

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) がん細胞・がん間質細胞特異的な酸素センシング機構を標的としたがん  
微小環境標的薬剤の開発  
(英語) Development of anti-tumor microenvironment drugs targeting the  
oxygen sensing mechanisms specific for cancer cells and tumor  
stromal cells.

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東京大学 医科学研究所 助教 坂本 毅治  
所属 役職 氏名： (英語) The Institute of Medical Science, the University of Tokyo Assistant  
Professor Takeharu Sakamoto

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) タンパク X-Y 結合阻害を指標とした候補化合物のスクリーニング  
開発課題名： (英語) Screening for protein X-Y binding inhibitors

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 工学系研究科 教授 津本 浩平  
所属 役職 氏名： (英語) School of Engineering, the University of Tokyo Professor Kouhei  
Tsumoto

分担研究 (日本語) タンパク X-Y 複合体および PPI 阻害化合物の構造解析  
開発課題名： (英語) Structural analysis of protein X-Y complex and their PPI inhibitors

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 工学系研究科 助教 長門石 暁  
所属 役職 氏名： (英語) School of Engineering, the University of Tokyo Assistant Professor  
Satoru Nagatoishi

分担研究 (日本語) タンパク X 阻害剤の細胞レベルでの POC 取得  
開発課題名: (英語) Proofing the concepts of protein X inhibitors in cells

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 医科学研究所 助教 坂本 毅治  
所属 役職 氏名: (英語) The Institute of Medical Science, the University of Tokyo Assistant  
Professor Takeharu Sakamoto

分担研究 (日本語) タンパク X 阻害剤のマウス個体レベルでの POC 取得  
開発課題名: (英語) Proofing the concepts of protein X inhibitors in mice

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 医科学研究所 助教 坂本 毅治  
所属 役職 氏名: (英語) The Institute of Medical Science, the University of Tokyo Assistant  
Professor Takeharu Sakamoto

分担研究 (日本語) 肝癌におけるタンパク X 阻害剤有効性の検証  
開発課題名: (英語) Evaluation of protein X inhibitors on liver cancer

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人金沢大学附属病院 准教授 山下太郎  
所属 役職 氏名: (英語) Kanazawa University Hospital Associate Professor Taro Yamashita

分担研究 (日本語) タンパク X 阻害剤の腫瘍組織における影響の評価  
開発課題名: (英語) Evaluation of the effects of protein X inhibitors on tumor tissues

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 医科学研究所 助教 坂本 毅治  
所属 役職 氏名: (英語) The Institute of Medical Science, the University of Tokyo Assistant  
Professor Takeharu Sakamoto

分担研究 (日本語) タンパク X-Y 結合阻害評価のためのハイスループット細胞アッセイ系の構築  
開発課題名: (英語) Construction of the cell-based high throughput screening for protein X-  
Y binding inhibitor

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 医科学研究所 助教 坂本 毅治  
所属 役職 氏名: (英語) The Institute of Medical Science, the University of Tokyo Assistant  
Professor Takeharu Sakamoto

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### 和文

分子 X-Y 結合阻害化合物について、分子 X-Y 結合阻害活性を SPR、化合物の分子 X への結合を ITC で確認した。ヒット化合物の構造類縁化合物について細胞を用いたレポーターアッセイで分子 X 阻害活性を有する化合物を取得し、それら化合物で、マクロファージの分子 X 特異的な ATP 産生を抑制する化合物を 2 種類取得。マウスメラノーマ転移モデルでの化合物の検討を行っており、1 回目の実験では 1 種類の化合物が有意に転移を抑制している。また、Alpha スクリーニングではコストがかかりすぎるため大規模な化合物スクリーニングが行えないことから、分子 X-Y の結合を可視化する細胞を作製することで、イメージングベースでのスクリーニング系の立ち上げに着手した。

### 英文

We confirmed that some hit compounds by the Alpha screening inhibited molecule X-Y interaction and bound to molecule X by the SPR and ITC assays, respectively. Among the hit compounds and their derivatives, some compounds inhibited molecule X function in a reporter assay using cells. Two compounds specifically inhibited ATP production via molecule X in macrophages. We have started the in vivo examination of these two compounds by the mouse melanoma lung metastasis model, and one compound inhibited lung metastasis of mouse melanoma cells significantly in the first experiment. In parallel with these confirmations of candidate compounds, because the Alpha screening costs so much for large compound libraries, we have stated to set up another cell-based screening system by using cells where the molecule X-Y interaction is visualized.

## 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 6 件）

1. Uematsu T, Fujita T, Nakaoka HJ, Hara T, Kobayashi N, Murakami Y, Seiki M, Sakamoto T. Mint3/Apba3 depletion ameliorates severe murine influenza pneumonia and macrophage cytokine production in response to the influenza virus. *Sci Rep*. 2016, 6, 37815.
2. Huai W, Song H, Yu Z, Wang W, Han L, Sakamoto T, Seiki M, Zhang L, Zhang Q, and Zhao W. Mint3 potentiates TLR3/4- and RIG-I-induced IFN- $\beta$  expression and antiviral immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016, pii: 201601556.
3. Yoshino S, Hara T, Nakaoka HJ, Kanamori A, Murakami Y, Seiki M, Sakamoto T. The ERK-signaling target RNF126 regulates anoikis resistance in cancer cells by changing the mitochondrial metabolic flux. *Cell Discov*. 2016, 2, 16019.
4. Nomura Y, Yamashita T, et al. De novo emergence of mesenchymal stem-like CD105+ cancer Cells by cytotoxic agents in human hepatocellular carcinoma. *Transl. Oncol*. 2017, 10, 184-189

5. Nio K, Yamashita T, Kaneko S. The evolving concept of liver cancer stem cells. Mol Cancer. 2017, 16, 1-12
6. Yamashita T, Nault JC. Stemness of liver cancer: From hepatitis B virus to Wnt activation/ J Hepatol. 2016, 65, 873-875
7. 長門石曉, 津本浩平, 物理化学的解析技術を利用したリガンドスクリーニング. バイオサイエンスとインダストリー (バイオインダストリー協会), 2017, Vol.75 (No.1).

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Mint3 は線維芽細胞において LICAM 発現を誘導することでインテグリン  $\alpha 5\beta 1$  を介したがん細胞増殖と造腫瘍能を促進する, ポスター, 坂本毅治, 中岡寛樹, 種井善一, 金森茜, 佐藤博, 清木元治, 村上善則, 金沢大学がん進展制御研究所共同利用・共同研究拠点シンポジウム, 2017/2/14, 国内.
2. Mint3-mediated LICAM expression in fibroblasts promotes cancer cell proliferation via integrin  $\alpha 5\beta 1$  and tumour growth. 口頭, 坂本毅治, 中岡寛樹, 種井善一, 金森茜, 林哲郎, 清木元治, 村上善則, 平成 28 年度文部科学省新学術領域研究 学術研究支援基盤形成 先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会, 2017/2/6, 国内.
3. がんおよび炎症性疾患における HIF 活性化分子 Mint3 の役割, ポスター, 坂本毅治, 原敏朗, 中岡寛樹, 金森茜, 清木元治, 村上善則, 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016/11/30, 国内.
4. がんおよび炎症性疾患における HIF 活性化分子 Mint3 の役割, 口頭, 坂本毅治, 原敏朗, 中岡寛樹, 金森茜, 清木元治, 村上善則, 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016/11/30, 国内.
5. Mint3 は線維芽細胞において LICAM 発現を誘導することでインテグリン  $\alpha 5\beta 1$  を介したがん細胞増殖と造腫瘍能を促進する, ポスター, 坂本毅治, 中岡寛樹, 種井善一, 金森茜, 清木元治, 村上善則, 第 14 回がんとハイポキシア研究会, 2016/11/4, 国内.
6. ERK シグナル標的分子 RNF126 はミトコンドリアへの代謝フラックスを変えることでアノキス抵抗性を制御する, 口頭, 坂本毅治, 芳野聖子, 中岡寛樹, 金森茜, 清木元治, 村上善則, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/8, 国内.
7. 線維芽細胞における Mint3 は腫瘍増殖を促進する, ポスター発表, 中岡寛樹, 金森茜, 清木元治, 村上善則, 坂本毅治, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/8, 国内.
8. ERK シグナル標的分子 RNF126 はミトコンドリアへの代謝フラックスを変えてがんのアノキス耐性を制御する, ポスター発表, 坂本毅治, 芳野聖子, 原敏朗, 中岡寛樹, 金森茜, 清木元治, 村上善則, 文部科学省新学術領域研究 学術研究支援基盤形成 先端モデル動物支援プラットフォーム 若手支援技術講習会, 2016/9/16, 国内.
9. 線維芽細胞における Mint3 が HIF-1 を介してがん細胞の増殖を促進する, ポスター, 坂本毅治, 第 4 回低酸素研究会, 2016/7/23, 国内.
10. RNF126 はミトコンドリアへの代謝フラックスを変化させることでがん細胞のアノキス耐性を制御する, 口頭, 坂本毅治, 清木元治, 第 25 回日本がん転移学会学術集会・総会, 2016/7/21, 国内.

11. 水酸化シグナルによる低酸素応答とその制御, 口頭 (招待講演), 坂本毅治, 第 16 回日本抗加齢医学会総会, 2016/6/10, 国内.
12. Mint3 を標的としたがん微小環境の制御, 口頭 (招待講演), 坂本毅治, 清木元治, 第 20 回日本がん分子標的治療学会学術集会, 2016/5/31, 国内.
13. SPR and ITC-based small-molecule screening to find inhibitors of protein-protein interaction, 口頭, S Nagatoishi, K Tsumoto, DiPIA 2016, 2016/6/13, 海外.
14. Thermodynamics of the interaction between proteins and small compounds in drug discovery, 口頭 (招待講演), 長門石曉, 分子研研究会, 2016/6/27, 国内.
15. 天然変性蛋白質 Mint3 の分子認識機構の解明, ポスター, 展天承, 中山佳昭, 長門石曉, 坂本毅治, 清木元治, 津本浩平, 第 10 回バイオ関連化学シンポジウム, 2016/9/7, 国内.
16. 創薬研究における ITC とサーマルシフトの活用, 口頭 (招待講演), 長門石曉, 津本浩平, 熱測定スプリングスクール 2017 (第 78 回熱測定講習会), 2017/3/8, 国内.
17. 次世代の低分子創薬を拓く蛋白質-低分子間相互作用の物理化学的解析, 口頭, 長門石曉, カアベイロホセ, 津本浩平, 日本薬学会第 137 年会, 2017/3/25, 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