

## 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」（FRET バイオセンサーを用いた培養細胞からマウスまでのシームレスな新規抗がん剤開発）
2. 研究開発代表者： 松田 道行（国立大学法人京都大学大学院生命科学研究科）
3. 研究開発の成果：

がん遺伝子情報伝達系のシステムの解析を行うためにがん関連遺伝子産物の活性を測定する高感度 FRET バイオセンサー群およびそれらを安定発現する細胞株を作成した。これらの細胞株を用いて Ras 活性化因子 Sos の活性を阻害する薬剤のスクリーニングを行った。京大および東大のライブラリー約 3 万をスクリーニングし、二つのヒット化合物を得て、そのうちのひとつ CX001 を Ras 活性化因子 Sos の特異的阻害剤のリード化合物として解析開始した。CX001 は試験管内およびヌードマウス異種移植モデルにおいて腫瘍の増殖抑制効果を発揮した。さらに CX001 に構造類似の化合物を入手し、そのうち試験管内での細胞増殖抑制効果をもっとも強かった CX103 を再合成し、より多くのがん細胞について検討を加えた。その結果、EGFR-Ras-Raf 系に変異のあるがん細胞により効果が高いことが分かった。

ERK および mTORC1 の活性を測定する FRET バイオセンサーを発現するがん細胞を用いて、ヒット化合物の細胞増殖とシグナルに及ぼす効果とを定量的に比較観察した。RAF に変異のある細胞では ERK 活性と細胞増殖活性とがほぼニアに相関することを見出した。一方、RAS 変異がん細胞では ERK 阻害だけでは不十分で mTORC1 活性を阻害することが必要であることがわかった。

また、より高速かつ簡便なスクリーニングを行うために、発光に基づくスクリーニング系を開発した。この系は、常に Z' 値が 0.5 以上であり、マイクロプレートリーダーで測定できる。これにより、当初の蛍光顕微鏡に基づくスクリーニング系よりはるかに高速にスクリーニングが可能となった。この系をもちいて、Ras 活性化因子 Sos の活性を阻害する薬剤のスクリーニングを行い、5 種類のヒット化合物を得た。これらの化合物は、Sos 以外の Ras 活性化因子である RasGRF、Ca1DAG-II、Ca1DAG-III のいずれに対しても効果があった。また、これらの化合物は上皮細胞増殖因子依存性の MAP キナーゼ活性化も抑制することができた。