

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-間質相互作用を利用した新規抗がん剤の開発基礎研究  
(英語) Development of novel anti-tumor drugs through modulation of tumor-stromal cell interactions
- 研究開発担当者 (日本語) 公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 第1生物活性研究部  
部長 川田学
- 所属 役職 氏名： (英語) Institute of Microbial Chemistry, Laboratory of Oncology,  
Laboratory Head, Manabu Kawada
- 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) 化合物A誘導体の *in vitro* 活性評価と研究全体の運営  
開発課題名： (英語) *In vitro* activity of compound A derivatives and management of the  
research project
- 研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 第1生物活性研究部  
部長 川田学
- 所属 役職 氏名： (英語) Institute of Microbial Chemistry, Laboratory of Oncology,  
Laboratory Head, Manabu Kawada
- 分担研究 (日本語) 化合物A誘導体および化合物Bの作用機構の解析  
開発課題名： (英語) Mode of actions of compound A derivatives and compound B
- 研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 第1生物活性研究部  
研究員 吉田潤次郎
- 所属 役職 氏名： (英語) Institute of Microbial Chemistry, Laboratory of Oncology,  
Researcher, Junjiro Yoshida

- 分担研究 (日本語) 化合物 A 誘導体および化合物 B の安全性試験  
開発課題名: (英語) Toxicity of compound A derivatives and compound B
- 研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 沼津支所  
研究員 大石智一  
所属 役職 氏名: (英語) Institute of Microbial Chemistry, Numazu branch,  
Researcher, Tomokazu Ohishi
- 分担研究 (日本語) 化合物 A 誘導体および化合物 B の *in vivo* 活性評価  
開発課題名: (英語) *In vivo* activity of compound A derivatives and compound B
- 研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 沼津支所  
研究員 井上裕幸  
所属 役職 氏名: (英語) Institute of Microbial Chemistry, Numazu branch,  
Researcher, Hiroyuki Inoue
- 分担研究 (日本語) 化合物 A 高活性誘導体の創製  
開発課題名: (英語) Synthesis of highly potent compound A derivatives
- 研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 有機合成研究部  
部長 渡辺匠  
所属 役職 氏名: (英語) Institute of Microbial Chemistry, Laboratory of Synthetic Organic  
Chemistry, Laboratory Head, Takumi Watanabe
- 分担研究 (日本語) 化合物 B 高活性体の創製  
開発課題名: (英語) Synthesis of highly potent compound B derivatives
- 研究開発分担者 (日本語) 学校法人東京薬科大学薬学部 助教 高山健太郎  
所属 役職 氏名: (英語) Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, Assistant Professor,  
Kentaro Takayama

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### 和文

がん組織はがん細胞だけでなく周辺の間質と混在する形で成り立っている。間質は血管、免疫細胞、線維芽様細胞（ここでは間質細胞と呼ぶ）などの細胞群と細胞外基質で構成されており、がんの進展に密接に関わっている。間質の中でも我々が着目した間質細胞は分泌因子や接着を介したがん—間質相互作用を介してがん細胞の増殖を正にも負にも制御する。我々は特にこの負の制御を利用したがんの抑制、即ち、低分子化合物によってがん—間質相互作用を調節し、がん細胞の増殖を阻害することを目標として研究を行っている。我々が創製する抗がん剤はがん細胞と比較してゲノムが安定している正常な間質細胞を標的とするか、間質細胞が分泌する因子を利用するものであるため薬剤耐性化の問題も回避できる可能性がある。また、作用機構ががん細胞を標的とした薬剤とは異なるため、それらの薬剤との併用効果も期待できる。本研究では、最近の我々の研究から得られた抗がん剤として極めて有望な 2 つのシーズについて高活性誘導体を合成し、作用機構の解明、動物実験での安全性と抗がん活性の評価を行い、最終的に製薬企業への導出を目指す。1 つ目のシーズは放線菌培養液から発見した化合物 A であり、がん—間質相互作用を調節することでがん細胞の増殖を抑制することが分かっている。さらに胃がんの発症に深く関与するヘリコバクターピロリに対して選択的な抗菌活性おも併せ持つことが分かっている。2 つ目のシーズはがん細胞増殖抑制活性を有する細胞分泌タンパク G の部分構造である化合物 B である。

平成 28 年度は、これら 2 つのシーズについて以下の創薬基礎研究を行った。1 つ目のシーズである抗がん活性と抗ピロリ菌活性を併せ持つ化合物 A の誘導体を 50 個合成し、*in vitro* でのがん細胞増殖抑制作用を評価した結果、化合物 A と同等以上の活性を示す化合物を見出した。また、作用機構について解析した結果、化合物 A は間質細胞に作用してタンパク質 X を分泌させてがん細胞の増殖を抑制していることが分かった。しかし別の因子の存在が示唆されたため化合物 A のビオチン化体を合成し、標的因子の探索を開始した。一方、抗ピロリ菌活性の作用機構の解析から、化合物 A はピロリ菌の生育に関与する酵素 Y を阻害してピロリ菌選択的な抗菌活性を示すことが分かった。さらに、先行している化合物 A 誘導体をピロリ菌感染マウスモデルで評価した結果、標準治療剤よりも優位に除菌効果を示すことが分かった。2 つ目のシーズであるがん細胞増殖抑制活性を示す化合物 B について誘導体を 56 個合成した結果、小型化が難しいことが分かったが、活性に必須な構造を同定し、約 10 倍活性が向上した化合物 B 誘導体を見出した。化合物 B 誘導体の作用機構の解析から新たな分子標的が関与する可能性が考えられたので、化合物 B 誘導体のビオチン化体を合成し、標的因子の探索を開始した。

### 英文

Tumor tissues contain not only cancer cells but also stroma such as extracellular matrix and various types of cells such as macrophages, endothelial cells, immune cells and fibroblast-like cells (stromal cells). The stroma plays critical roles in tumor growth and metastasis. Among stromal elements we are focusing on stromal cells, because they regulate tumor growth positively and also negatively through secreted factors and adhesion (tumor-stromal cell interactions). Thus, the interactions are attractive targets for cancer therapy. Since there is a possibility that negative modulation of the tumor-stromal cell interactions suppresses tumor growth and metastasis, we have been searching for small molecules that modulate the interactions. As anti-tumor drugs

that we aim to design are targeting stromal cells instead of tumor cells themselves, the tumor cells can be less likely to show resistance against them. We will also expect efficient combination of them with usual anti-tumor drugs because of difference of their action mechanisms. In this study we have picked up two hopeful seeds that we recently discovered and we are going to synthesize their new derivatives with high activities and to evaluate their potency through mechanism analyses and animal experiments. One of the seeds is Compound A that we isolated from the culture of actinomycete and shows anti-tumor activity through the modulation of tumor-stromal cell interactions. Moreover, we have found that Compound A also has selective anti-*Helicobacter pylori* activity, a bacteria causing gastric cancer. Another seed is Compound B, a partial structure of protein G, that is secreted from cells and shows anti-tumor activity.

In 2016 for development of above two seeds we have done the following experiments. Concerning Compound A we chemically synthesized 50 derivatives and evaluated their anti-tumor activity *in vitro*. As a result, we could find new compounds that showed potency more than original Compound A. Analysis of action mechanism revealed that Compound A was found to stimulate stromal cells to secrete protein X causing suppression of tumor growth. However, further study suggests that there are still other factors that can be involved in the mechanism. We then synthesized a biotin-labeled Compound A for use as a probe to find molecular targets of Compound A. On the other hand, study for the anti-*H. pylori* activity we found that Compound A inhibited enzyme Y that plays essential roles in the *H. pylori* life cycle. Furthermore, *H. pylori*-infected mouse model clearly showed that one derivative of Compound A eradicated the infection efficiently compared to the world standard therapy. Concerning Compound B we synthesized 56 derivatives and found the difficulty for minimization of the structure. However, we could identify a core structure for the anti-tumor activity and create new derivatives with 10 times higher activity compared with original Compound B. Since analysis of action mechanism of Compound B suggests new molecular targets, we synthesized a biotin-labeled derivative of Compound B for the identification of its molecular target.

### 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 1件、国際誌 9件)

1. Atsumi, S., Nosaka, C., Adachi, H., Kimura, T., Kobayashi, Y., Takada, H., Watanabe, T., Ohba, S., Inoue, H., Kawada, M., Shibasaki, M., Shibuya, M. New anti-cancer chemicals Ertredin and its derivatives, regulate oxidative phosphorylation and glycolysis and suppress sphere formation *in vitro* and tumor growth in EGFRvIII-transformed cells. **BMC Cancer** 16, 496 (2016).
2. Kawada, M. Small molecules modulating tumor-stromal cell interactions: new candidates for anti-tumor drugs. **J. Antibiot.** 69, 411-414 (2016).
3. Momose, I., Kawada, M. The therapeutic potential of microbial proteasome inhibitors. **Int. Immunopharmacol.** 37, 23-30 (2016).

4. Tatsuda, D., Momose, I., Amemiya, M., Sawa, R., Sumiyoshi, K., Watanabe, T., Kawada, M., Nomoto, A., Shibasaki, M. Coccoquinones A and B, new anthraquinone derivatives produced by *Staphylotrichum coccosporum* PF1460. **J. Antibiot.** 69, 176-178 (2016).
5. Kaneta, H., Koda, M., Saito, S., Imoto, M., Kawada, M., Yamazaki, Y., Momose, I., Shindo, K. Biological activities of unique isoflavones prepared from *Apios Americana* Medik. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 80, 774-778 (2016).
6. Hayakawa, Y., Kawada, M., Nishikawa, H., Ochiya, T., Saya, H., Seimiya, H., Yao, R., Hayashi, M., Kai, C., Matsuda, A., Naoe, T., Ohtsu, A., Okazaki, T., Saji, H., Sata, M., Sugimura, H., Sugiyama, Y., Toi, M., Irimura, T. Report on the use of non-clinical studies in the regulatory evaluation of oncology drugs. **Cancer Sci.** 107, 189-202 (2016).
7. 川田 学、吉田潤次郎「がん微小環境を制御する低分子化合物」別冊 **BIO Clinica** 慢性炎症とがん 5, 106-111 (2016).
8. Ohishi, T., Goto, S., Monira, P., Isemura, M., Nakamura, Y. Anti-inflammatory action of green tea. **Anti-inflamm. Antiallergy Agents Med. Chem.**, 15, 74-90 (2016).
9. Hatano, M., Migita, T., Ohishi, T., Shima, Y., Ogawa, Y., Morohashi, KI., Hasegawa, Y., Shibasaki, F. SF-1 deficiency causes lipid accumulation in Leydig cells via suppression of STAR and CYP11A1. **Endocrine**, 54, 484-496 (2016).
10. Hayakawa, S., Saito, K., Miyoshi, N., Ohishi, T., Oishi, Y., Miyoshi, M., Nakamura, Y. Anti-cancer effects of green tea by either anti- or pro-oxidative mechanisms. **Asian Pac. J. Cancer Prev.**, 17, 1649-1654 (2016).

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. がん-間質相互作用に働く天然物 Leucinostatin A の触媒的不斉全合成研究、口頭、阿部 光、大内 仁志、川田 学、渡辺 匠、柴崎 正勝、日本薬学会第 137 年会、東北大学川内北キャンパス C 棟 1F C105、2017/03/27、国内
2. 上皮成長因子受容体変異体 vIII 発現細胞の足場非依存性増殖阻害活性を有する低分子化合物の構造活性相関研究、口頭、木村 智之、渥美 園子、古林 良彦、野坂 千里、嶋本 聖子、大庭 俊一、川田 学、澁谷 正史、渡辺 匠、柴崎 正勝、日本薬学会第 137 年会、東北大学川内北キャンパス C 棟 1F C102、2017/03/25、国内
3. Ertredin, a new inhibitor of sphere & tumor growth, regulates mitochondrial respiration and glycolysis in EGFRvIII-transformed cells. ポスター、Atsumi, S., Nosaka, C., Adachi, H., Kimura, T., Kobayashi, Y., Takada, H., Watanabe, T., Ohba, S., Inoue, H., Kawada, M., Shibasaki, M., Shibuya, M. The 21st JFCR-International Symposium on Cancer Chemotherapy (JFCR-ISCC)、日本科学未来館、2016/12/15、国内
4. Intervenolin 類縁体による新規ピロリ菌治療戦略の開発、口頭、大石智一、増田徹、安達勇光、林千草、大庭俊一、阿部光、五十嵐雅之、渡辺匠、稲岡健ダニエル (長崎大学)、北潔 (長崎大学)、柴崎正勝、川田学、第 37 回日本臨床薬理学会学術総会、米子コンベンションセンター、2016/12/2、国内

5. Inhibition of osteosarcoma cell growth by geraniin in vivo、ポスター、Tatsuda, D., Momose, I., Ohba, S., Umezawa, Y., Kawada, M., Shibasaki, M.、28th EORTC-NCI-AACR Molecular Targets and Cancer Therapeutics Symposium、ICM International Congress Center Munich、2016/12/02、国外
6. Mechanism of action of a novel anti-tumor antibody, anti-CXADR 6G10A、ポスター、Kawada, M., Inoue, H., Kajikawa, M., Sugiura, M., Sakamoto, S., Urano, S., Karasawa, C., Usami, I., Futakuchi, M.、28th EORTC-NCI-AACR Molecular Targets and Cancer Therapeutics Symposium、ICM International Congress Center Munich、2016/12/02、国外
7. Intervenolin, a novel compound, induces the suppression of gastric cancer cells by stromal cells via secreted factors、ポスター、Yoshida, J., Amemiya, M., Masuda, T., Kawada, M., Shibasaki, M.、第75回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、2016/10/08、国内
8. Anti-Helicobacter pylori activity of a novel derivative of intervenolin、口頭、Ohishi, T., Masuda, T., Adachi, H., Kawada, M., Shibasaki, M.、第75回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、2016/10/08、国内
9. Mechanism of action of anti-CXADR 6G10A, a novel anti-tumor antibody、ポスター、Kawada, M., Kajikawa, M., Sakamoto, S.、第75回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、2016/10/07、国内
10. Papyracillic acid and penicillic acid show preferential cytotoxicity under nutrient-deprived conditions、ポスター、Momose, I., Adachi, H., Kawada, M.、第75回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、2016/10/06、国内
11. p53-dependent growth suppression of cancer cells by coccoquinones、ポスター、Tatsuda, D., Kawada, M., Momose, I.、第75回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、2016/10/06、国内
12. Ertredin, an inhibitor of sphere and tumor growth regulates OXPPOS and glycolysis in EGFRvIII-transformed cells、ポスター、Atsumi, S., Kawada, M., Shibuya, M.、第75回日本癌学会学術総会、パシフィコ横浜、2016/10/06、国内
13. Catalytic asymmetric synthesis of biologically active natural products、口頭、Watanabe, T.、International Conference on Stereochemistry、Hotel Grand Mercure Sao Paulo Ibirapuera、2016/08/18、国外
14. 小細胞肺癌の自然転移モデルの開発とその応用、口頭、坂本修一、川田学、第25回日本がん転移学会学術集会・総会、米子コンベンションセンター、2016/07/21、国内
15. Intervenolin 誘導体によるピロリ菌抑制効果の検討、口頭、大石智一、増田徹、大庭俊一、雨宮昌秀、川田学、第20回日本がん分子標的治療学会学術集会、別府国際コンベンションセンター、2016/06/01、国内
16. p53 依存的な細胞増殖を阻害する新規アンスラキノン化合物、ポスター、立田大輔、百瀬 功、川田学、20回日本がん分子標的治療学会学術集会、別府国際コンベンションセンター、2016/05/31、国内
17. 新規化合物 intervenolin による間質細胞の分泌因子を介した胃がん細胞の増殖抑制、ポスター、吉田潤次郎、大庭俊一、雨宮昌秀、増田徹、川田学、20回日本がん分子標的治療学会学術集会、別府国際コンベンションセンター、2016/05/31、国内

18. 低分子化合物 Ertredin 誘導体による EGFRvIII 発現細胞の 3D-sphere 形成阻害と腫瘍形成抑制、ポスター、渥美園子、川田学、澁谷正史、20 回日本がん分子標的治療学会学術集会、別府国際コンベンションセンター、2016/05/31、国内
19. 新規抗がん抗 CXADR 抗体 6G10A の作用機構の解析、ポスター、川田学、梶川益紀、20 回日本がん分子標的治療学会学術集会、別府国際コンベンションセンター、2016/05/31、国内
20. Papyracillic acid および penicillic acid による栄養飢餓選択的細胞毒性、ポスター、百瀬功、安達勇光、川田学、20 回日本がん分子標的治療学会学術集会、別府国際コンベンションセンター、2016/05/31、国内

(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