

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業  
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution

研究開発課題名： (日本語) がん微小環境を制御する Ras 標的蛋白質 PLC $\epsilon$ の選択的阻害剤の開発  
(英語) Development of selective inhibitors for PLC $\epsilon$ , a key regulator of the tumor microenvironment

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人神戸大学 大学院医学研究科医科学専攻 教授 片岡 徹  
所属 役職 氏名： (英語) Kobe University Graduate School of Medicine, Professor, Tohru Kataoka

実施期間： 平成 28 年 5 月 25 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 研究統括、in vitro PLC $\epsilon$ 阻害アッセイ、類縁体検索と構造最適化  
開発課題名： (英語) Supervision of the whole project, *in vitro* assays for PLC $\epsilon$  inhibition, search for structural analogues and structural optimization study

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人神戸大学 大学院科学技術イノベーション研究科先端医療学  
講座 教授 島 扶美  
所属 役職 氏名： (英語) Kobe University Graduate School of Science, Technology and Innovation, Professor, Fumi Shima

分担研究 (日本語) PLC $\epsilon$ 及びその化合物複合体の結晶化と X 線結晶構造解析  
開発課題名： (英語) Crystallization and X-ray crystallography of PLC $\epsilon$  and its complex with hit compounds

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人神戸大学 大学院医学研究科医科学専攻 講師 枝松 裕紀  
所属 役職 氏名： (英語) Kobe University Graduate School of Medicine, Associate Professor, Hironori Edamatsu

分担研究 (日本語) 細胞レベルでの PLC $\epsilon$ 阻害活性評価  
開発課題名 : (英 語) Cell-based assays for PLC $\epsilon$  inhibition

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人神戸大学 大学院医学研究科医科学専攻 助教 吉川 陽子  
所属 役職 氏名 : (英 語) Kobe University Graduate School of Medicine , Assistant Professor, Yoko  
Yoshikawa

分担研究 (日本語) 個体レベルでの PLC $\epsilon$ 阻害活性評価  
開発課題名 : (英 語) Evaluation of PLC $\epsilon$  inhibitory activity using animal models

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人神戸大学 大学院医学研究科医科学専攻  
特命助教 松本 篤幸  
所属 役職 氏名 : (英 語) Kobe University Graduate School of Medicine, Designated  
Assistant Professor, Shigeyuki Matsumoto

分担研究 (日本語) NMR による PLC $\epsilon$ 及びその化合物複合体の構造解析、インシリコ解析  
開発課題名 : (英 語) Structural analysis of PLC $\epsilon$  and its complex with hit compounds by  
NMR spectroscopy and *in silico* analysis

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### 和文

がん微小環境（腫瘍関連炎症）の制御を介してがんの発生と悪性化及び増殖を促進する機能を持つホスホリパーゼ C $\epsilon$  (PLC $\epsilon$ ) の選択的阻害作用を持つ低分子化合物をハイスループットスクリーニング（HTS）により同定するため、東大創薬機構ライブラリー22万化合物の HTS 系の準備を完了し、平成 28 年度初頭に HTS を実施する体制を整備した。

理化学研究所化合物ライブラリーの HTS で得られた hit 化合物 X と Y は試験管内で強い PLC $\epsilon$  選択的阻害活性を示した。さらに、X と Y が、細胞レベルにて PLC $\epsilon$  阻害活性を示したことから、true hit として同定した。化合物 X は、腹腔内投与にて、*APC<sup>Min</sup>* マウスの小腸腺腫形成ならびにヌードマウスに異種移植したヒト大腸がん細胞の腫瘍増殖を著明に抑制したことから、発がん抑制活性及び抗腫瘍活性に関する非臨床 POC (Proof of Concept) 取得に向け大きな進展が見られた。さらに、X と Y の構造類縁体を検索・購入して初期の構造活性相関 (SAR) 研究を実施し、X については活性を担う部分構造（ファーマコフォア）を同定した。

### 英文

Aiming to discover small-molecule compounds having a specific inhibitory activity toward phospholipase C $\epsilon$  (PLC $\epsilon$ ), which plays facilitating roles in carcinogenesis, malignant tumor progression and tumor proliferation through regulation of the tumor microenvironments (*i. e.* cancer-associated inflammation), by high-throughput screening (HTS), we completed the preparation for HTS of over 220,000 compounds of the Drug Discovery Initiative Library in University of Tokyo and finished the arrangements for the execution of HTS at the beginning of the fiscal year 2016.

We discovered X and Y as hit compounds through HTS of the Riken Compound Library. They displayed a potent and selective inhibitory activity toward PLC $\epsilon$  *in vitro*. Moreover, compounds X and Y were identified as true hits because they also showed a PLC $\epsilon$ -inhibitory activity at the cellular level. Because compound X exhibited potent activities to inhibit the formation of intestinal tumors in *APC<sup>Min</sup>* mice and to inhibit the growth of a xenograft of human colon cancer cells on nude mice by intraperitoneal administration, we made a significant progress toward the acquirement of a pre-clinical POC (Proof of Concept) for the cancer-preventive and anti-tumor effects of PLC $\epsilon$  inhibitors. Moreover, we carried out a preliminary structure-activity relationship (SAR) study for compounds X and Y by searching for and obtaining their analogues and identified a pharmacophore of compound X responsible for its activity.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 片岡 徹、がん微小環境を制御する Ras 標的蛋白質 PLC $\epsilon$ の選択的阻害剤の開発、ジャパン・キ  
ャンサーリサーチ・プロジェクト 平成 28 年度企業向け成果発表会（口頭、招待講演）、アキバ  
ホール（秋葉原、東京）、平成 29 年 3 月 3 日

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし