

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」
(発がん防御に重要な相同組換え修復をコントロールする化合物の探索と創薬)
2. 研究開発代表者： 学校法人早稲田大学 理工学術院先進理工学研究科 教授 胡桃坂 仁志
3. 研究開発の成果

本研究は、発がん防御に重要である DNA 損傷修復をコントロールする化合物を得ることを目的とする。そのために、DNA 損傷修復で機能する因子の活性を制御する低分子化合物の探索を行った。まず、酵母におけるヒトの DNA 損傷修復因子の強制発現が細胞毒性を示すことを利用し、ヒト DNA 損傷修復因子の機能阻害を指標とした試験系を確立した。さらに、その確立した酵母スクリーニング系により、理化学研究所および東京大学所有の化合物ライブラリー(3万種類)から DNA 損傷修復因子の機能を特異的に阻害する候補化合物を得た。一方で、既知の DNA 損傷修復因子阻害化合物の構造情報を基に、LAILAPS 手法による *in silico* スクリーニングを行い、DNA 損傷修復因子の阻害候補化合物を得た。次に、酵母スクリーニング系および *in silico* スクリーニングにより得られた DNA 損傷修復因子の機能を阻害する化合物候補について、*in vitro* DNA 損傷修復反応試験系による二次スクリーニングを行い、DNA 損傷修復因子の活性を直接阻害する化合物を探索した。さらに、同定した DNA 損傷修復因子の活性を直接阻害する化合物について、DNA 損傷修復因子と化合物の直接相互作用を表面プラズモン法により評価した。その結果、化合物 A が DNA 損傷修復因子と直接相互作用することで、その DNA 損傷修復活性を阻害することを明らかにした。また、化合物 A が DNA 損傷修復因子の活性を阻害するメカニズムを解析したところ、化合物 A は DNA 損傷修復因子の DNA への結合を阻害することで、DNA 損傷修復活性を阻害することを明らかにした。さらに、化合物 A について、ヒトがん細胞に対する増殖抑制効果を評価した。その結果、化合物 A は、ターゲットとなる DNA 損傷修復因子が主として機能するがん細胞特異的に、その細胞増殖を阻害することを明らかにした。一方で、化合物 A の DNA 損傷修復因子の活性阻害に重要な活性中心の同定を試みた。具体的には、化合物 A の類縁体について、*in vitro* DNA 損傷修復反応試験系により、DNA 損傷修復因子の活性阻害効果を評価した。その結果、化合物 A の DNA 損傷修復因子の活性阻害に重要な部位を同定することに成功した。また、化合物 A と DNA 損傷修復因子との複合体の X 線結晶構造解析を試みた。現在までに、化合物 A と DNA 損傷修復因子との複合体の X 線結晶構造解析に必要となる、DNA 損傷修復因子単体での良質な単結晶を得ることに成功している。今後は、化合物 A と DNA 損傷修復因子との複合体の立体構造解析を、DNA 損傷修復因子の単結晶を用いたソーキング法により行う。そして、得られた複合体の立体構造をもとに合理的薬剤設計を行い、ターゲットとなる DNA 損傷修復因子への高い特異性および薬効を示す化合物の実現を目指す。