

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」
(G2/M 期チェックポイントを標的としたがん細胞特異的抗がん療法増強剤の開発)
2. 研究開発代表者： 公立大学法人名古屋市立大学 大学院医学研究科 中西 真

3. 研究開発の成果

①CBP-93872 およびその類同体の薬効評価

CBP-93872 およびその類同体の薬効評価を行う為に、様々な正常細胞株、およびがん細胞株を用いて、副作用評価およびいかなるがん腫に対して有効かを解析した。その結果、CBP-93872 とその類同体は Panc-1、あるいは KLM-1 などの p53 変異細胞特異的に、DNA 二重鎖切断誘導療法と合成致死性を示した。また p53 以外の変異との相関は有意なものは認めなかった。さらに CBP-93872 と併用する抗がん療法の種類について解析したところ、Cisplatin、Camptothecin、Gemcitabine、5FU、Oxaliplatin、IR とともに、CBP-93872 処理により細胞致死効果が増強した。この中で、Cisplatin および IR との併用が最も効果的であることが分かった。一方正常細胞に対しては、がん細胞に効果のある抗がん剤と CBP-93872 の併用濃度においては、致死効果は認めなかった。これらのことから、本治療は p53 正常な細胞には効果のない、副作用の少ないものであると証明された。

②CBP-93872 を同定した HTS による新たな化合物ライブラリーのスクリーニング

CBP-93872 よりさらに容易に構造展開可能な化合物同定のために、HTS 支援を受けて異なる化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを実施した。この実験は、HT29 細胞に GFP-ヒストン H2B を恒常的に発現した細胞を用いて、画像上で M 期の細胞を同定し、カンプトテシン存在下での G2 チェックポイント阻害活性を解析するものである。その結果、理化学研究所にある既知の低分子化合物ライブラリーを用いた場合、10 μM の濃度において CBP-93872 と比較して強い G2 チェックポイント阻害活性を示す有望な低分子化合物が、複数同定できた。また東京大学の別の低分子化合物ライブラリーを用いたスクリーニングにおいても、CBP-93872 と比較してさらに強力な G2 チェックポイント阻害化合物が複数同定できた。現在これらの化合物を入手し、細胞内標的分子や、薬効、p53 変異との合成致死性を含めて解析を開始した。

③遺伝子改変マウスの解析

CBP-93872 の薬効や、副作用を評価するためには、長期にわたり CBP-93872 を投与することも可能であるが、分子標的である Nbs1 分子の ATM によるリン酸化部位の変異体をノックインしたマウスを作製し、その表現型を解析することがより直接的な効果を判定できると思われる。従って、平成 27 年度において作成した NBS1 分子の ATM によるリン酸化部位のノックアウト/ノックインマウスを用いて、DNA 損傷型抗がん剤に対する感受性、あるいはチェックポイント解除薬と併用した場合の感受性増強効果について解析している。マウスはほぼ正常に誕生することが分かったが、現在様々なゲノムストレス環境下における影響を調べている。しかしながら、副作用、および薬効評価のための効果判定を行うには長期にわたる観察が必要であると考えられるため、今後 1 年以上にわたる解析を予定している。