

令和元年6月24日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05471

研究課題名(和文) 子宮内膜癌に対する抗サイクリンA分子標的薬開発：新たに同定した化合物の改良の試み

研究課題名(英文) Development of novel anti-cancer drugs targeting cyclin A for endometrial carcinoma.

研究代表者

塩沢 丹里 (Shiozawa, Tanri)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：20235493

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円

研究成果の概要(和文)：近年著増している子宮体癌に対する新たな分子標的療法を開発する目的で、各種細胞周期調節因子の発現を検討したところ、サイクリンA2が体癌の細胞増殖や抗癌剤の耐性に深く関与していることが判明した。このため、サイクリンA2の発現を抑制する薬剤の開発をこころみ、サイクリンA2の転写能を測定するアッセイを樹立し、低分子化合物ライブラリーをスクリーニングしたところ、サイクリンA2の転写および子宮体癌の増殖を抑制する化合物Xを同定した。さらにこれを構造改変した化合物X1を合成したところ、化合物X1は化合物Xの約10倍の抗腫瘍作用があることが判明し、新たな薬剤として大きな可能性を有すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮体癌の増加にともなって、難治性の進行癌が増加している。現在こういった症例に対しては、シスプラチンやタキソールなどによる治療が行われているが、効果は限定的であった。今回我々が開発した化合物X1は、従来までの抗癌剤とはまったく異なり、子宮体癌の生物学特性の解析から開発されたものであり、その将来性は非常に有望であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Because the number of endometrial carcinoma (EMCa) patients is markedly increasing in recent years, development of novel drugs for EMCa is mandatory. We previously revealed that the expression of cyclin A, an important cell-cycle regulator, was involved in the acquisition of malignant potentials of EMCa. Therefore we aimed to develop new drugs which suppress cyclin A activity. The screening of low molecular weight compound library using luciferase assay containing cyclin A promoter identified "compound X", which had strong anti-cyclin A transcriptional activity. The compound X also showed strong anti-proliferative activity for EMCa cells in vitro and in vivo. We then altered the partial structure of compound X, and newly synthesized compound X1. The compound X1 had anti-proliferative activity 10 times stronger than that of compound X. These results indicated the newly synthesized compound X1 is a promising agent.

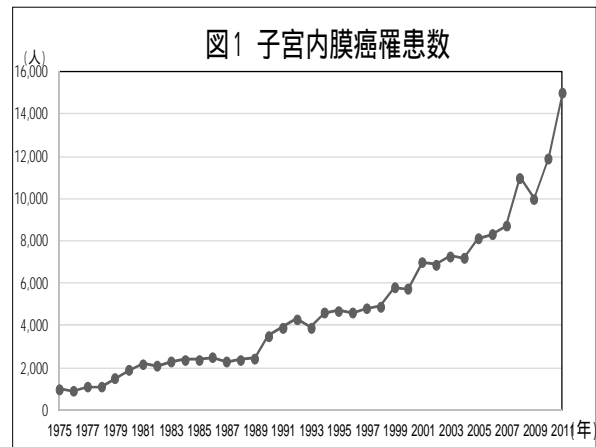
研究分野：産婦人科学

キーワード：子宮体癌 細胞周期調節因子 低分子化合物

1. 研究開始当初の背景

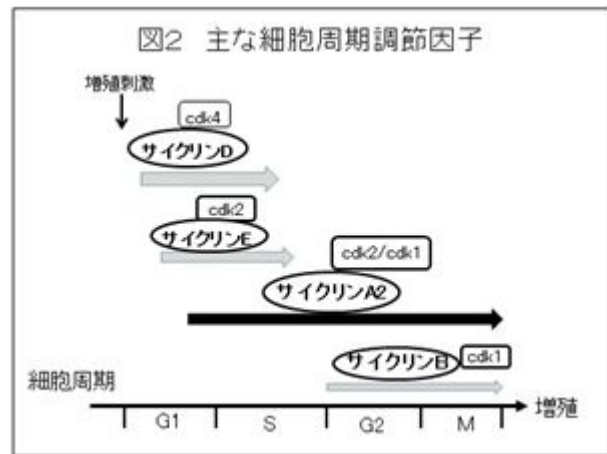
1) 増加する子宮内膜癌

我が国では子宮内膜癌の患者数は最近 20 年間に 6 倍と著明に増加している(図 1)。子宮内膜癌は初期癌では手術を中心とした治療で比較的良好な予後が期待できるが、近年は手術が困難な進行癌や再発癌も増加している、これらに対してはシスプラチン等の抗癌剤が使用されているが、予後は不良であり、新たな治療法の開発が待たれている。



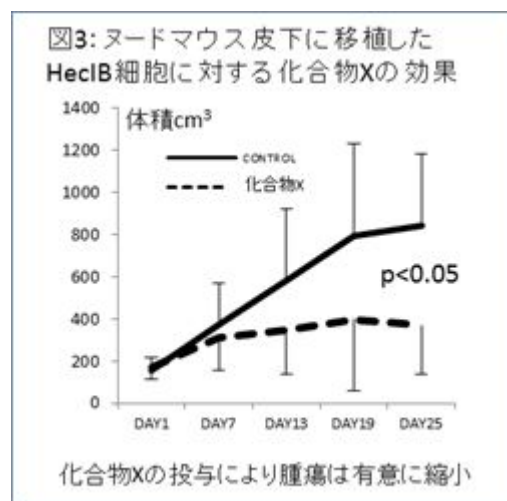
2) サイクリン A2 は増殖能や抗癌剤耐性に関与する有望な分子標的である

細胞周期調節因子はサイクリンやサイクリン依存性リン酸化酵素(cdk)、癌抑制遺伝子産物など、細胞増殖調節の根幹にかかわる分子群からなる(図 2)。特にサイクリンは細胞周期特異的に発現され、特定の cdk と結合して増殖を促進する。我々は細胞周期調節因子の観点から内膜癌の増殖機序を解明した結果、サイクリン A2 の発現が独立した予後不良因子であること(Hum Pathol 2003; 34; 471)、さらに Akt 経路の活性化を通してシスプラチンに対する耐性の獲得に関与していることを明らかにした(J Cell Mol Med. 2009 Jul 6)。サイクリン A2 は G1 期から M 期まで細胞周期の長い期間発現されること、また cdk2 と cdk1 に結合するという他のサイクリンにはない大きな特徴があり、非常に重要なサイクリンである。さらに独自に開発した DNA 損傷を定量化する方法(Mol Cell Endocrinol. 2015; 400:71)によって、サイクリン A2 はシスプラチンによって発生する DNA エラーを修復していることを見出した。これらの結果はサイクリン A2 が内膜癌に対する治療標的として極めて好適であることを示している。



2. 研究の目的：子宮内膜癌に対するサイクリン A2 を標的とした薬剤の開発

そこで我々は子宮内膜癌に対してサイクリン A2 を標的とした薬剤を開発することとした。サイクリン A2 は核内で機能するために、抗体薬は不適であると考え、低分子化合物に着目し、サイクリン A2 の転写抑制活性を有する低分子化合物を同定することとした。



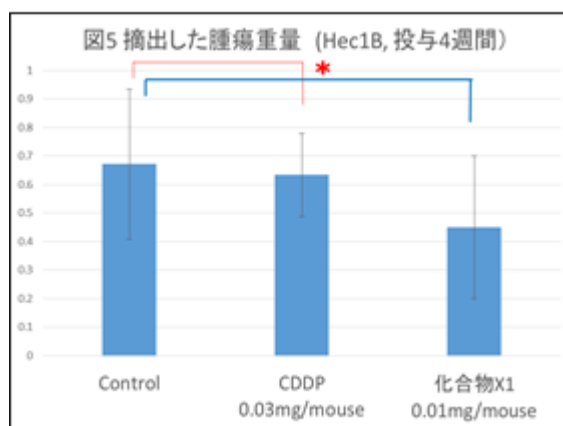
3. 研究の方法

サイクリン A2 の転写を抑制する化合物を同定するために、当教室で独自にサイクリン A2 プロモーターを有するルシフェラーゼアッセイを樹立し、約 1 万種の低分子化合物ライブラリーをスクリーニングした。その結果、サイクリン A2 発現抑制活性を有する分子量約 300 の化合物 X を新たに同定した。この化合物 X は内膜癌、卵巣癌、乳癌などの細胞などに対し、 $1 \times 10^{-7} M$ で最大 94% のサイクリン A2 転写抑制と 93% の細胞増殖抑制効果を示した。さらにこの化合物 X を皮下投与したところ、マウス皮下に接種した子宮内膜癌

細胞の増殖を有意に抑制し(図3)、化合物Xが内膜癌に対する有望なリード化合物であることが判明した。

しかし、この化合物は溶媒に難溶性で、投与経路が限定されるという欠点があった。このため、この化合物の周辺化合物の構造活性相関を検討し、構造を改変した新規化合物X1を新たに合成したところ、化合物X1は化合物Xと比較して可溶性が改善し、体癌細胞に対する増殖抑制能は約10倍向上した。次いでヌードマウス皮下の体癌細胞異種移植腫瘍に化合物X1を局注したところ、約1週間で腫瘍は消失した(図4)。

また化合物X1は腹腔内投与によって各種の体癌細胞の増殖を抑制したが、この効果は細胞株によってはシスプラチンより高かった(図5)。また一部の卵巣明細胞癌細胞株にも高い抗腫瘍能を示した。これらの結果は化合物X1が全く新規の体癌の治療薬としての極めて高い可能性を示すものである。現在化合物X1の更なる効果の評価と機序の解明、およびそれに基づく臨床応用の可能性を検討している。



4. 研究成果

前述のように、本研究ではまず低分子化合物のスクリーニングにて化合物Xを選定した。さらにそれを構造改変し、より強いサイクリンA2の転写抑制能と癌細胞増殖抑制能を有する分子化合物X1を合成した。この化合物X1は子宮内膜癌に対する新たな薬剤のリード化合物として有望である可能性が示された。

本研究の重要性はまず社会的ニーズのある研究テーマであることである。近年激増している内膜癌に対する新規の治療には強い社会的ニーズがある。次にサイクリンA2を内膜癌の標的としている点である。サイクリンA2は内膜癌以外にも大腸癌、乳癌などでも予後不良因子で、TCGAのビッグデータでも内膜癌の予後不良因子である。さらに、我々はサイクリンA2が単に増殖を刺激するだけでなく抗癌剤耐性の獲得に関与していることを見出している。細胞周期調節因子でサイクリンA2以外にこれらの機能が報告されている分子はない。加えて近年、次世代シーケンサー(NGS)の普及により、癌の遺伝子変異に基づく個別化治療が進んでいるが、その一方で癌は発育に伴い遺伝子変異の違うサブクローンを多数産生し、いわゆる不均一性(heterogeneity)を獲得していることが明らかになった。このため、変異をピンポイントで狙う分子標的療法の効果は限定されるリスクがある。この点、サイクリンA2は細胞に共通の分子であるうえに、多くの癌でサイクリンA2は正常と比較して過剰発現されているのでメリットが期待できる。これらの点から本研究ではサイクリンA2に着目した点が極めてユニークである。

これらから、本研究の結果は、今後の臨床応用にむけて非常に重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

(知財確保のため、発表は控えています。)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等:特になし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：鹿島 大靖
ローマ字氏名：Kashima Hiroyasu
所属研究機関名：信州大学
部局名：学術研究員医学系（医学部附属病院）
職名：講師
研究者番号（8桁）：70464089

研究分担者氏名：浅香 亮一
ローマ字氏名：Asaka Ryoichi
所属研究機関名：信州大学
部局名：学術研究員医学系（医学部附属病院）
職名：助教
研究者番号（8桁）：00623688

(2)研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。