

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」
(オートファジー細胞死を介して作用する新規抗がん剤の臨床応用に向けて)
2. 研究開発代表者： 清水重臣 (国立大学法人東京医科歯科大学 難治疾患研究所)
3. 研究開発の成果

現在臨床で用いられている多くの抗がん剤は、がん細胞にアポトーシスを誘導する事でその効果を発揮している。ところが、約半数のがんでは p53 に点突然変異が入っており、これらのがんでは、アポトーシスに対する感受性が低下している。そこで、p53 に遺伝子変異が入っているがん等に対しては、オートファジー細胞死を積極的に誘導させる抗がん剤が有効であると考え、このようなコンセプトに基づく抗がん剤の開発研究を行った。

既に、p53 欠損マウスがん細胞を移植した坦がんマウスモデルを用いて、がん細胞特異的にオートファジー細胞死を誘導できる化合物 X を同定しており、本研究では化合物 X をヒトがん細胞用に改良することを目的とした。まず、化合物 X と複数の側鎖置換体を、ヒトがん細胞パネルに投与し、濃度をふって殺細胞効果を検討した。その結果、化合物 X の他に、複数の類縁化合物が、ヒトがん細胞に対する殺細胞効果を有していることが明らかとなった。ここで得られた構造活性相関情報を基に、さらに類縁化合物を合成した。このうち 2 種類の新規化合物 Y と Z は、ヒトがん細胞に対するオートファジー誘導活性、細胞死誘導活性が高く、*ex vivo* がんモデルにおいても、化合物 X を凌ぐ抗がん活性を示した。また、薬物動態試験においても良好な結果を示した。即ち、化合物 X より活性の高い新規抗がん化合物の開発に成功した。

また、化合物 X が有効に作用するヒトがん細胞の種類を検討した。ヒトがん細胞パネルの結果から、膵臓がん、卵巣がん、皮膚がん、急性リンパ球性白血病などの血液がん、胆管がん、前立腺がんなどが良い標的と考えられた。一方で、肺がん、神経由来のがんに対しては、効果は限定的であった。実際に、これらの細胞レベルの結果が生体における抗がん効果を反映しうるか否かを、*ex vivo* ヒトがんモデルにおいて検証したところ、細胞レベルで殺細胞効果を示したがんに対しては、生体においても抗がん効果を示すことが確認できた。また、化合物 X が有効に作用するヒトがん細胞の *ex vivo* モデルにおいて、新規化合物 Y と既存の抗がん剤であるエトポシドとの抗がん活性を比較したところ、新規化合物 Y 抗がん活性が高かった。

さらに、化合物 X が有効に作用するヒトがん細胞の特性を、化合物 X の結合分子である AutoPhagic cell Death factor-1 (APD-1) の翻訳後修飾の面から検討した。その結果、感受性の低いがん細胞では例外なく切断型 APD-1 が出現していた。即ち、化合物 X のコンパニオン診断を行う上で、切断型 APD-1 の発現の有無が決め手であることを見出した。そこで、APD-1 分子を免疫染色で認識できるモノクローナル抗体の作製を行った。ハイブリドーマの上清を用いて免疫染色を行ったところ、ヒトの APD-1 分子の発現やその局在を認識することが確認でき、抗体作製に成功した。