻害剤の制がん効果を増強する一方、 β -カテニンシグナルを遮断することで、がん抑制遺伝子 APC の機能喪失型変異陽性大腸がんの細胞増殖を抑制する。これらのことから、タンキラーゼ阻害剤は大腸がんをはじめ、さまざまながんの治療薬シーズとして期待されている。そもそも、国内罹患数が年 10 万人を超える大腸がんにおいては、抗 EGFR 抗体薬への耐性に寄与する KRAS/BRAF 機能獲得型変異が問題となっており、新薬開発が求められてきた。大腸がんの約 80%では APC の失活によって β -カテニン経路が活性化しているが、この経路にはドラッグビリティの高い標的分子が存在せず、攻略は困難とされてきた。タンキラーゼは酵素活性を有するドラッグブルな標的であり、その阻害剤は抗 EGFR 抗体薬不応性のがんにも適用できる可能性がある。

本研究開発では、タンキラーゼを阻害する小分子化合物を大規模探索し、ヒット化合物の評価と proof-of-concept (POC) スタディを推進するとともに、True-hit 化合物の最適化を行い、非臨床試験への移行に堪えるシーズ化合物を取得することを目的とする。適用がん種としては、単剤での有効性が期待される APC 変異陽性大腸がんを第一優先とする。具体的な達成目標は、True-hit 化合物を取得し、その薬効および POC を細胞および動物レベルで確立したうえで、導出可能なリード化合物を 1~2 点創製することである。まず、約 160,000 の化合物について酵母ハイスループット探索を行い、651 のヒット化合物を同定した。ELISA によりタンキラーゼ 1/2 およびファミリー酵素 PARP1 の酵素阻害活性を評価し、タンキラーゼ 1 に対して IC₅₀ 値が 20 μ M 以下の 44 化合物を選抜した。これらより、APC 変異陽性大腸がん細胞の増殖を抑制し、APC 変異陰性大腸がん細胞の増殖を抑制しないものを選別した。選抜化合物のうち、細胞内にアキシンを蓄積させ、 β -カテニンと協働する転写因子 TCF のレポーター活性を阻害するなどの薬力学的効果を示す、True-hit と判定できる化合物を取得した。次に、フォーカストライブラリー探索、*in silico* 解析、共結晶構造解析によって新規合成した誘導体の細胞系評価から、活性強化と物性が改善された複数の化合物を取得した。それらの化合物について、APC 変異陽性大腸がん細胞を移植した免疫不全マウスを用いた *in vivo* 薬効試験を実施した結果、アキシンの蓄積および TCF 標的遺伝子の発現低下とともに抗腫瘍効果を示す、「個体レベルで薬効を発揮するリード化合物」が見出された。さらに、リード化合物を起点に物性を改善したアドバンス型リード化合物まで創出しており、所期の目標以上の成果を得た。一方、APC 変異が陽性であってもタンキラーゼ阻害剤に耐性を示す細胞株が存在したため、分子細胞生物学的検討により、効果予測バイオマーカー候補分子の絞り込みを行った。

以上のように、本研究開発は順調に成果を上げており、副作用やがん特異性の非臨床研究を推進すべく共同研究企業も見出してきている。なお、タンキラーゼについてはヘルペスウイルスや多発性硬化症などの他疾患への関与も言及されており、同阻害剤はこれらの治療薬として利用できる可能性もある。