

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「転写機能をターゲットとした創薬」（転写活性化シグナルを標的とした革新的抗がん化合物シーズの開発研究）
2. 研究開発代表者：掛谷秀昭（国立大学法人京都大学大学院薬学研究科・教授）
3. 研究開発の成果：がん幹細胞様形質の誘導・維持、腫瘍組織の線維化、悪性固形腫瘍の浸潤・転移、再発などにおいて鍵となる TGF- β （Transforming growth factor- β ）シグナルおよび低酸素応答シグナルを標的転写活性化シグナルと捉え、これら転写活性化シグナルを制御する革新的な分子標的抗がん剤シーズ化合物の開発に向けた基盤研究を展開した。すなわち、a) 化合物研究シーズである新規 TGF- β シグナル伝達阻害剤 KUSC-Y244 類および低酸素シグナル伝達阻害剤ベルコペプチン類を中心に分子標的抗がん剤シーズ化合物開発に関する基盤研究、b) 治療標的研究シーズである新規低酸素誘導因子 HIFs (hypoxia-inducible factors) 活性化因子であるイソクエン酸脱水素酵素 IDH3 (isocitrate dehydrogenase) c) および脱ユビキチン化酵素 UCHL1 (ubiquitin C-terminal hydrolase L1) に対する阻害剤開発に関する基盤研究、ならびに IDH3-HIF-1 経路および UCHL1-HIF-1 経路のがん治療標的としての有用性検証(POC (proof-of-concept)) に関する基盤研究を行い、期待通りの成果が得られた。

(1) TGF- β シグナル伝達阻害剤開発研究

TGF- β シグナルは組織修復には必須であるが、肝臓や肺における過剰なシグナルは線維症を誘発し、肝臓がんや肺がんの形成・維持の原因となる。また、TGF- β は、がん細胞や周辺上皮細胞に対して、上皮間葉転換とよばれる上皮細胞の間葉系細胞形質への転換を誘導することで、運動性・浸潤性の促進、ストレス・薬剤抵抗性の獲得、免疫抑制の誘導、がん幹細胞様形質の誘導などの作用を介してがんの悪性を促進している。そこで、我々が TGF- β シグナル伝達阻害剤として見出した KUSC-Y244 類を研究シーズ化合物として、さらなる構造活性相関研究、作用機序解析に適した分子プローブの設計・創製、*in vivo* 実験に供するための大量合成経路の検討・確立、*in vitro* および *in vivo* 薬物動態解析に適した分析条件の検討・確立、*in vitro* および *in vivo* 薬物動態試験、*in vivo* 薬効試験等を行い、本化合物シーズの育成に向けた多くの有用な知見を得た。

(2) 低酸素応答シグナル伝達阻害剤開発研究

悪性固形腫瘍の内部の酸素環境は極めて多様であるが、低酸素領域のがん細胞は特殊な酸素ホメオスタシス制御機構によって悪性形質を維持している。この低酸素環境における細胞の適応応答で中心的な役割を担うのが転写因子 HIFs である。HIFs の活性は、主にその α サブユニット(HIF- α)の低酸素依存的な安定化に依存しており、低酸素応答シグナルの活性化によって血管新生の誘導、エネルギー代謝系の変換、転移・浸潤などを制御している。臨床症例の知見などから、HIF- α の中でも、特に、HIF-1 を中心とするがん細胞の低酸素応答機構は有望な治療標的と認識されている。

そこで、低酸素応答シグナル伝達阻害剤として見出したベルコペプチン（放線菌由来）を化合物研究シーズとして、化学的解析研究および薬理活性評価を進めた。すなわち、核磁気共鳴スペクトル等の各種スペクトル解析、化学分解実験、フラグメントの不斉合成等によって絶対立体化学の決定に成功し、今後の構造活性相関研究やファーマコホア解析研究に有用な知見を与えた。さらに、各種生化学実験の結果、ベルコペプチンは mTOR-HIF-1 経路を標的として薬効を示すことを明らかにした。一方、治療標的シーズである IDH3-HIF-1 経路および UCHL1-HIF-1 経路の阻害剤スクリーニング系の構築、ならびに非臨床 POC に関する研究を各種生化学実験・動物実験等により進めた。その結果、IDH3 α の過剰発現によって HIF-1 が活性化し、がん細胞のグルコース代謝系リプログラミングと血管新生の誘導を介して腫瘍増殖が亢進すること、UCHL1 の過剰発現が HIF-1 依存的にがんの遠隔転移を亢進すること、などの非臨床 POC を取得した。また、各経路の阻害剤スクリーニングに適した細胞株の樹立、精製組み換えタンパク質の調製等を行い、スクリーニング系の検討・確立後、ハイスループットスクリーニングを行った結果、複数のヒット候補化合物を取得した。さらに、新たに新規 HIF-1 活性化因子として見出した因子 X および Y に関して、各種生化学実験・動物実験等により部分的に非臨床 POC を取得した。