

## 統括研究報告書

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」  
(接触抑制シグナル研究を基盤とした抗腫瘍薬開発)
2. 研究開発代表者：鈴木 聡(国立大学法人九州大学 生体防御医学研究所ゲノム機能制御学部門)
3. 研究開発の成果

**① 低分子化合物スクリーニングの準備：**

Hippo 経路の転写活性化を標的とする低分子化合物のスクリーニングを行うため、レポーター遺伝子を細胞内導入し、Hippo 経路転写活性を超高感度に測定できるレポーター遺伝子恒常導入細胞株を作製し、YAP による転写活性検出系を樹立した。またYAP-TEAD 結合検出阻害アッセイ系もAlphascreen 法で樹立した。

一方、Alphascreen 法によるPICT1 とRPL11 の結合検出系樹立に関しては、PICT1 蛋白質は自己不安定性が強く、その単離が困難であった。中間評価で「Hippo 経路の解析を優先すべき」の指示に従い、研究を後回しにしたが、その後種々のPICT1 部分欠失変異体の作製検索を行い、結合性が保たれたPICT1 安定変異体の大量純化に成功した為、「次世代がん医療創生研究事業」での薬剤スクリーニングを予定している。

**② 低分子化合物・天然物スクリーニングの実施及びその作用標的の同定と効果確認：**

YAP による転写活性検出系とYAP-TEAD 結合検出系を革新的がん医療シーズ支援基盤の吉田先生(低分子化合物や既知の化合物担当)と、新家先生(天然物の担当)に送付して、35000種類以上の天然物及び低分子化合物をスクリーニングした。

天然物に関しては、YAP による転写活性検出系で60%以上抑制のあるものを合計4 個単離し、下流分子の転写抑制、YAP/TAZ の蛋白質量とリン酸化変化、YAP の核移行変化などをin vitro で検討するとともに、肝細胞特異的なMOB1 欠損マウスの表現型の回復や、担癌ヌードマウスの腫瘍抑制をin vivo でも検討して、4種類全て天然物リード化合物となることを確認し特許取得を行った。また低分子化合物では、YAP による転写活性検出系で60%以上抑制のある17 種のヒット化合物まで絞った。

このように、がん染色体・分裂期チェックポイントを標的とする、Hippo 経路のリード天然化合物を合計4 種類単離しており、既知のものは論文に発表し(PNAS 2016)、特許も既知物と新規物の2つを取得していることから、目標はほぼ達成できた。今後は「次世代がん医療創生研究事業」で、これらの低分子化合物のin vivo 効果を確認してリード化合物を単離する。さらに転写活性検出系、YAP-TEAD結合検出系ともに阻害のあった分子については、SPR 法によってYAP-TEAD 結合阻害を検討する。またこれら単離薬剤との結合する分子を質量分析器で解明し、薬剤作用標的の解明を行い、その後のPOC 取得、薬効評価、リード化合物の最適化、薬物動態や副作用検索などを経て、新規がん治療薬を産出し臨床医療に貢献する。

**③ 低分子化合物の副作用予知・適応がん疾患予知・治療効果判定モデル動物の作出：**

Hippo 経路上のMob1 完全欠損マウスは胎生早期に致死となるが、部分欠損マウスや組織特異的完全欠損マウスは皮膚外毛根鞘がん、骨肉腫、線維筋肉腫、肝がんをはじめとする種々の腫瘍形成を呈すことなどを見出している。このことから、Hippo 経路を標的とするリード化合物はこのような腫瘍スペクトラムに奏功する可能性が高く、これらのマウスは薬剤の効果判定マウスとして有用となる。

一方PICT1 欠損マウスでは、T 細胞の初期分化障害をみることから、今後この経路を標的とする単離予定薬剤は、免疫不全の副作用をもつ可能性が高いことが明らかになった。

**④ プロジェクトの総合的推進：**

「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」という本領域の目的を達成する為、プログラムリーダーの野田先生、チームリーダーの石川先生、革新的がん医療シーズ支援基盤の吉田先生・新家先生、知的財産支援の内海先生と密接に連携を取り、円滑な研究推進の為の意見交換を行った。