

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：医療分野研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP)
Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer:
Adaptable and Seamless Technology Transfer Program through Target-Driven
Research and Development (A-STEP)

研究開発課題名：強力なゴルジ体機能阻害能を発現する新規分子標的抗がん剤の開発
Discovery & Development of Novel Molecular Targeted Anti-Cancer Drug
with Potent Inhibition of Golgi Function

研究開発担当者 エーザイ株式会社 筑波研究所 シニアサイエンティフィックアドバイザー 吉松 賢太郎
所属 役職 氏名：Senior Scientific Advisor, Tsukuba Research Labs., Eisai Co., Ltd.
Kentaro Yoshimatsu,

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

研究開発分担者 学校法人東京理科大学 理学部第一部応用化学科 教授 椎名 勇
所属 役職 氏名：Tokyo University of Science, Department of Applied Chemistry, Faculty of Science,
Professor, Isamu Shiina

研究開発分担者 学校法人北里研究所 北里大学薬学部 教授 広野修一
所属 役職 氏名：Kitasato University, School of Pharmacy, Professor, Shuichi Hirono

研究開発分担者 公益財団法人がん研究会 がん化学療法センター分子薬理部 副部長 旦 慎吾
所属 役職 氏名：Japanese Foundation for Cancer Research, Cancer Chemotherapy Center,
Division of Molecular Pharmacology, Division of Molecular Pharmacology,
Vice Chief, Ph.D., Shingo Dan,

II. 成果の概要 (総括研究報告)

椎名 勇教授 (東京理科大学 理学部第一部応用化学科)、広野 修一教授 (北里大学 薬学部薬学
科・生命創薬科学科)、旦 慎吾副部長 (がん研究会がん化学療法センター)、吉松 賢太郎チームリ

ーダー（エーザイ株式会社）らの共同研究グループにより、本研究のシーズである M-COPA の誘導体で、水溶性と代謝安定性が改善し、抗がん活性の GI50 値も 100nM 以下の化合物を見出すとともに、MET 遺伝子増幅ヒト胃癌細胞に加え、EGFR 変異ヒト非小細胞肺癌細胞が M-COPA に高い感受性を示すことを明らかにした。さらに、EGFR tyrosine kinase 阻害剤に耐性になった EGFR 変異ヒト非小細胞肺癌細胞に対しても M-COPA が有効であることを明らかにした。

(1) M-COPA 誘導体の合成とその誘導体の抗がん活性、物性、代謝安定性評価

水溶性が改善し抗がん活性の GI50 値（抗がん活性）が 100nM 以下の化合物を 2 化合物、代謝安定性が改善し GI50 値が 100nM に近い化合物を 2 化合物創出した。in vivo での評価を行う化合物を選定し、大量合成法の検討を進めた。

(2) M-COPA とは母核の異なる化合物の合成

デメチルオクタヒドロナフタレン系の化合物を合成したが、活性は得られなかった。

(3) in silico スクリーニングおよび in silico デザイン

標的タンパクの Arf1 に結合する化合物を in silico スクリーニングで取得し、NMR 法を用いて複数の化合物で結合が確認されたが結合親和性が低かった。この中で一番結合活性の強い化合物を用いて X 線共結晶構造解析を試みたが、結合活性が低いと思われるが、共結晶は得られず構造決定に至らなかった。溶解性が向上し、かつ、活性が保持されると予測される誘導体の in silico デザインを行い、その情報を椎名教授に提供した。Arf1 と GEF の相互作用を抑制することで Arf1 の活性化を抑制する化合物の探索を in silico で行い、NMR 法を用いて複数の化合物で結合が確認されたが結合親和性が低かった。

(4) 受容体チロシンキナーゼの増殖シグナルに依存しているヒトがん細胞に対する効果

昨年度までに、MET 遺伝子が増幅したヒト胃癌細胞は M-COPA に高い感受性を示すことを見出していたが、EGFR 変異ヒト非小細胞肺癌細胞において、M-COPA 処理により EGFR の細胞膜上での発現低下、細胞内増殖シグナルの活性化抑制が認められ、増殖抑制効果が示された。さらに、EGFR tyrosine kinase 阻害剤に耐性になった EGFR 変異ヒト非小細胞肺癌細胞に対して、M-COPA は in vitro および in vivo において有効であることを明らかにした。

Prof. Isamu Shiina (Department of Applied Chemistry, Faculty of Science, Tokyo University of Science), Prof. Shuichi Hirono (School of Pharmacy, Kitasato University), Dr. Shingo Dan (Cancer Chemotherapy Center, Japanese Foundation for Cancer Research), and Dr. Kentaro Yoshimatsu (Tsukuba Research Labs., Eisai Co., Ltd.) found derivatives of M-COPA, seed of this project, which had improved solubility and metabolic stability and whose IC50 (anti-tumor activity) was less than 100 nM. It was revealed that MET gene amplified human gastric cancer cells and EGFR mutated human NSCLC cells showed high sensitivity to M-COPA. In addition, it was characterized that M-COPA was effective against EGFR mutated human NSCLC cells resistant to EGFR tyrosine kinase inhibitors.

(1) Synthesis of M-COPA derivatives and evaluation of anti-tumor activity, physico-chemical properties and metabolic stability of those derivatives

Two compounds whose solubility was improved and GI 50 was less than 100 nM, and two compounds whose metabolic stability was improved and GI50 was close to 100 nM were created. Several compounds were selected for in vivo evaluation, and large-scale synthesis method was

proceeded with examination.

(2) Synthesis of compounds with different core structure from M-COPA

De-methyl octahydronaphthalene series compounds were synthesized, but they showed no activity.

(3) In silico screening and in silico design

Potential compounds were screened out of a Namiki Compound Library including ~6 million compounds by in silico method to find compounds which bind to target protein Arf1, and several compounds were shown to bind to Arf1 by NMR analyses, but the binding affinity of those compounds were low. The X-ray co-crystallographic structural analysis using the compound with highest binding affinity among them were tried, but the co-crystal was not obtained and structural analysis was unsuccessful, probably due to low binding affinity. In silico design of M-COPA derivative to seek compounds with better solubility and keeping activity was performed, and such information of potential derivatives were provided to Prof. Shiina. In silico screening to explore compounds which inhibit the interaction between Arf1 and GEF and hence the activation of Arf1 was conducted, and several screened compounds had binding activity to Arf1 by NMR analyses, but the binding affinities of those compounds were low.

(4) Effect on human cancer cells depending on growth signal of receptor tyrosine kinases

It was characterized by last fiscal year that MET gene amplified human cancer cells were highly sensitive to M-COPA. It was revealed that M-COPA decreased the cell surface expression of EGFR, inhibited the activation of intracellular growth signal, and showed growth inhibitory effect on EGFR mutated human NSCLC cells. Moreover, it was demonstrated that M-COPA was effective against EGFR mutated NSCLC cells exhibiting acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in vitro and in vivo.

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 1件）

1. OHASHI Y, OKAMURA M, HIROSAWA A, TAMAKI N, AKATSUKA A, WU K.-M, CHOI H.-W, YOSHIMATSU K, SHIINA I, YAMORI T, DAN S, M-COPA, a Golgi disruptor, inhibits cell surface expression of MET protein and exhibits antitumor activity against MET-addicted gastric cancers, *Cancer Res.*, **2016**, 76(13), 3895-3903.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 新規ゴルジ阻害剤 M-COPA の RTK 依存がんに対する抗がん効果、ポスター、太橋愛美・赤塚明宣・岡村睦美・椎名勇・吉松賢太郎・矢守隆夫・旦慎吾、第 20 回日本がん分子標的治療学会、2016/5/30-6/1、国内。
2. 新規ゴルジ阻害剤 M-COPA の抗がん作用メカニズムに対する ER ストレスの関与、ポスター、赤塚明宣・岡村睦美・太橋愛美・椎名勇・吉松賢太郎・矢守隆夫・旦慎吾、第 20 回日本がん分子標的治療学会、2016/5/30-6/1、国内。
3. 新規ゴルジ体阻害剤 M-COPA の受容体チロシンキナーゼにアディクトしたがんへの抗がん効果、ポスター、太橋愛美・岡村睦美・方徳央・玉城尚美・赤塚明宣・吉松賢太郎・椎名勇・矢守

- 隆夫・旦慎吾、第 75 回日本癌学会、2016/10/6-8、国内。
4. ゴルジ阻害剤 M-COPA の in vivo 抗がん作用における ER ストレスシグナルの関与、ポスター、赤塚明宣・岡村睦美・大橋愛美・椎名勇・吉松賢太郎・矢守隆夫・旦慎吾、第 75 回日本癌学会、2016/10/6-8、国内。
 5. 新規ゴルジ体阻害剤 M-COPA の細胞表面タンパク質発現に与える影響、ポスター、方徳央・大橋愛美・赤塚明宣・吉松賢太郎・椎名勇・矢守隆夫・旦慎吾、第 75 回日本癌学会、2016/10/6-8、国内。
 6. M-COPA, a new Golgi disruptor, inhibited growth of RTK-addicted human cancer cells、ポスター、大橋愛美、岡村睦美、方徳央、筒井咲妃、玉城尚美、赤塚明宣、吉松賢太郎、椎名勇、矢守隆夫、旦慎吾、28th EORTC-NCI-AACR Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics、2016/11/29-12/2、国外。
 7. 新規抗がん物質 M-COPA の三次元培養下における抗がん効果、ポスター、筒井咲妃、大橋愛美、岡村睦美、赤塚明宣、椎名勇、吉松賢太郎、矢守隆夫、旦慎吾、日本薬学会第 137 年会、2017/3/24-27、国内。

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 記者説明会「胃がんの新規抗がん物質を同定ーゴルジ体を標的とした新しい治療法開発へ道一人工合成 M-COPA で RTK 陽性胃がん (MET 増幅がん腫、FGFR2 増幅がん腫) を抑制」、がん研究会がん化学療法センター分子薬理部、東京理科大学ならびにエーザイ(株)の共同研究チーム、がん研究会 がん研究所 1 階 吉田富三記念講堂、2016 年 5 月 10 日 (火)、国内。
2. 胃がんの新規抗がん物質 M-COPA を同定ーゴルジ体を標的とした新しい治療法へ道一、がん研究会がん化学療法センター分子薬理部、東京理科大学ならびにエーザイ(株)の共同研究チーム、YouTube (<https://www.youtube.com/watch?v=hTLjzpUiCdo>)、2016 年 7 月 11 日 (月) 公開、国内。
3. (ダイジェスト版) 胃がんの新規抗がん物質 M-COPA を同定ーゴルジ体を標的とした新しい治療法へ道一、がん研究会がん化学療法センター分子薬理部、東京理科大学ならびにエーザイ(株)の共同研究チーム、YouTube (<https://youtu.be/9vn2NfoMrMM>)、2016 年 7 月 11 日 (月) 公開、国内。
4. (アニメーション入り一般向け解説版) ゴルジ体を標的とする新しい抗がん剤「M-COPA」の作用メカニズム、がん研究会がん化学療法センター分子薬理部、東京理科大学ならびにエーザイ(株)の共同研究チーム、YouTube (<https://www.youtube.com/watch?v=4yBaG8TrI70>)、2016 年 9 月 30 日 (金) 公開、国内。

(4) 特許出願

特許出願なし