

平成 28 年度 委託実験調査成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 創薬支援推進事業 創薬総合支援事業  
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

実験調査課題名： (日本語) PCA-1 を分子標的とする first-in-class の癌治療創薬  
(英語) PCA-1, a promising molecular target for first-in-class cancer drug discovery

実験調査担当者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 薬学研究科細胞生理学分野 教授 辻川和丈  
所属 役職 氏名： (英語) Laboratory of Molecular and cellular Physiology, Graduate School of  
Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Professor Kazutake  
Tsujiikawa

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

実験調査分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 薬学研究科構造展開ユニット 特任教授 春田純一  
所属 役職 氏名： (英語) Lead Exploration Unit, Graduate School of Pharmaceutical Sciences,  
Osaka University, Professor Junichi Haruta

実験調査分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 工学研究科構造展開ユニット 教授 井上 豪  
所属 役職 氏名： (英語) Chemistry Course of Materials Chemistry, Division of Applied Chemistry,  
Graduate School of Engineering, Osaka University, Professor Tsuyoshi Inoue

## II. 成果の概要

- PCA-1 の基質として 1-methyladenosine, 3-methylcytosine 含有 tRNA を同定した。
  - PCA-1 により脱メチル化された tRNA はタンパク質の翻訳効率上昇をもたらす。
  - PCA-1 ノックダウンによる DNA メチル化損傷シグナル伝達系を同定した。
  - 化合物の PCA-1 酵素活性特異的阻害評価系として ABH5 を標的とした cell free assay, cell based assay 系を構築した。
  - 強い PCA-1 阻害活性を有する化合物を取得した。
  - PCA-1 short form への化合物ソーキングにより複合体結晶の構造解析に成功した。
  - ホモロジーモデルの構築により PCA-1 全長構造モデルを作成した。
- 
- tRNAs with 1-methyladenosine and 3-methylcytosine were identified as substrates for PCA-1
  - tRNA demethylated by PCA-1 induced an increase in translation efficiency.
  - DNA methylation damage signal transduction by PCA-1 knockdown was identified.
  - Cell-free and cell-based assays targeting ABH5 were established for evaluation of PCA-1-specific inhibitory activity of compounds.
  - Several compounds with potent inhibitory activity against PCA-1 were obtained.
  - Crystallization of the short form of PCA-1 with a compound A was achieved by the soaking method.
  - PCA-1 full-length structure was constructed by homology modeling.

## 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 1 件)

1. Ueda Y, Ooshio I, Fusamae Y, Kitae K, Kawaguchi M, Jingushi K, Hase H, Harada K, Hirata K, Tsujikawa K. AlkB homolog 3-mediated tRNA demethylation promotes protein synthesis in cancer cells. Sci Rep. 2017, 7:42271
2. 辻川和丈, Regulation of RNA methylation and epigenetic effects by the ALKBH family. 生化学, 2016,88(3), 322-7
3. Mabuchi M, Ueda M, Yoshida Y, Horiike K, Yamaoka K, Nakao S, Shimizu T, Ueda Y, Tsujikawa K, Tanaka A. Systematic Trial for Evaluating Docetaxel in a Human Prostate Cancer Cell DU145 Xenograft Model. Anticancer Research. (投稿準備中)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 非小細胞肺癌細胞において DNA/RNA 脱メチル化酵素 ALKBH3 は p53 シグナル伝達経路を介して DNA メチル化損傷を修復する, ポスター, 小垣考弘、神宮司健太郎、長谷拓明、辻川和丈, 第 27 回癌学会, 国内, 2016/10/6

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
なし

(4) 特許出願

特許出願準備中（日本国出願予定、JST 支援を前提に PCT 出願を予定）

平成 28 年度 委託実験調査成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 創薬支援推進事業 創薬総合支援事業  
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

実験調査課題名： (日本語) PCA-1 を分子標的とする first-in-class のがん治療創薬  
(英語) PCA-1, a promising molecular target for first-in-class cancer drug discovery

実験調査担当者 (日本語) 学校法人兵庫医科大学 兵庫医療大学薬学部 教授 田中明人  
所属 役職 氏名： (英語) School of Pharmacy, Hyogo University of Health Sciences  
Akito Tanaka, Ph.D., Professor

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

## II. 成果の概要

### 和文

- ・ PCA-1 阻害活性について、その特異性が確認された HUHS015 をリードとして、前年度から引き続き今年度新規に合成した 3 化合物の PCA-1 阻害活性、および前立腺癌由来 DU145 細胞の増殖抑制活性の評価を行ったが、いずれも HUHS015 に比較して著しい活性の改善は認められなかった。
- ・ DU145 細胞を用いた Xenograft モデルにて、これまで得られた化合物でラット経口吸収性が良好な HUHS\_KNC-9、及び HUHS199 とホルモン抵抗性前立腺癌の第一選択薬である docetaxel (DTX) との併用効果を検討したところ、control および DTX 単独投与よりも有意な腫瘍体積増加抑制作用が認められた。
- ・ なお、これらの HUHS 化合物の単独、併用投与において、マウス体重の経時変化、および最終日における肝臓及び腎臓重量、血漿中 GOT, GPT, creatinine, BUN 濃度を測定したが、control に比較して明らかな毒性的な変化は認められなかった。

### 英文

- ・ Three new derivatives (HUHS221, HUHS222, HUHS223) were synthesized and evaluated, but drastic improvement of the growth inhibitory effect was not found compared to that of HUHS015.
- ・ We measured suppression effects of two compounds (HUHS199, HUHS\_KNC-7) at 10 mg/kg (p.o., b.i.d) with docetaxel (DTX, 2.5 mg/kg, s.c., once/week), which showed that HUHS\_KNC-7 and HUHS199 demonstrated synergistic effects on the DU145 growth in xenograft mice. Furthermore, weight of each liver and kidney, and concentration of plasma GOP, GPT, creatinine, and BUN at final days after administration of HUHS compounds were not obviously abnormal, which suggest possibility that PCA-1 inhibitors could be a medicine without severe toxicities, different from DTX.

### 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. MABUCHI M, UEDA M, YOSHIDA Y, HORIIKE K, YAMAOKA K, NAKAO S, SHIMIZU T, UEDA Y, TSUJIKAWA K, TANAKA A. Systematic Trial for Evaluating Docetaxel in a Human Prostate Cancer Cell DU145 Xenograft Model. Anticancer Research. (投稿準備中)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
なし

(4) 特許出願

- ・有力化合物の特許出願準備中（日本国出願予定、JST 支援を前提にPCT 出願を予定）