

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」
(MAPキナーゼシグナルとがん染色体を標的とした治療法の探索)
2. 研究開発代表者： 学校法人近畿大学 薬学部 杉浦麗子
3. 研究開発の成果

がん細胞の特徴は無制限な細胞増殖であり、がん細胞に特徴的な細胞周期関連因子の異常が深く関わる。本研究開発課題は、細胞増殖と細胞周期進行に重要な役割を果たす MAP キナーゼシグナルの動作原理を明らかにし、これを標的とした新規抗がん剤の開発を行うものである。特に、細胞増殖、細胞周期関連因子は、酵母からヒトに至るまでの真核生物に保存されていることを利用して、細胞周期に関連する遺伝学を援用して、リード化合物の取得を行う。以下の三つの研究項目を推進した。

① 新規 MAPK シグナル阻害化合物の探索

モデル生物を用いて MAPK シグナル阻害化合物を探索するスクリーニング手法を確立している。本スクリーニングシステムを用いて支援基盤が有する大規模化合物ライブラリーを対象とした MAPK シグナル阻害化合物の探索を行い、MAPK シグナル阻害活性を示す 10 個のヒット化合物を得た。これらの化合物の中でも有望な癌細胞増殖抑制効果を示すもの一種に関して類縁体を合成し、構造相関研究を行った。その結果、抗腫瘍活性に重要な官能基を同定し、抗腫瘍活性を示す新規類縁体の合成に成功した。また、化合物ライブラリーを用いて MAPK シグナル阻害化合物の探索を行い、Geldanamycin, Rapamycin など抗腫瘍活性を有するヒット化合物を得た。

② ヒット化合物を用いた抗腫瘍活性の検証と細胞内シグナル伝達経路の解析

上記、大規模化合物ライブラリーより得られたヒット化合物を用いて、各種がん細胞の増殖に対する化合物の影響を検証した。その結果、ヒット化合物は大腸がん細胞、膀胱がん細胞に対する感受性を示すこと明らかにした。さらに、これらの化合物を用いて ERK MAPK 経路を中心としたシグナル伝達経路の解析を行った結果、有望な癌細胞増殖抑制効果を示した化合物に関しては、ERK MAPK 経路に加えて、細胞の増殖や生存、がん化に関わるシグナル伝達経路の活性化を抑制することを明らかにした。さらに、これらのヒット化合物を用いて、がん化に関わる事が報告されている各種キナーゼ活性に対する *in vitro* の阻害効果を検証した。また、既得シーズ化合物である C1, C2 について *in vivo* でがん細胞転移を抑制する効果を見出した。

③ ヒット化合物の分子標的の同定

本研究項目では、②のステップにより得られた化合物が作用する細胞内シグナル伝達経路の情報とともに、蛍光等を標識したヒット化合物の創製などの手法を駆使してヒット化合物の分子標的の同定を目指す。化合物の標的をノックダウンした細胞及び生体を用いて、化合物の POC を検証する。

既得シーズ C2 について、分子標的の同定と POC の取得を目標として、以下の結果を得た。シーズ C2 が高等生物の ERK MAPK ならびに AKT のリン酸化レベルの亢進に対しても阻害することが明らかになったため、標的分子 Z のノックダウン実験を試みた。標的分子 Z には、相同性の高い分子種（アイソフォーム）が複数種類存在するため、これらの分子種それぞれについてノックダウン実験を行うとともに、複数の分子種を同時に阻害するノックダウン実験も行った。