

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：82504

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03602

研究課題名(和文) 進化型抗がん分子標的アルキル化剤開発

研究課題名(英文) Development of novel alkylating drugs targeting oncogenic drivers

研究代表者

永瀬 浩喜 (Nagase, Hiroki)

千葉県がんセンター(研究所)・がん遺伝創薬研究室・研究所長

研究者番号：90322073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、ゲノムDNAに配列特異的に薬剤を送達させる独自合成技術を用いて、がんの原因遺伝子の変異やがんを取り巻く細胞の遺伝子そしてミトコンドリアなどのDNAを標的にしたがんの治療薬候補を複数合成しました。これらの薬剤候補で抗腫瘍効果を確認し論文発表、さらに、副作用を予測する技術開発に成功し、予測された副作用が実際に実験動物で起こることを確認し論文発表しました。また、DNA結合化合物を利用して血液中のDNAからがん特異的遺伝子変異を同定する方法を開発し、早期大腸がんも診断できることを確認し、論文発表しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今までの低分子薬剤は蛋白質やRNAを標的にするものが主で、直接細胞のゲノムDNAを配列特異的に標的にする化合物をデザイン・合成する技術はあまり注目されていませんでした。本課題では新たなゲノムDNAを標的にする手法で副作用を予測した上で抗癌治療薬を開発できる可能性を示すことが出来、加えて同技術の応用でがんの早期診断が可能になる技術も開発でき学術的な意義及び社会的意義は大きかったと考えます。さらに本技術はコロナウイルス感染治療にも応用できる可能性があり、感染症専門家との共同研究にも着手できました。

研究成果の概要(英文)：Using our state-of-art drug development technology many anti-cancer drug candidates have been synthesized and found anti-cancer effect in animal models. Since unexpected side-effect is a major problem of drug development, an algorithm to predict side-effects has been developed by using machine learning techniques. Predicted side effect has been confirmed using mouse models of human cancer after drug candidate administration. We believe our technology should allow us to develop new anti-cancer drugs for precision medicine. In addition DNA binding molecules can be used for early diagnosis and new blood test to diagnose cancer even in early stage has been identified.

研究分野：腫瘍学

キーワード：分子標的治療 ゲノムDNA 個別化治療 早期がん血液診断 DNA副溝結合化合物 アルキル化剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

癌を起こす主たる原因である癌原遺伝子ドライバーオンコジーンを標的にした薬剤は極めて強い抗腫瘍効果を示すことが確認され、画期的治療薬 (Breakthrough Therapy) として、第3相試験を省略し販売後調査で販売できる制度で販売承認されている。このことはドライバーオンコジーンに依存 (Oncogene Addiction) した症例では、その標的分子を抑制できれば強い抗腫瘍効果が期待できることを示している。このような分子標的薬剤では多くの場合、癌細胞特異的な変異 (点突然変異や小欠失、挿入もしくは転座、増幅など) を伴い、コンパニオン診断が同時に行われ有効例が選択され高い奏効率での治療を可能としている。例を挙げると、慢性骨髄性白血病の融合蛋白質 BCR-ABL の阻害剤イマチニブ (Chemother Res Pract. 2014;357027. doi: 10.1155/2014/357027.)、EGFR 変異を有する肺癌患者に劇的な有効性を示すイレッサ (Science. 2004; 305(5687):1163-1167)、HER2 の高発現に由来する乳癌患者に有効なトラスツズマブ (Nat Rev Clin Oncol. 2011; 9(1):16-32)、メラノーマの BRAF 変異に対するベムラフェニブ (Nat Rev Cancer. 2014;14(7):455-67.)、ALK 陽性肺癌に対するクリゾチニブ (Mano H. Cancer Discov. 2012;2(6):495-502.)、近年薬剤開発が困難であった KRAS に対しても G12C 変異に対しては、分子標的薬が開発され、臨床試験で効果が示されている。さらにドライバー遺伝子ではないが、Cancer Immunotherapy (がん免疫治療) における CTLA4 (N Engl J Med. 2010 ; 363:711-723)、PD1 (Lancet. 2014 ;384(9948):1109-17)、PDL1 (N Engl J Med. 2012 ; 366:2455-2465) を標的とした治療も注目を集め、根治不能症例においても治療効果が確認されている薬剤も認められる。分子標的治療と既存の化学療法や放射線・外科療法などを組み合わせることで、相乗的な治療効果も報告されている。ところが低分子化合物では合成が困難な標的分子、複数のドライバーが関与するなどが原因で分子標的治療薬がない、分子標的薬に対する耐性変異が生じるなど治療困難となる症例も多く、新たな治療薬開発が待たれている。

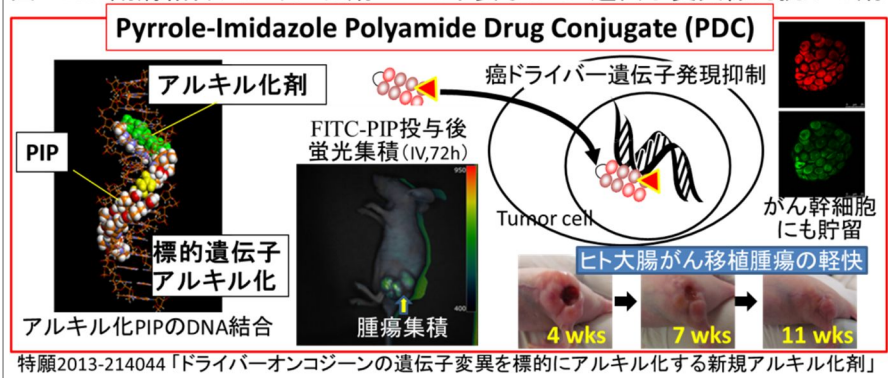
一方、感染症には抗生物質が汎用されているが、マイトマイシン C など一部は抗癌抗生物質として知られ、マイナーグループ

バインダー (MGB) として DNA の副溝に数塩基の配列を認識し結合、他の生物種を攻撃できる特徴を持つ。我々はこの天然由来抗生物質をより長い DNA 二重らせん配列 (8-10 塩基) を認識できる化合物 (ピロールイミダゾールポリアミド薬物複合体: PDC) として合成することに成功し、ドライバーオンコジーン変異配列標的アルキル化剤 KR12 を開発した (図1)。抗生物質同様 DDS なしに実験動物に投与でき、腫瘍細胞に取り込まれ、実験動物の腫瘍に特異的に蓄積・腫瘍内だけに長期に貯留し、変異 KRAS 発現を抑制、腫瘍縮小効果を示し、安全性も高い化合物であると確認した (Hiraoka et al. Nature Commun. 2015; 6:6706)。この PDC 合成技術をさらに発展させ、様々な抗腫瘍標的 DNA 配列に対し、治療薬候補を合成し、さらに副作用等を軽減する手法が開発できれば、それぞれのがん患者に個別に対応できる治療法として開発できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

我々は、ゲノム DNA に配列特異的に薬剤を送達させる技術の確立に精力的に取り組み、腫瘍特異的に薬剤を集積・貯留させ、標的ドライバーオンコジーン (必須癌原遺伝子) の変異アレール発現を抑制し、さらに DNA 損傷による細胞死のシグナルを ON にすることで、ヒトがん実験動物モデルで変異腫瘍特異的な著名な腫瘍縮小・担癌マウスでの延命効果を示す PDC 化合

図1 DNA副溝結合アルキル化剤: DDS不要ながん・遺伝子変異標的抗がん剤



物を合成することに成功している。さらに実験動物での安全性も確認できたことより、この技術を用いたがん治療薬剤開発の可能性をさらに発展させるべきと考え、がんドライバー変異を標的にした様々な化合物の合成とその効果および最適化を検討してきた。さらにがん周囲の細胞や核外の DNA を標的にすることを試み、より効果的に抗腫瘍効果を得る化合物を合成するために、薬剤の腫瘍集積機序、標的選択性、副作用の軽減についての基礎レベルでの検討を行い、創薬開発技術の確立を目指すことを目的に本課題を行った。

### 3. 研究の方法

PDC 化合物をがんにより有効に作用させるため、腫瘍および周囲微小環境細胞への化合物の取り込み、集積、貯留効果を細胞レベルおよび実験動物モデルにおいて検討し、その機序を明らかにする。また標的ゲノムの選択制からより効果的に腫瘍細胞死を誘導でき、複合的な標的阻害と DNA 損傷による相乗的な抗腫瘍効果を期待できる薬剤さらに薬剤抵抗性機構から回避できる薬剤の設計を試みる。上記の効果を維持したうえで、KRASG12D/V の変異に留まらず他のシグナル遺伝子の変異を標的にした効果的に抗腫瘍効果を期待できる化合物の合成を試み、治療効果等を検討する。さらにがん患者に模擬した免疫応答性マウスモデルでの治療効果と既存の治療法や免疫チェックポイント阻害剤等との併用療法の可能性、がんミトコンドリアゲノムの変異が集積すること (Koshikawa et al. Scientific Reports 2017) に着目したミトコンドリアゲノム標的治療法の検討を行った。

さらに KR12 では肝障害の副作用を認めたため、機械学習法を利用して事前に副作用を予測する方法の確立を試みた。

アルキル化 DNA 結合化合物の合成については、バイオインフォマティクスに基づき腫瘍特異的に腫瘍核内 DNA の標的配列を認識して複数のがん関連遺伝子発現を抑制できるコンセプトの PDC 化合物を設計、半自動固相合成法を用いて DNA 配列認識骨格を合成、液相合成で低分子機能性分子との複合体を合成し、PDC として複数の化合物 (RAS、MYC、ICB、ALK、PI3K、MET、WNT、mtDNA) を合成した。合成法については MYCN 標的化合物として報告した論文を参照 (Yoda et al. Cancer Research 2019)。

また腫瘍に特異的に取り込まれ、蓄積、貯留することを確認するため、化合物の脂溶性化の影響等の検討を logP 値の異なる水溶性、脂溶性の化合物を合成し検討した。(Inoue et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2017)

ゲノム DNA の結合部位を同定するためのアルキル化 PDC にビオチンラベル化合物の合成し、それを利用することで化合物のゲノム DNA 上での結合部位をプルダウンし、次世代シーケンサーで解析する ChemSeq 法を用い細胞株でのゲノム結合部位と化合物投与後の網羅的発現解析を行い、化合物の作用機序とその抗がん作用と副作用の予測をランダムフォレスト法による機械学習解析を行い (Lin et al. Journal of Open Source Software 2019) 担癌実験動物モデルで副作用の検討を行った (Lin et al. PLoS One 2019)。またビオチン化 PDC による血液中のがん特異的な変異 DNA フラグメントの濃縮方法 (特願: 2015-20059) を利用し、大腸癌患者循環血中浮遊 DNA を抽出し検討した (Kitagawa et al. Scientific Reports 2019)。

ミトコンドリア DNA 変異を標的にするため、ミトコンドリア誘導性の脂溶性カチオンを付加した PDC を合成し、ミトコンドリア局在、細胞老化誘導、細胞死誘導、マイトファジーの誘導、ROS の産生等についての検討実験を行った (特願 2019-053528)。

### 4. 研究成果

#### RAS 標的化合物

KRAS で最も頻度が高いコドン 12 の G12D/V の変異に対しては未だ治療薬が無いがこの治療薬候補 KR12 を合成、報告してきたが、臨床応用に当たり肝毒性が指摘された。この毒性が細胞株での遺伝子発現パターンから予測できないかまた実験動物で再現できるかを、既存の細胞株への薬剤投与と投与前後の遺伝子発現の変化の網羅的解析、ビオチン化 KR12 による ChemSeq 解析を行った。さらに実験動物に投与後の血液生化学検査、病理検査等により副作用

が発生するかを検討した。副作用の予測は同一のヒト培養細胞への既存薬の投与後の遺伝子発現パターンと副作用の相関を DrugBank データベース等の既存データと我々のデータを用いて複数の決定木の結果を合わせて機械学習を行うランダムフォレスト法で検討し予測アルゴリズムを確立論文報告 (Lin et al. Journal of Open Source Software 2019) し、さらにマウスモデルの実験で副作用が実際に起こることを個体レベルでも確認し報告した (Lin et al. PLoS One. 2019)。さらに PDC ゲノム結合部位解析法に関しては総説を英文査読誌より依頼を受け報告した (Lin and Nagase. Biomolecules 2020)。これらの結果を受け、変異配列を含む他の認識配列の選択やがんドライバー遺伝子内の他の領域および他のがんドライバー遺伝子を標的にする化合物を設計、合成を行った。また PDC に使用したアルキル化剤 CBI を含めた化合物の構造変換を行い、副作用低減の予測を行ったうえでリード化合物を再検討する研究を進めている。

また副作用を低減する目的で、薬物動態を検討することで、薬剤が副作用を引き起こす臓器に分布しない、もしくは腫瘍のみに集積することを可能にできないかと、一般的に用いる PDC の DNA 認識配列であるヘアピン型 PI ポリアミド骨格の LogP 値を変更することで薬物動態、腫瘍集積性に変化がみられるかを検討し、脂溶性を高めることで腫瘍集積性は向上するが肝臓からの胆汁排泄が増加し、水溶性とすることで腎臓からの尿排泄が向上することを見出し、論文報告した (Inoue et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2018)。この応用により抗がん活性が腫瘍で特異的に得られ、他の臓器への影響を低減する。また薬剤排泄を肝臓から腎臓からかを調節し化合物を設計できることが確認され、今後の創薬開発の一助となることを見出した。

これらの検討中で、神経芽腫のドライバー遺伝子であり、予後不良例で高頻度に遺伝子増幅を起こす MYCN 遺伝子を標的とした MYCN-A3 を設計合成した。この化合物は低濃度で抗腫瘍活性を示し、実験動物に対する毒性も低く今後期待できる薬剤候補であることが確認された。この MYCN-A3 に関しては驚くべきことに、遺伝子増幅をしているがん細胞ではがん遺伝子 MYCN のコピー数が増加し、遺伝子発現が上昇しがんの発生、悪性化に寄与するが、MYCN-A3 を投与することで MYCN 遺伝子コピー数が減少することがサザンハイブリッド解析及び FISH 解析法で確認され、さらにこの機構が MET 遺伝子の増幅に対してもそのコピー数の減弱に寄与でき、がん遺伝子のコピー数の減少による遺伝子発現の減弱とがん細胞の細胞死の誘導を引き起こすことが高取らにより確認された (Yoda et al. Cancer Research 2019)。

また宮崎大学の森下教授の依頼で設計合成した GPR5 を標的にした化合物も EVI1 高発現の AML に対して実験動物モデルで顕著な抗腫瘍活性が得られ、Scientific Reports 誌に報告された (Saha et al. Scientific Reports 2018)。

さらに癌そのもののドライバー遺伝子では無く、がん微小環境特にノーベル賞で注目された免疫チェックポイント遺伝子を標的にした化合物 CCC07-01 を設計合成した。CCC07-01 は、免疫チェックポイント遺伝子の複数の遺伝子を抑制する ICB として PD1-PD-L1 及び CTLA4 両経路を標的にした化合物を合成し、PD1、PD-L1 及び CTLA4 の 3 遺伝子の抑制を細胞株で確認、ヒト大腸がん移植ヒト化マウスモデルでの抗腫瘍効果を確認し論文準備中である。

また、核内のゲノム DNA ではなくミトコンドリアゲノムの DNA にもがんで高頻度に変異が認められ、転移性のがんで特に有意に ROS 産生性の機能性変異が多いことを確認し、Scientific Reports 誌に報告した (Koshikawa et al. Scientific Reports 2017)。このミトコンドリア DNA 変異を我々の技術で標的化出来ると考え、ミトコンドリア集積性を示す PDC の合成に成功し、AMED の希少難治性疾患の克服に結びつく病態解明研究 創薬を見据えた、ミトコンドリア病の新規病因遺伝子の発見とその病態解明 村山班の共同研究に結び付き標的ミトコンドリア変異を持つ細胞で特異的にマイトファジーの誘導、変異ミトコンドリア DNA の減少を確認した。さらに AMED 革新的中分子創薬技術の開発事業 / 先端的な中分子創薬関連技術の開発の予算も加え、標的ミトコンドリア変異をもつがん細胞で細胞老化、細胞死の誘導が導かれることを確認し、特許出願 (特願 2019-053528) を行い、「永瀬浩喜他 ミトコンドリアゲノムを標的にした治療法開発 ミトコンドリアと病期 遺伝子医学 MOOK 2020」に執筆した。ミトコンドリアゲノムの変異は、がんだけでなく小児先天性代謝疾患で最も頻度の高いミトコンドリア病や

成人の糖尿病などの生活習慣病、そして老化に關与することでも注目されており、今後の研究の発展が待たれる。

本 PDC 化合物はがん特異的な遺伝子変異を認識できることより、ピオチンラベル下 DNA 結合化合物を利用したリキッドバイオプシーによるがん特異的遺伝子変異の同定法が開発可能と考え、凸版印刷社との共同出願で特許申請 (PCT/JP2016/004530) をしていたが、本技術を実際の大腸がん患者で検討を行ったところ、ステージ I の早期大腸がんを血液で同定する診断技術開発にも成功し、論文報告を行った (Kitagawa et al. Scientific Reports 2019)。今後のがんの早期発見や再発の確認に本技術が応用できると考えさらに研究を進めている。

本課題の研究期間に様々ながんドライバー遺伝子を標的にした PDC 化合物の創薬開発に専念することができ、さらにコンパニオン診断としてのリキッドバイオプシー技術、ミトコンドリア標的や遺伝子増幅標的などの新たながん治療コンセプトを生み出すことができた。本課題を採択頂き援助いただいた文部科学省、日本学術振興会に心より感謝申し上げる。

1. Koshikawa N, Akimoto M, Hayashi J, Nagase H, Takenaga K. Association of predicted pathogenic mutations in mitochondrial ND genes with distant metastasis in NSCLC and colon cancer. *Scientific Reports* 7, 15535 2017. doi:10.1038/s41598-017-15592-2.
2. Inoue T, Shimozato O, Matsuo N, Mori Y, Shinozaki Y, Lin J, Watanabe T, Takatori A, Koshikawa N, Ozaki T and Nagase H. Hydrophobic structure of hairpin ten-ring pyrrole-imidazole polyamides enhanced tumor tissue accumulation/retention in vivo. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. May 19;26(9):2337-2344. Epub 2018 Mar 19. 2018. DOI: 10.1016/j.bmc.2018.03.029
3. 永瀬浩喜 「膵・胆道悪性腫瘍の分子診断から治療への動向」特集「Precision medicine をめざした胆道・膵悪性腫瘍ゲノム医療の最前線」胆と膵 39 巻 4 号 pp299-304, 2018.
4. Saha HR, Kaneda-Nakashima K, Shimosaki S, Suekane A, Sarkar B, Saito Y, Ogoh H, Nakahata S, Watanabe T, Nagase H, Morishita K. Suppression of GPR56 expression by pyrrole-imidazole polyamide represents a novel therapeutic drug for AML with high EVI1 expression. *Scientific Reports* 2018 Sep 13;8(1):13741. doi: 10.1038/s41598-018-32205-8.
5. Yoda H, Inoue T, Shinozaki Y, Lin J, Watanabe T, Koshikawa N, Takatori S and Nagase H. Direct Targeting of MYCN Gene Amplification by Site-Specific DNA Alkylation in Neuroblastoma. *Cancer Research* 2019 Feb 15;79(4):830-840, 2019.; DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1198
6. Lin J, Krishnamurthy S, Yoda H, Shinozaki Y, Watanabe T, Koshikawa N, Takatori A, Horton P and Nagase H. Estimating genome-wide off-target effects for pyrrole-imidazole polyamide binding by a pathway-based expression profiling approach. *PLoS One*. 2019 Apr 9;14(4):e0215247. doi: 10.1371/journal.pone.0215247. eCollection 2019.
7. Lin J, Kuo T, Horton P, Nagase H, "CRED: a rapid peak caller for Chem-seq data." *Journal of Open Source Software* 4(37): 1423, 2019. doi: <https://doi.org/10.21105/joss.01423>, (IF 1.01)
8. Kitagawa Y, Okumura K, Watanabe T, Tsukamoto K, Kitano S, Nankinzan R, Suzuki T, Hara T, Souda H, Denda T, Yamaguchi T, Nagase H. Enrichment technique to allow early detection and monitor emergence of KRAS mutation in response to treatment. *Scientific Reports* 9:11346 2019. doi: 10.1038/s41598-019-47700-9 (IF 4.525)
9. 永瀬 浩喜 PD-1 と CTLA4 両シグナルを抑制する新規免疫チェックポイント阻害剤の開発 *日本小児血液・がん学会雑誌* 2019 56:3 331-333. doi: 10.11412/jspho.56.331
10. Lin J, Nagase H. The road not taken with pyrrole-imidazole polyamides: off-target effects and genomic binding. *Biomolecules* 2020, 10(4), 544; doi.org/10.3390/biom10040544
11. 永瀬浩喜、越川信子、竹永敬三 ミトコンドリアゲノムを標的にした治療法開発 ミトコンドリアと病期 遺伝子医学 MOOK 編集：村山 圭、小坂 仁、三牧正和 第 5 章 本邦における創薬開発 (ISBN978-4-909508-06-5) 2020 年 5 月 10 日発行 pp218-223

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Lin J, Nagase H	4. 巻 10(4)
2. 論文標題 The road not taken with pyrrole-imidazole polyamides: off-target effects and genomic binding.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 544 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.3390/biom10040544	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takenaga K, Akimoto M, Koshikawa N, Nagase H.	4. 巻 15(4)
2. 論文標題 Cancer cell-derived interleukin-33 decoy receptor sST2 enhances orthotopic tumor growth in a murine pancreatic cancer model.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0232230 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0232230	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koshikawa N, Akimoto M, Hayashi J, Nagase H, Takenaga K.	4. 巻 7
2. 論文標題 Association of predicted pathogenic mutations in mitochondrial ND genes with distant metastasis in NSCLC and colon cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15535 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-15592-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kitagawa Yoshiyasu, Okumura Kazuhiro, Watanabe Takayoshi, Tsukamoto Kei, Kitano Shiro, Nankinzan Rino, Suzuki Takuto, Hara Taro, Soda Hiroaki, Denda Tadamichi, Yamaguchi Taketo, Nagase Hiroki	4. 巻 9
2. 論文標題 Enrichment technique to allow early detection and monitor emergence of KRAS mutation in response to treatment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-47700-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirano H, Nagasaki-Maeoka E, Ishizuka Y, Takatori A, Watanabe Y, Hoshi R, Yoshizawa S, Kawashima H, Uekusa S, Sugito K, Uehara S, Fukuda N, Nagase H, Takayama T, Soma M, Koshinaga T and Fujiwara K.	4. 巻 36
2. 論文標題 forced expression of NR4A3 induced differentiation of human neuroblastoma-derived NB1 cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical Oncology	6. 最初と最後の頁 66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12032-019-1289-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lin Jason, Kuo Tony, Horton Paul, Nagase Hiroki	4. 巻 4
2. 論文標題 CRED: a rapid peak caller for Chem-seq data	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Open Source Software	6. 最初と最後の頁 1423 ~ 1423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21105/joss.01423	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Lin Jason, Krishnamurthy Sakthisri, Yoda Hiroyuki, Shinozaki Yoshinao, Watanabe Takayoshi, Koshikawa Nobuko, Takatori Atsushi, Horton Paul, Nagase Hiroki	4. 巻 14
2. 論文標題 Estimating genome-wide off-target effects for pyrrole-imidazole polyamide binding by a pathway-based expression profiling approach	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0215247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0215247	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inoue T, Shimozato O, Matsuo N, Mori Y, Shinozaki Y, Lin J, Watanabe T, Takatori A, Koshikawa N, Ozaki T and Nagase H.	4. 巻 26
2. 論文標題 Hydrophobic structure of hairpin ten-ring pyrrole-imidazole polyamides enhanced tumor tissue accumulation/retention in vivo.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 2337-2344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2018.03.029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saha HR, Kaneda-Nakashima K, Shimosaki S, Suekane A, Sarkar B, Saito Y, Ogoh H, Nakahata S, Watanabe T, Nagase H, Morishita K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Suppression of GPR56 expression by pyrrole-imidazole polyamide represents a novel therapeutic drug for AML with high EVI1 expression.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-32205-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoda H, Inoue T, Shinozaki Y, Lin J, Watanabe T, Koshikawa N, Takatori S and Nagase H.	4. 巻 79
2. 論文標題 Direct Targeting of MYCN Gene Amplification by Site-Specific DNA Alkylation in Neuroblastoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 830-840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-18-1198	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takagi K, Takayama T, Midorikawa Y, Hasegawa H, Ochiai T, Moriguchi M, Higaki T, Soma M, Nagase H, Fujiwara K.	4. 巻 7
2. 論文標題 Cell division cycle 34 is highly expressed in hepatitis C virus-positive hepatocellular carcinoma with favorable phenotypes.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biomed Rep.	6. 最初と最後の頁 41-46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.3892/br.2017.912.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Y, Ishizuka Y, Hirano T, Nagasaki-Maeoka E, Hoshi R, Yoshizawa S, Uekusa S, Kawashima H, Sugito K, Shinohara K, Fukuda N, Nagase H, Soma M, Koshinaga T, Fujiwara K.	4. 巻 34
2. 論文標題 ZAR1 knockdown promotes the differentiation of human neuroblastoma cells by suppression of MYCN expression.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Med Oncol.	6. 最初と最後の頁 158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1007/s12032-017-0999-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Horiuchi Y, Lin J, Shinojima Y, Fujiwara K, Moriyama M, Nagase H.	4. 巻 52
2. 論文標題 Characterizing key nucleotide polymorphisms of hepatitis C virus-disease associations via mass-spectrometric genotyping.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 441-452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.3892/ijo.2017.4209.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koshikawa N, Akimoto M, Hayashi J, Nagase H, Takenaga K.	4. 巻 7
2. 論文標題 Association of predicted pathogenic mutations in mitochondrial ND genes with distant metastasis in NSCLC and colon cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1038/s41598-017-15592-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uryu K, Nishimura R, Kataoka K, Sato Y, Nakazawa A, Suzuki H, Yoshida K, Seki M, Hiwatari M, Isobe T, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Koh K, Hanada R, Oka A, Hayashi Y, Ohira M, Kamijo T, Nagase H, Takimoto T, Tajiri T, Nakagawara A, Ogawa S, Takita J	4. 巻 18
2. 論文標題 Identification of the Genetic and Clinical Characteristics of Neuroblastomas using Genome-wide Analysis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 107513-107529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.18632/oncotarget.22495.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計37件(うち招待講演 7件/うち国際学会 8件)

1. 発表者名 辻航平、越川信子、竹永啓三、永瀬浩喜
2. 発表標題 mtDNA変異を標的としたPyrrole-Imidazole-polyamide修飾化合物による腫瘍細胞増殖抑制効果の検討
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 篠原真優、高取敦志、篠崎喜脩、越川信子、渡部隆義、リンジェイソン、下里修、永瀬浩喜
2. 発表標題 ピロールイミダゾールポリアミド化合物による免疫チェックポイント関連遺伝子発言の標的化
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 太田陽子、養田裕行、井上貴博、渡部隆義、篠崎喜脩、永瀬浩喜、高取敦志
2. 発表標題 神経芽腫のALK遺伝子異常を標的とした新規治療薬開発
3. 学会等名 第61回日本小児血液・がん学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永瀬浩喜、高取敦志、越川信子、渡部隆義、篠崎喜脩、板東俊和、杉山弘
2. 発表標題 PIポリアミド化合物によるエピゲノム治療薬開発への挑戦
3. 学会等名 第13回 トランスレーショナルリサーチワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 篠原真優、高取敦志、篠崎喜脩、越川信子、渡部隆義、南金山理乃、リンジェイソン、下里修、永瀬浩喜
2. 発表標題 免疫チェックポイント遺伝子を標的とする新規免疫チェックポイント阻害戦略の評価
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永瀬 浩喜
2. 発表標題 Drug Discovery targeting genome DNA by using Pyrrole-Imidazole polyamide-drug conjugates.
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 越川信子 竹永啓三 永瀬浩喜
2. 発表標題 Specific expression of lactate transporter MCT4 by metastasis-promoting mtDNA ND gene mutation in lung cancer.
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹永啓三、越川信子、永瀬浩喜
2. 発表標題 がん細胞が遊離する細胞外小胞にはミトコンドリアDNAが包含される
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辻本彰子、養田裕行、JasonLin、松尾仁以奈、渡部隆義、篠崎喜脩、永瀬浩喜、高取敦志
2. 発表標題 アルキル化ピロール・イミダゾールポリアミドを用いた膵癌における薬剤感受性関連遺伝子の探索
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 リン ジェyson、クリシュナムーティ サクテイシリ、養田裕行、篠崎喜脩、渡部隆義、越川信子、高取敦志、ホートン ポール、永瀬浩喜
2. 発表標題 発現プロファイリングによるDNA副溝結合剤のピロールイミダゾールポリアミドでのオフターゲット及び副作用の評価・予測
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部隆義、高取敦志、養田裕行、越川信子、篠崎喜脩、永瀬浩喜
2. 発表標題 hTERT遺伝子を標的としたPIP化合物と抗癌活性の向上を指向した誘導体の開発
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高取敦志、養田裕行、渡部隆義、篠崎喜脩、永瀬浩喜
2. 発表標題 神経芽腫におけるPARP阻害および増幅MYCN遺伝子特異的DNA傷害による治療戦略
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐久間誠、辻航平、渡部隆義、越川信子、竹永啓三、永瀬浩喜
2. 発表標題 mtDNA変異を標的にした修飾PIポリアミドによるROS産生亢進と細胞増殖の抑制
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 太田陽子、養田裕行、井上貴博、渡部隆義、篠崎喜脩、永瀬浩喜、高取敦志
2. 発表標題 神経芽腫のALK遺伝子異常を標的とした新規治療薬開発
3. 学会等名 第61回日本小児血液・がん学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 篠原真優、高取敦志、篠崎喜脩、越川信子、渡部隆義、リンジェイソン、下里修、永瀬浩喜
2. 発表標題 ピロールイミダゾールポリアミド化合物による免疫チェックポイント関連遺伝子発言の標的化
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会プログラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辻航平、越川信子、竹永啓三、永瀬浩喜
2. 発表標題 mtDNA変異を標的としたPyrrole-Imidazole-polyamide修飾化合物による腫瘍細胞増殖抑制効果の検討
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会プログラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H.Nagase, K. Fukushima, A. Hattori, M. Shinohara, A. Takatori, T. Watanabe, N. Koshikawa, T. Inoue, J. Lin, Y. Shinozaki
2. 発表標題 Development of a new innovative multifunctional immune checkpoint inhibitor
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1 . 発表者名 A.Takatori , H. Yoda , T.Inoue , K.Hiraoka , S.Krishnamurthy , T.Watanabe , Y. Shinozaki , S.Wakana , H. Nagase
2 . 発表標題 Development of novel therapeutic agents targeting amplified genomic region of oncogenes in neuroblastoma
3 . 学会等名 Advances in Neuroblastoma Research 2018, ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Y. Ota, H. Yoda, T. Inoue, T. Watanabe, Y. Shinozaki, A. Takatori, H. Nagase
2 . 発表標題 Targeting anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene alteration by using an alkylating pyrrole-imidazole polyamide in neuroblastoma
3 . 学会等名 Advances in Neuroblastoma Research 2018, ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 H.Nagase, A.Takatori, T.Watanabe, N.Koshikawa, T.Inoue, J.Lin, A.Tsujimoto, Y.Shinozaki
2 . 発表標題 Targeting the RAS Gene Against Cancer
3 . 学会等名 The 6th JCA-AACR Special Joint Conference ( 招待講演 ) ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 J.Lin, A.Takatori, P.Horton, H. Nagase
2 . 発表標題 Chem-seq: Evaluation of Genomewide Binding Effects of DNA Minor Groove-Binding Pyrrole Imidazole Polyamides
3 . 学会等名 RECOMB/ISCB Conference on Regulatory and Systems Genomics with DREAM Challenges 2018 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名	H.Nagase, K.Fukushima, A.Hattori, M.Shinohara, A.Takatori, T.Watanabe, N.Koshikawa, T.Inoue, J.Lin, Y.Shinozaki
2. 発表標題	Sequence-specific alkylating pyrrole-imidazole polyamide conjugates targeting multiple immune checkpoints.
3. 学会等名	11th AACR-JCA Joint Conference on Breakthroughs in Cancer Research (国際学会)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Hiroki Nagase, Atushi Takatori, Takayoshi Watanabe, Nobuko Koshikawa, Jason Lin,
2. 発表標題	・ A pyrrole-imidazole polyamide conjugate targeting KRAS oncogenic mutations is a promising approach against KRAS mutated colorectal and pancreatic cancers
3. 学会等名	AACR Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年	2017年

1. 発表者名	高取敦志、養田裕行、井上貴博、渡部隆義、越川信子、若菜茂晴、永瀬浩喜
2. 発表標題	Anti-tumor effect and safety of PI polyamide alkylating agent targeting the amplified MYCN gene in neuroblastoma
3. 学会等名	第64回 日本実験動物学会総会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名	井上貴博、下里修、松尾仁以奈、篠崎喜脩、渡部隆義、高取敦志、越川信子、尾崎俊文、永瀬浩喜
2. 発表標題	PI ポリアミドにおける一次構造変化と腫瘍集積性との関連
3. 学会等名	第26回 日本癌病態治療研究会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名 永瀬浩喜、越川信子
2. 発表標題 がんゲノムを標的にしたピロールイミダゾールポリアミド化合物薬物複合体
3. 学会等名 第21回 日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 永瀬浩喜、高取敦志、越川信子、渡部隆義、井上貴博、クリシュナムーティ サクティシリ、Jason Lin、篠崎喜脩
2. 発表標題 ピロール・イミダゾール・ポリアミドによる標的ゲノム領域におけるエピジェネティクスへの容喙
3. 学会等名 第30回モロシヌス研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 永瀬浩喜
2. 発表標題 疾患ゲノム標的化合物の開発
3. 学会等名 千葉大学再生システムと疾患・癌エピゲノム公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡部 隆義、篠崎 喜脩、井上 貴博、越川 信子、高取 敦志、永瀬 浩喜
2. 発表標題 放射性小分子標識腫瘍遺伝子標的アルキル化剤によるin vivoイメージング法の開発
3. 学会等名 第76回 日本癌学会学術集会
4. 発表年 2017年



1. 発表者名	S.Krishnamurthy, A.Takatori, H.Yoda, K.Hiraoka, T.Inoue, Y.Shinozaki, T.Watanabe, N.Koshikawa, H.Nagase
2. 発表標題	Targeting a PIK3CA gene hotspot mutation with Pyrrole Imidazole polyamide seco-CBI conjugate in cervical cancer
3. 学会等名	第76回 日本癌学会学術集会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名	井上貴博、下里修、松尾仁以奈、篠崎喜脩、渡部隆義、リンジェイソン、高取敦志、越川信子、尾崎俊文、永瀬浩喜
2. 発表標題	ピロールイミダゾールポリアミドの疎水性が薬物動態に与える影響
3. 学会等名	第76回 日本癌学会学術集会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名	永瀬浩喜
2. 発表標題	KR12, a KRAS targeting DNA alkylating agent is well tolerated and promising drug candidate for patients with KRAS mutated colorectal and pancreatic cancers
3. 学会等名	第55回 日本癌治療学会学術集会
4. 発表年	2017年

1. 発表者名	J. Lin、高取敦志、平岡桐子、養田 裕行1、S.Krishnamurthy、井上貴博、渡部隆義、T. Kuo、篠崎喜脩、越川信子、P. Horton、永瀬浩喜
2. 発表標題	Design of a next-generation affinity-enrichment Chem-seq sequencing procedure to assess the biochemistry of minor-groove-binding pyrrole-imidazole polyamides.
3. 学会等名	ConBio2017
4. 発表年	2017年

1. 発表者名 永瀬 浩喜
2. 発表標題 PIポリアミドによる病因性ミトコンドリアDNA変異関連疾患の治療
3. 学会等名 ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 永瀬 浩喜
2. 発表標題 がんのアキレス腱を標的にKRAS変異標的配列特異的アルキル化
3. 学会等名 第22回 がん研究会 国際がん化学療法シンポジウム(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 永瀬浩喜
2. 発表標題 「エピゲノムを基盤とした新規治療戦略」PIポリアミド化合物によるエピゲノム治療薬開発への挑戦
3. 学会等名 第13回 日本癌分子標的治療学会トランス-ショナルサイチ(TR)ワークショップ(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永瀬浩喜
2. 発表標題 『これからの治療薬』ポリアミド化合物の開発
3. 学会等名 第3回 ミトコンドリア病研究・患者公開フォーラム(招待講演)
4. 発表年 2018年

## 〔図書〕 計2件

1. 著者名 永瀬浩喜	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医学図書出版	5. 総ページ数 6
3. 書名 胆と膵 特集「Precision medicineをめざした胆道・膵悪性腫瘍ゲノム医療の最前線」 「膵・胆道悪性腫瘍の分子診断から治療への動向」	

1. 著者名 永瀬浩喜、越川信子、竹永敬三	4. 発行年 2020年
2. 出版社 遺伝子医学 MOOK	5. 総ページ数 6
3. 書名 ミトコンドリアゲノムを標的にした治療法開発 ミトコンドリアと病期	

## 〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 新規アルキル化剤	発明者 永瀬浩喜、服部あすか、高取敦志、渡部隆義	権利者 千葉県
産業財産権の種類、番号 特許、WO 2018/056361	出願年 2017年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 二重膜構造細胞内小器官DNA標的薬	発明者 永瀬浩喜、越川信子、渡部隆義、安井七海	権利者 千葉県
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-053528	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 二重膜構造細胞内小器官DNA標的薬	発明者 永瀬浩喜、越川信子、渡部隆義、安井七海	権利者 千葉県
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/012498	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

## 〔取得〕 計0件

〔その他〕

千葉県がんセンター研究所  
<http://www.pref.chiba.lg.jp/gan/kenkyujo/>  
 Chiba Cancer Center Research Institute フェイスブック  
<https://www.facebook.com/CCCR1.chiba.gan.kenkyujo/>  
 千葉県がんセンター研究所 創薬開発事業  
<http://www.pref.chiba.lg.jp/gan/kenkyujo/project/souyakukaihatsu.html>  
 千葉県がんセンター研究所 Facebook  
<https://www.facebook.com/CCCR1.chiba.gan.kenkyujo/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	越川 信子  (Koshikawa Nobuko)  (90260249)	千葉県がんセンター・研究所 がん遺伝創薬研究室・主席研究員    (82504)	
研究協力者	渡部 隆義  (Watanabe Takayoshi)  (60526060)	千葉県がんセンター・研究所 がん先進治療開発研究室・研究員    (82504)	
研究協力者	高取 敦志  (Takatori Atsushi)  (40455390)	千葉県がんセンター・研究所 がん先進治療開発研究室・室長    (82504)	
研究協力者	リン ジェイソン  (Lin Jason)  (80774124)	千葉県がんセンター・研究所 がん遺伝創薬研究室・博士研究員    (82504)	
研究協力者	竹永 敬三  (Takenaga Keizo)  (80260256)	千葉県がんセンター・研究所 がん遺伝創薬研究室・特任研究員    (82504)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	山本 清義 (Yamamoto Seigi)  (80783521)	千葉県がんセンター・研究所 がん遺伝創薬研究室・研究員  (82504)	