

令和元年6月10日現在

機関番号：35303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15638

研究課題名(和文) アカデミア創薬による肺扁平上皮癌治療のための新規臨床化合物の同定

研究課題名(英文) Identification of novel candidate compounds for the treatment of lung squamous cell carcinoma by academic drug discovery

研究代表者

深澤 拓也 (Fukazawa, Takuya)

川崎医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20379845

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、癌特異的増殖因子であるMidkineに対する特異的阻害剤：iMDKの開発を行い、当該低分子化合物がPI3Kinase/AKTを阻害し、肺癌に対し抗腫瘍効果を誘導できること報告した。今回iMDKをリード化合物とする誘導体の合成を行いこれらの小分子化合物の抗腫瘍性を検討した。ヒト肺扁平上皮癌株HCC95において、派生化合物のうち、2種はiMDKよりも低濃度で抗腫瘍性を示した。また当該2種化合物は低濃度でAKTのリン酸化を抑制し、さらにapoptosisを誘導した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺扁平上皮癌における有効な分子標的療法は未だ樹立されていない。その中で近年、肺扁平上皮癌の増殖・進展におけるPI3Kinaseの関与が報告され、また米国癌ゲノムアトラス研究ネットワーク(The Cancer Genome Atlas Research Network)から肺扁平上皮癌の多くにPIK3CA変異が認められることが報告されている。検討に用いたHCC95株など、これらの腫瘍においてはしばしば、下流のAKTの活性化が見られる。派生化合物X,Yは当該肺癌細胞株に対し低濃度で抗腫瘍性を示し、臨床化合物として有望と考えられた。

研究成果の概要(英文)：We have developed a specific inhibitor for cancer-specific growth factor Midkine: iMDK, and reported that the small compound can inhibit PI3Kinase / AKT pathway and induce an antitumor effect in lung cancer. In the present study, by optimizing the structure, we have synthesized derivatives of iMDK as the lead compound and investigated the antitumor properties of these small molecule compounds. In HCC95 lung squamous cell carcinoma cells, two of the newly synthesized compounds showed antitumor activity at lower concentrations than iMDK. Furthermore, immunoblot revealed that these two compounds suppressed the phosphorylation of AKT at low concentration and induced apoptosis.

研究分野：非小細胞肺癌、胸膜中皮腫に対する新規補助療法の開発

キーワード：Midkine 分子標的治療法 肺扁平上皮癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

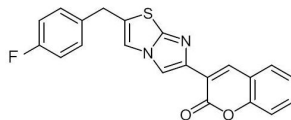
1. 研究開始当初の背景

我々は、癌特異的増殖因子である Midkine に対する特異的阻害剤：iMDK の開発を行い、当該低分子化合物が PI3Kinase/AKT を阻害し、肺癌に対し抗腫瘍効果を誘導できること報告した (Fukazawa T et al. PLoS One. 8: e71093. 2013, Exp Cell Res. 335: 197-206. 2015)。今回我々は、新たに米国 San Diego にある Sanford-Burnham Medical Research Institute (SBMRI) との共同研究により iMDK (図 1) をリード化合物とする誘導體 (derivatives) の合成に成功した (2015 年 10 月 1 日現在 92 種の派生化合物の合成ができています)。

近年、肺腺癌における EGFR 遺伝子変異や EML4-ALK fusion に対する分子標的療法が、治療に欠かせないモダリティーとなっている一方で、肺扁平上皮癌に対する有効な標的治療法は確立されていない。

近年、肺扁平上皮癌の多くで PIK3CA 遺伝子変異や PI3Kinase の活性化がみられることが報告されてきている。本研究において、上記 iMDK 派生化合物の最適化と抗腫瘍効果の解析を行うことで、肺扁平上皮癌に対する臨床試験、また新たな臨床研究への展開へと繋がる有効かつ低毒性の治療薬開発を目指す。

図1 iMDK構造式



2. 研究の目的

本研究の目的は、iMDK 派生化合物からの最適化ならびに薬効試験を行うことで、手術不能進行肺扁平上皮癌への臨床試験に繋がる新規臨床化合物の創出にある。世界で年間約 130 万人の肺癌死亡があり、40 万人が扁平上皮癌であることが報告されている。また本邦における肺癌死亡数は、癌死亡の約 2 割に達している (7 万人) (厚生労働省・平成 23 年人口動態統計)。本研究により、手術不能な肺扁平上皮癌に対する新規分子標的療法を開発することができれば、その学術的意義は大きい。また Midkine の発現のある癌腫、PI3Kinase が活性化している癌腫は多く (Muramatsu T. J Biochem. 132:359-71.2002, Oglino S et al. Oncogene. 33:2949-55. 2014)、本研究成果は多種の癌治療にも応用できることが期待される。

3. 研究の方法

1) iMDK 誘導體の肺癌細胞株を用いた薬効の解析

PIK3CA 遺伝子増幅また、変異を持つ肺扁平上皮癌細胞株 HCC95 (University of Texas Southwestern Medical Center の Adi Gazdar 教授より入手済み) に対し、各種派生化合物を順次投与し、72 時間後の cell viability を tripan blue exclusion assay で測定した。

2) iMDK 誘導體の下流シグナルの解析

肺扁平上皮癌細胞株 HCC95 に対し、上記派生化合物投与後 48 時間後に蛋白を回収し、AKT、pAKT 発現を immunoblot 法で解析した。

3) iMDK 誘導體からの apoptosis の解析

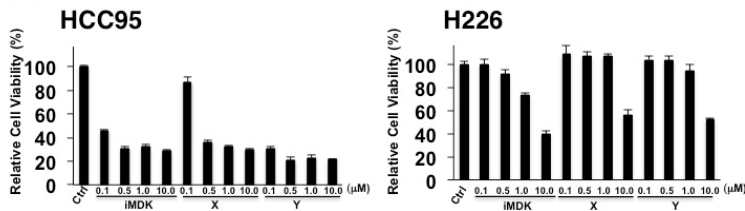
肺扁平上皮癌細胞株 HCC95 に対し、上記派生化合物投与後 48 時間後に細胞を回収し、anexin 試薬を用いて apoptosis を定量した。

4. 研究成果

1) iMDK 誘導体の肺癌細胞株を用いた薬効の解析

iMDK 誘導体 X,Y は PIK3CA 変異を持ち AKT 活性の高い肺扁平上皮株 HCC95 に対し、iMDK より低い濃度で cell viability を抑制することが出来た。一方で、上記変異の無い肺癌株 H226 においてこの効果は認められなかった (図 2)。

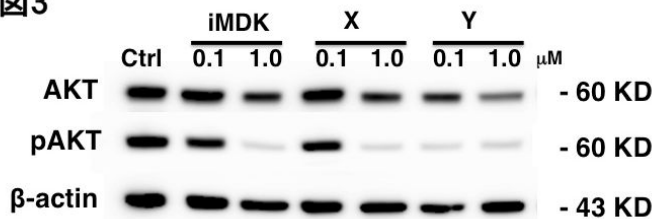
図2



2) iMDK 誘導体の下流シグナルの解析

iMDK 誘導体 X,Y は HCC95 に対し、iMDK と同等また低い濃度でリン酸化 AKT を発現を抑制することが分かった (図 3)。

図3



3) iMDK 誘導体からの apoptosis の解析

iMDK 誘導体 XY は HCC95 に対し、低濃度にて iMDK より多くの細胞に apoptosis を誘発することが出来た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

Takuya Fukazawa, Yuitaka Maeda, Tomoki Yamatsuji, Munenori Takaoka, Masakazu Yoshida, Naomasa Ishida, Miki Iwai, Etsuko Yokota, Takuro Yukawa, Minoru Haisa, Noriko Miyake, Tomoko Ikeda, Nagio Takigawa, Jeffery Whitsett, Yoshio Naomoto: Development of a novel targeted therapy for malignant mesothelioma by a midkine inhibitor.

AACR Annual Meeting 2017 (国際学会), Center, Cincinnati, OH, Washington DC, USA, 2017年4月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：METHODS AND COMPOSITIONS TO TREAT CANCER

発明者：Jeffrey A. Whitsett, 深澤拓也

権利者：Jeffrey A. Whitsett

種類：PCT/US2017/044335

番号：W0/2018/022973

出願年：2018年

国内外の別：国外

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

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：猶本 良夫

ローマ字氏名：Naomoto Yoshio

所属研究機関名：川崎医科大学

部局名：医学部

職名：特任教授

研究者番号（8桁）：00237190

研究分担者氏名：山辻 知樹

ローマ字氏名：Yamatsuji Tomoki

所属研究機関名：川崎医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：40379730

研究分担者氏名：高岡 宗徳

ローマ字氏名：Takaoka Munenori

所属研究機関名：川崎医科大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号（8桁）: 50548568

(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。