

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「がんエピゲノム異常を標的とした治療・診断法の開発」（RNA エピゲノム異常の制御に基づくがん分子標的治療創薬）
2. 研究開発代表者： 辻川和丈（国立大学法人大阪大学 大学院薬学研究科）
3. 研究開発の成果

がんの発症、悪性化には遺伝子の変異とともにエピジェネティクスの異常も関わるという知見が集積してきた。エピジェネティクスとはDNA塩基のメチル化やヒストン蛋白質の修飾であり、それらの制御異常はがん細胞の発生、浸潤能や転移能の獲得に繋がる。よってこのようなエピゲノム変異を制御することによりがんの治療薬の創製が期待できる。一方、これら化学修飾はDNAやヒストン蛋白質に限って存在する訳ではなく、RNAにも認められることは以前から知られていた。しかしRNA塩基のメチル化の重要性はmRNAとリボソームとの結合に関わるguanineの7位のメチル化によるキャップ構造以外ほとんど解明されていなかった。またそのようなメチル化塩基を脱メチル化する酵素の同定も遅れていた。さらにRNAメチル化制御異常とがんとの関係については不明なまま解析が残されていた。

われわれは、前立腺がん術後検体を用いた differential display 解析により、前立腺がんの非がん部と比べがん部で特徴的高発現し、大腸菌タンパク質AlkBの2-oxoglutarate, Fe(II)-oxygenase domainとアミノ酸レベルで23%という高い類似性あるドメインを有する遺伝子AlkB homolog 3 (ABH3)を発見した。またABH3は難治性がんである膵がんや非小細胞肺癌、膀胱がんにおいても高発現していることを報告した。またがん組織におけるABH3の高発現と術後の予後不良性が有意に相関するという知見は、ABH3がこれらのがん腫に対する有望な治療標的分子となる可能性を示した。また実験レベルにおいて、siRNAを用いたABH3ノックダウンは、がん細胞株にアポトーシスによる細胞死を誘導し、またin vivo xenograftモデルでは顕著な抗腫瘍作用を発現させた。さらに、ABH3はRNA塩基の3-meC、1-meA、N6-meAを効率的に脱メチル化し、ABH3により脱メチル化されたtRNAはin vitroにおいて蛋白質の翻訳効率を有意に上昇させることも明らかとした。またABH3ノックダウンにより膵がん細胞においてRNAの1-meAレベルが上昇し、さらに新生タンパク質の翻訳効率が顕著に抑制されることも明らかとした。これらの結果より、ABH3はRNAエピジェネティクスを制御する分子であり、その異常発現ががんの発生や悪性化と関わることから、膵がん、肺がん等の難治性癌の有望な分子標的になると考え、ABH3酵素活性阻害化合物の探索と評価により、first-in-classのがん治療薬創製を目指した。

本研究の成果として、ABH3のRNA脱メチル化酵素活性のハイスループットスクリーニング系を構築し、低分子化合物ライブラリー等を用いて、ABH3の酵素活性阻害作用を有する化合物の探索を進めた。その結果、ABH3の脱メチル化酵素活性阻害作用を有するいくつかのヒット化合物を得た。それら化合物の膵がん細胞、肺がん細胞等に対する増殖阻害活性や、化合物の物性、代謝や毒性等の評価を実施し、誘導体展開する化合物候補を得て、誘導体展開も実施した。その化合物の中でin vivo抗腫瘍作用を示す化合物の同定にも至ることができた。一方、in vivo抗腫瘍作用評価では一般的な培養がん細胞株を用いた検討を行ったが、より臨床に近い評価モデル系の開発が今後の展開において重要となる。そこで、肺がんや膀胱がんの臨床検体を使用して patient-derived xenograft (PDX)モデルの開発を進め、病理学的な解析も実施して応用可能性の根拠を構築した。さらに、ABH3酵素活性阻害により抗腫瘍作用が発現していることを効率的に検出するシステム構築も進め、四重極質量分析計を用いたRNA修飾塩基検出系の構築も完成した。

よって、本事業により確実な進捗が得られ、またABH3を分子標的とし、RNA脱メチル化酵素活性阻害作用という新たなメカニズムに基づくがん治療薬の創製が大きく前進した。