

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06570

研究課題名(和文) 疾病増悪因子の直接分解を基盤とする治療戦略

研究課題名(英文) Therapeutic strategy based on the direct degradation of disease-related proteins

研究代表者

谷内出 友美 (Yachide, Tomomi)

東京大学・定量生命科学研究所・准教授

研究者番号：20401284

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：明確な治療戦略が確立していないホルモン療法耐性乳がんの当該所望化合物創製研究を遂行した。結果、疾患増悪因子の直接分解を基盤とする医薬リードを創製することができた。具体的には、これら疾患に関与することが報告されている核内受容体エストロゲン受容体、およびがんの新たな標的として注目されているエピジェネティクス調節因子プロモドメイン(BRD)を標的として選定し、それらタンパク質の分解を誘導する化合物(選択的エストロゲン受容体ダウンレギュレーターやBRD分解誘導剤など)を創製した。また、創製化合物の作用機序解析や下流シグナルに及ぼす影響を検討することで、真に医薬リードたり得る化合物に展開した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳がんは、食の欧米化や妊娠回数の減少(女性ホルモン暴露期間の延長)に伴い、増加傾向にある。一方、閉経後乳がんやトリプルネガティブ乳がんといった、ホルモン療法耐性乳がんの当該所望化合物の創製・治療戦略は未だ確立していない。タンパクの寿命を制御する医薬は新たな治療戦略として期待されているが、その医薬化学的・生化学的情報は欠如している上、ファーマコフォアも限定されている。このような背景より、従来のホルモン療法と概念を異にする治療戦略の確立が求められている。本研究により、ホルモン療法耐性乳がん治療薬創製を目指した今後の『戦略的な基礎創薬化学研究』に革新的な方向性と学術基盤を付与することが可能である。

研究成果の概要(英文)：I carried out research on the development of novel pharmacological agents for the treatment of endocrine-resistant breast cancer, for which no clear therapeutic strategy has been established. As a result, I developed pharmaceutical lead compounds that directly degrades disease-related proteins. Specifically, I selected estrogen receptor, which has been reported to be involved in these diseases, and bromodomain (BRD), which is the epigenetic regulator and attracting attention as a candidate therapeutic target for cancer, and developed compounds that induce the degradation of these proteins (selective estrogen receptor down-regulators and BRD degradation inducers). By analyzing the mechanism of action of the discovered compounds and their effects on downstream signaling, I have developed them into compounds that can truly serve as pharmaceutical leads.

研究分野：医薬化学

キーワード：核内受容体 エピジェネティクス 構造展開 構造活性相関 タンパク質分解誘導 エストロゲン受容体
プロモドメイン 医薬品探索

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

乳がんは、女性の部位別がん罹患率が最も高いがんである上、近年、食生活の欧米化や妊娠・出産回数の減少（女性ホルモン暴露期間の延長）に伴い、増加傾向にある。乳がんの中でも、乳がん細胞の増殖に關与する、エストロゲン受容体 (ER)、プロゲステロン受容体、抗ヒト上皮増殖因子受容体 2 型 (HER2)、細胞周期関連核タンパク質である Ki67 のすべてに陰性であるものを、トリプルネガティブ乳がん (TNBC) と分類する。TNBC は、生物学的悪性度や再発率が高いだけでなく、明確な治療標的が存在しないため、従来のホルモン療法や抗 HER2 療法の効果が期待できないという問題を抱えている。本研究課題を開始する前年に、TNBC 治療効果が期待できる医薬として、プロモドメイン (BRD) 阻害活性と E3 ユビキチンリガーゼ活性を併せ持つ、BRD 分解誘導剤が報告された。BRD は、アセチル化標識されたヒストン上のアセチル化リシン (Kac) を認識することで、ヒストンアセチル基転移酵素 (HAT) や BRD and extra-terminal (BET) ファミリータンパク質などの BRD 含有タンパク質をクロマチンヘリクルートし、転写を制御する。代表的な BET ファミリータンパク質である BRD4 は、*c-myc* 等のがん遺伝子や G₁ 関連遺伝子群などの転写を促進し、がん細胞の増殖や分化、細胞周期に寄与することから医薬標的として注目され、実際いくつかの阻害剤が、白血病の治療薬として臨床試験段階にある。既報の BET 阻害剤の多くは、Kac を模倣した構造を有する、Kac に対する競合阻害剤であるが、ファーマコフォアは、トリアゾール基やキナゾリン基などに限定されている。さらに、BRD 分解誘導剤は、その抗がん活性が期待されつつあるものの、医薬化学的、生化学的情報が欠如している。

また、閉経後乳がんは、主に卵巣で産生されたエストロゲンに依存する閉経前乳がんとは異なり、副腎から分泌されたアンドロゲンから、脂肪細胞や乳がん組織に存在するアロマターゼにより変換されたエストロゲンに依存する乳がんである。治療薬として ER アンタゴニストやアロマターゼ阻害剤が用いられているが、全身のエストロゲン濃度の低下による様々な副作用や薬剤耐性が問題となっている。そこで、近年 ER アンタゴニスト活性とユビキチン-プロテアソームシステム (UPS) を介した ER 分解促進活性を併せ持つ選択的 ER ダウンレギュレーター (SERD) が報告された。SERD として、国内で初めて Fluvestrant が閉経後乳がん治療薬として承認されたが、ステロイド骨格を有しており、それに伴う副作用が懸念されている。しかし、非ステロイド型 SERD は未だに臨床応用されていない。

以上のように、近年、SERD や BRD 分解誘導剤が報告され、タンパクの寿命を制御する医薬が、閉経後乳がんや TNBC、CRPC の新たな治療戦略として期待されている。しかし、その医薬化学的・生化学的情報は欠如している上、ファーマコフォアも限定されている。このような背景より、非ステロイド型 SERD や、新規骨格を有する BRD 分解誘導剤の創製といった、当該所望化合物の創製や、それに伴う、従来のホルモン療法と概念を異にする、タンパクの寿命制御といった治療戦略の確立が求められている。

2. 研究の目的

前述の学術的背景を踏まえ、本研究課題では、BRD、ER といったタンパク質の寿命を制御（分解）する化合物を創製することにより、従来のホルモン療法では明確な治療効果が期待できず、当該所望化合物の創製・治療戦略は確立していない、閉経後乳がんやトリプルネガティブ乳がんなどの治療戦略を提案することを目的とした。

本研究課題は、基礎的な医薬化学研究であるが、従来のようなタンパクが独立して持つ固有の機能を制御するのではなく、タンパク質の寿命を制御するという点において、従来の性ホルモン依存性がんを対象とした分子標的薬、ホルモン療法薬、抗がん剤の開発と概念を異にするものであり、革新的な治療薬につながる可能性を示唆している。

また、プロモドメイン (BRD) の新規ファルマコフォアである N⁶-benzoyladenine 骨格を有する BRD4 阻害剤や、phenylphthalimide 骨格を有する ER リガンド、およびそれらの構造活性相

関といった当研究代表者本人の新たな発見（総説で発表）をベースに、構築したものであることから、独創性に富んだものであると考えている。

3. 研究の方法

本研究課題の目的を達成するために、三段階の戦略を計画した。具体的には、下記の通りである。

第一段階：タンパク分解誘導剤の創製

第二段階：分解誘導活性評価や抗がん活性を含む生物活性評価および、去勢抵抗性前立腺がん（CRPC）治療薬への応用展開

第三段階：作用機序解析（諸要因の生化学的、生物化学的な解析、各現象に関わる情報伝達系の解析など）

4. 研究成果

明確な治療戦略が確立していないホルモン療法耐性乳がんの当該所望化合物の創製研究を遂行した。詳細は以下の通りである。

最初に、研究計画の第一段階である、タンパク分解誘導剤の創製を遂行した。具体的には、疾患増悪因子の直接分解を基盤とする医薬リードの創製を目的とし、核内受容体エストロゲン受容体(ER)およびエピジェネティクス制御因子 BRD4 を標的として選定、その結果、以下（1）から（4）などの成果を上げた。

- (1) ステロイドの代替 diphenylmethane 骨格を母骨格とした選択的 ER ダウンレギュレーター (SERDs) をデザイン、合成した。
- (2) また、創製した非ステロイド型 SERDs の構造活性相関を取得すべく、計算化学により得られた情報に基づく構造展開を行った。結果、構造活性相関に関しても一定の解答を得ることができた。
- (3) ER リガンド創製研究で得られた結果や情報等を元に、ケミカルスペースの拡張を図った。つまり、従来の創薬化学では利用が限定的であった種々のヘテロ原子に着目した画期的な構造展開を行った。
- (4) 当研究代表者の発見した *N*⁶-benzoyladenine 骨格を有する BRD4 阻害剤を基盤とした BRD4 分解誘導剤をデザイン、合成した。

続いて、創製した化合物群を用いて、研究計画の第二段階である分解誘導活性評価や抗がん活性を含む生物活性評価を行った。その結果、以下（5）から（7）などの成果を上げた。

- (5) スクリーニングの効率化を図るため、Emerald luciferase を融合した ER α を安定発現した HEK-293 細胞株を樹立し、定量的かつハイスループットなルシフェラーゼを基盤とした SERDs 活性の新規評価系の構築に成功した。
- (6) 構築した（4）の評価系を用い、合成した新規 SERDs の ER 転写活性を評価した。また、それらの ER 結合能評価やヒト乳がん細胞 MCF 細胞を用いた内在性 ER の分解誘導活性評価も行った。
- (7) 合成した新規 BRD4 分解誘導剤の BRD4 結合能を評価した。また、白血病細胞 HL-60 細胞を用いた内在性 BRD4 の分解誘導活性も評価した。

さらに、研究計画の最終段階である作用機序解析（諸要因の生化学的、生物化学的な解析、各現象に関わる情報伝達系の解析）を遂行することで、創製したホルモン療法耐性乳がん治療のための医薬リードの有用性を実験的に証明した。結果、以下（（8））などの成果を上げた。

- (8) 構築した（4）の評価系等を用いた作用機序解析を行い、創製した SERDs のプロテオソーム依存的な ER α の分解を確認した。

これら一連の研究により、創製した各種新規タンパク分解誘導剤は、閉経後乳がんや TNBC、CRPC の新たな治療薬につながる可能性を示唆しているだけでなく、タンパク質の寿命を制御するという、新たな治療戦略の有用性を実験的に実証できる可能性がある。以て、ホルモン療法耐性乳がん治療薬創製を目指した今後の『戦略的な基礎創薬化学研究』に革新的な方向性と学術基盤を付与することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nanjyo Shun, Ohgane Kenji, Yoshioka Hiromasa, Makishima Makoto, Hashimoto Yuichi, Noguchi-Yachide Tomomi	4. 巻 27
2. 論文標題 Structure-activity relationship study of estrogen receptor down-regulators with a diphenylmethane skeleton	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 1952-1961
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bmc.2019.03.042	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 Ryo Eto, Takashi Misawa, Tomomi Noguchi-Yachide, Nobumichi Ohoka, Masaaki Kurihara, Mikihiro Naito, Masakazu Tanaka, Yosuke Demizu	4. 巻 26
2. 論文標題 Design and synthesis of estrogen receptor ligands with a 4-heterocycle-4-phenylheptane skeleton	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 1638-1642
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bmc.2018.02.010	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 Ryuta Shioi, Yosuke Toyota, Tomomi Noguchi-Yachide, Minoru Ishikawa, Takao Yamaguchi, Makoto Makishima, Yuichi Hashimoto, and Kenji Ohgane	4. 巻 97
2. 論文標題 Unexpected Emergence of Luciferase-Inhibitory Activity During Structural Development Study of Phenylloxadiazole-Based PPAR Ligands	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 HETEROCYCLES	6. 最初と最後の頁 854-864
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3987/COM-18-S(T)61	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4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 T. Noguchi-Yachide, K. Ohgane, Y. Hashimoto
2. 発表標題 Development of bioactive compounds based on bis-aryl (6-X-Y-6) skeleton.
3. 学会等名 BIOHETEROCYCLES 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷内出友美
2. 発表標題 薬の研究って何だろう？
3. 学会等名 かながわりケジョ・エンカレッジプログラム（かながわ女性の活躍応援団啓発講座）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomomi Noguchi-Yachide, Seika Amemiya, Takao Yamaguchi, Yuichi Hashimoto
2. 発表標題 Development of dual BRD4/HDAC inhibitors
3. 学会等名 RICT2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 谷内出友美、南條舜、大金賢司、橋本祐一
2. 発表標題 ERダウンレギュレーターの構造活性相関研究
3. 学会等名 レチノイド研究会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Tomomi Noguchi-Yachide (edited by Ramon Cacabelos)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Academic Press	5. 総ページ数 11 (total 986)
3. 書名 Pharmacoeigenetics -Translation Epigenetics Series- Volume 10	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京大学定量生命科学研究所生体有機化学研究分野
<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chem/IMCB-8ken-HP/Index.html>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------