

医療分野研究成果展開事業/産学連携医療イノベーション創出プログラム (ACT-M)

平成 27 年度成果報告書 (公開)

課題リーダー (所属機関・氏名)	株式会社 PRISM BioLab 小路 弘行
参加機関	株式会社 PRISM BioLab 愛知県がんセンター研究所 感染腫瘍学部 国立大学法人大阪大学 大学院薬学研究科 国立大学法人東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所 国立大学法人滋賀医科大学 医学部 病理学講座
研究開発課題	癌抑制因子 4E-BP1 の機能をミミックする低分子薬剤の前臨床開発試験

1. 研究開発の目的

膵臓癌等の難治性癌や再発癌に対する新たな分子標的治療薬が望まれている。研究開発者らは mTOR 経路の活性化に伴う 4E-BP1 の機能阻害が癌細胞の増殖に重要であることを明らかにした。4E-BP1 の癌抑制機能を模倣する低分子化合物の創出に挑戦し、4E-BP1 の機能に重要なアミノ酸配列をミミックする MO 化合物に膵臓癌等の癌細胞に増殖抑制活性を示すことを見出した。そこで、以下を目標に前臨床開発試験等を実施する。

1. MO30003 を非 GLP で大量合成し、抗癌活性・至適投与方法・安全性・ADME を調べる。
2. MO30003 の標的蛋白質 eIF-4E との結合・作用機構解析を基に新規 MO 関連化合物を合成する。そのデータをを用いて特許を強化する。
3. 癌抑制因子 4E-BP1 の機能をミミックする抗癌剤の臨床効果を期待できる POC を動物モデルで取得する。
4. 癌抑制因子 4E-BP1 の機能をミミックする抗癌剤の臨床開発を行うため、製薬企業と提携する。

2. 研究開発の概要

- (1) MO30003 を大量合成し、抗癌活性・ADME 等の評価に供するとともに標的蛋白質 eIF-4E との相互作用についての解析を基に周辺化合物をデザイン・合成し、膵臓癌・大腸癌細胞株の 3 次元スフェア培養等での増殖抑制の評価に供する。活性の高い化合物については安全性・ADME 試験に供し、マウスモデルでの抗癌活性評価に進める化合物を選択する。
- (2) MO 化合物の細胞・動物での評価のための実験系の基盤技術を構築する。
- (3) 標的蛋白質 eIF-4E と MO 化合物との結合について、溶液 NMR を用いて評価する。周辺化合物について一連の解析を実施し、条件設定及びより詳細な構造解析に用いる化合物を選定する。
- (4) 4E-BP1 欠損ヒト膵臓癌細胞 Panc-1 の 3 次元スフェア培養法による抗癌活性評価で MO30003 周辺化合物の評価を実施し、MO30003 を上回る活性が期待できる二次評価化合物を選択する。
- (5) In vivo 抗癌活性を評価するマウス実験系の確立を目指し、皮下接種及び同所性膵臓接種で効率よく腫瘍形成できる癌細胞株を確立する。

3. 研究開発の成果 (平成 27 年度)

(1) M030003 の大量合成と周辺化合物のデザイン・合成と活性・安全性・ADME 試験等の評価 【(株) PRISM BioLab】

- In vivo 抗癌活性を評価するマウス実験系の確立のため、評価用サンプルとして M03721 を大量合成し、評価部門に提出した。大量合成に際し、合成法・精製法の改良に成功した。
- 標的蛋白質 eIF-4E と 4E-BP1 複合体立体構造から eIF-4E 結合部位をミミックする M0 化合物のデザインと合成を進めた。ADME の改善も目指し、置換基に極性基を導入した新規化合物をデザイン・合成した。これらの実現に効率的な誘導体合成法を確立し、新規 32 化合物を合成し、評価に供した。
- 構造・物性等を考慮し、M030003 及び周辺化合物の代謝安定性試験・PK 等を評価した。

(2) M0 化合物の細胞・動物での評価のための実験系の基盤技術の構築 【愛知県がんセンター】

- M0 化合物の細胞・動物レベルでの評価を 3 研究機関(愛知県がんセンター・東京工業大学・滋賀医科大学)にて行うにあたり、細胞・血清等を評価・選択し、細胞培養の標準化を行い各研究機関に分配した。
- M0 化合物による癌抑制因子の機能ミミックを細胞で生化学的に検証するため、プロテアーゼ感受性の変化を利用した M0 化合物の標的分子の同定のための条件検討を行った。

(3) 溶液 NMR による標的蛋白質 eIF-4E と M0 化合物との結合についての解析 【大阪大学大学院】

- 標的蛋白質 eIF-4E と M0 化合物との結合について溶液 NMR を用いて解析した。標的蛋白質側については、NMR 測定に適した安定な蛋白質試料の調製系を確立し、化学シフト摂動法による解析を実施して M0 化合物添加時に変化するアミノ酸残基を同定した。化合物側については、化学構造の確認と相互作用解析の条件検討を実施し、目標としていた構造解析に用いる化合物を溶解性の観点から選定できた。

(4) 3次元スフェア培養法による抗癌活性評価 【東京工業大学】

- M030003 の 4E-BP1 欠損癌細胞、KRAS 活性化癌細胞での 3次元スフェア培養法による抗癌活性評価で M030003 は 4E-BP1 欠損ヒト膵臓癌細胞 Panc-1 のスフェア増殖を抑制することが確認された。
- M030003 周辺化合物の 4E-BP1 欠損癌細胞、KRAS 活性化癌及び M0 化合物に感受性のヒト/マウス癌細胞での抗癌活性評価において、デザイン・合成された M030003 周辺化合物に M030003 を上回る活性が期待できる M030017 等の二次評価候補化合物を選択した。

(5) In vivo 抗癌活性を評価するマウス実験系の確立 【滋賀医科大学】

- 細胞レベルでのスクリーニングによって選抜された M0 化合物について、in vivo 抗癌活性を検討するヌードマウス実験系の確立を目指し、ヒト大腸癌及びヒト膵臓癌細胞株については皮下接種で効率よく腫瘍形成できる癌細胞株を複数確立することができた。
- また、ヒト膵臓癌細胞株をヌードマウス膵臓へ移植して膵臓腫瘍を形成させる同所性腫瘍モデルの実験系も樹立した。さらに直腸癌を高率で発生する遺伝子改変マウスの樹立にも成功した。