

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」(分裂期チェックポイントアダプテーション阻害による抗がん剤耐性克服)
2. 研究開発代表者： 国立大学法人東北大学 加齢医学研究所分子腫瘍学研究分野 教授 田中耕三
3. 研究開発の成果

①CAMPの抑制によるチェックポイントアダプテーション阻害の細胞レベルでのPOCの取得

CAMPの発現を種々の培養がん細胞で抑制すると、微小管阻害剤によるアポトーシスのタイミングが早まることを確認した。その結果チェックポイントアダプテーションが高頻度にかかるA549細胞では、アダプテーションが抑えられることがわかった。このような効果は、正常な線維芽細胞では見られなかった。MTTアッセイによる細胞増殖能の評価を行ったところ、がん細胞株特異的にCAMPの発現抑制による細胞生存率の低下が見られた。以上の結果より、CAMPの抑制によるチェックポイントアダプテーション阻害の細胞レベルでのPOCが得られた。

②CAMPがアポトーシスのタイミングを制御する機構の分子基盤の探索

CAMPの機能の分子基盤を理解するため、CAMPと結合する分子を探索した。その結果、ヘテロクロマチン形成に重要な役割を果たすHP1および細胞周期制御に関連するRev7との結合が認められた。Rev7, HP1の発現抑制細胞でも分裂期で停止後早期に細胞死が起こり、またRev7, HP1と結合できないCAMP変異体では分裂期で停止したHeLa細胞の生存延長効果が見られないことから、CAMPとRev7, HP1の結合がCAMPの機能に重要であることがわかった。またCAMP発現抑制細胞では、アポトーシス関連分子であるMcl-1やBcl-xLの低下が認められ、これがアポトーシスの促進の原因であると考えられた。

③CAMP阻害剤のスクリーニング・細胞レベルでの薬効評価

CAMPと結合する低分子化合物をケミカルアレイによりスクリーニングし、このうちMTTアッセイによりがん細胞由来のA549, U937, HCT116細胞で特異的な増殖抑制効果を示し、正常細胞であるWI-38細胞では効果を示さない化合物が同定された。この中からさらに分裂期で停止したA549細胞の分裂期チェックポイントアダプテーションを抑える効果を示すTrue Hit化合物が得られた。この化合物は、CAMPとRev7の結合に対する阻害効果を示した。この化合物と類似した骨格を有する低分子化合物について同様の効果が認められるかどうかを検討した結果、より低濃度で同様の作用を示すより有効なTrue Hit化合物を同定した。

④CAMPの抑制による抗がん作用の動物レベルでのPOCの取得

CAMPの発現を抑制した培養がん細胞をヌードマウスに移植したところ、腫瘍縮小効果を認め、CAMPの抑制による抗がん作用の動物レベルでのPOCが得られた。またCAMP欠損の個体レベルでの影響を調べるためにノックアウトマウスを作成したが、CAMPを完全に欠損するマウスは出生直後に死亡することが判明した。そこでタモキシフェン投与によりCAMPを欠失するようなコンディショナルマウスを作成した。一方CAMPをコードする遺伝子(CHAMP1)の変異が、小児の重度知的障害で見られることが判明し、CAMPが神経系の発達に関与することが示唆された。細胞レベルでCAMPを阻害する低分子化合物を、培養がん細胞を移植したゼノグラフトモデルに投与し、動物レベルでの腫瘍縮小効果を検討するための条件検討を行った。しかし化合物を調整するための溶媒決定および投与経路の決定、投与による急性毒性のチェックに時間を要したため、腫瘍抑制効果に関する評価可能な結果の取得に至らなかった。