

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「がん関連遺伝子産物の転写後発現調節を標的とした治療法の開発」
(ナンセンス mRNA 分解経路を標的とした制がん戦略の開発)
2. 研究開発代表者： 大野茂男 (公立大学法人横浜市立大学大学院医学研究科細胞生物学)

3. 研究開発の成果

本研究ではナンセンス mRNA 分解経路 (nonsense mediated-mRNA decay, NMD) を標的とした全く新たな原理に基づくがん創薬を目指した。

NMD は、翻訳過程にある mRNA 上でリボソームが異常な終始コドン (premature termination codon, PTC) を認識した際に発動される細胞の防御機構の一つである。PTC を有するナンセンス mRNA にコードされるトランケート型の異常タンパク質は毒性を有する可能性があるが、この危険から細胞を守るのが NMD である。遺伝子異常の 1/3 は結果的に PTC を生じさせるので、NMD は遺伝子異常に起因する遺伝性疾患及びがんの症状に密接に関わっている。しかし、その具体的な様相は不明の点が多い。我々は、分子生物学的な解析からがん細胞の増殖が NMD の抑制に感受性が高い事を見いだしている。マウスモデルを用いて NMD の抑制によりがん特異的抗原の発現誘導に起因するがん免疫が誘導されることも報告されている (Pastor ら、Nature, 465, 227, 2010)。また、SMG1 のノックダウンにより、放射線感受性が上がるとの報告もある (Gubanava ら、Clin Cancer Res, 18, 1257, 2012)。

本研究では、精製系及び細胞系の二つの独立のアッセイ系をまず確立し、それを HTP スクリーニング系として利用した。具体的には、NMD の律速キナーゼである SMG1 複合体の精製系を利用した HTP スクリーニング系、及び NMD 抑制をモニターするレポーター細胞である。そして、他の無細胞及び細胞レベルのアッセイ系を利用して、最終的にリード化合物を取得する事に成功した。

この化合物は、精製 SMG1 に対して、 μM 以下の濃度で ATP に拮抗的に阻害する。その阻害特異性は、類縁の PIKK ファミリーキナーゼには作用しないのみならず、他の 97 種のキナーゼに対して行ったプロファイリング試験において、 μM 以下の濃度で結合したものは皆無であり、高い特異性を示した。また、細胞レベルでも μM 程度の ED50 で NMD を抑制する事を、レポーター系、内在性の NMD 標的遺伝子である SNHG1、GAS5、SMG5 の mRNA の誘導により確認した。同様の濃度で、本化合物は、細胞レベルでも標的基質タンパク質である Upf1 の所定の位置のセリン残基のリン酸化を抑制した。また、前立腺がん細胞株 PC3 及び子宮頸がん細胞株 HeLa 細胞の増殖を抑制したが、正常ヒト線維芽細胞の増殖には影響を与えなかった。前立腺がん細胞株 PC3 のマウス Xenograft の造腫瘍性を抑制することも確認した。

一連の結果は、得られた化合物が NMD の律速キナーゼ SMG1 のキナーゼ活性を直接抑制して、細胞内 NMD を抑制し、それが細胞レベルでの増殖抑制とマウスレベルでのがん Xenograft の造腫瘍性を抑制する事を強く示唆している。つまり、NMD を標的とする抗がん剤のリード化合物としての条件を満たしている。