

令和 3 年 4 月 16 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07223

研究課題名(和文) パルミチン酸誘導体の大腸がん治療の臨床試験への新展開

研究課題名(英文) Development of a new anticancer agent derived from palmitic acid for the treatment of colon cancer

研究代表者

酒々井 眞澄 (Suzui, Masumi)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：30347158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：パルミトイルピペリジノピペリジン(PPI)は、天然物をリード化合物として私たちの研究グループが独自に開発した新規抗がん物質である(特許第5597427号, 2014年登録)。これまでの研究では、(1)ヒト大腸がん細胞に対する高い腫瘍選択性、(2)アポトーシス誘導、(3)血管新生抑制、(4)移植腫瘍の縮小効果、(5)大腸がんプロモーション抑制効果、(6)転写因子STAT3の2量体形成を阻害することで転写活性を抑制することがわかった。抗がん効果は既存抗がん剤より強く、腫瘍選択性が高いという優れた特性を持つため大腸がんを含む消化器がん治療の良好なリード化合物である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

STAT3の阻害薬候補は特異性や毒性の問題により臨床での実用化に至っていない。本研究成果は抗がん物質の化学構造における求核性に着目し、これを誘導体の分子設計に活かすことで特異性を向上させ、毒性の問題を解決することにつながるという学術的意義がある。いわゆる転写因子抑制薬がもつ弱点を克服し、天然脂肪酸を構造の基本骨格とする新たな創薬カテゴリーの創生につながる社会的にも意義のある研究である。

研究成果の概要(英文)：We present the first systematic study of the inhibitory effects of palmitoyl piperidinopiperidine, abbreviated as PPI (Japan Patent No. 5597427), on the colon carcinogenesis. Our investigation demonstrate (1) specific cancer cell killing activity, (2) induction of apoptosis of cancer cells, (3) inhibition of angiogenesis, (4) growth inhibition of implanted cancer cells, (5) suppression of the promotion of colon carcinogenesis, (6) inhibition of transcriptional activity of the transcription factor STAT3 by blocking the dimerization of STAT3. These novel effects of PPI provide further evidence that PPI may be a valuable lead compound in the prevention and therapy of colon cancer and possibly other gastrointestinal cancer.

研究分野：分子がん治療学、ケミカルバイオロジー、毒性学、天然医薬資源学

キーワード：天然物 抗がん物質 大腸がん 転写因子 STAT3 腫瘍選択性 構造活性相関 インシリコ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

パルミトイルピペリジノピペリジン(PPI)は、天然物をリード化合物として私たちの研究グループが独自に開発した新規抗がん物質である(特許第 5597427 号, 2014 年登録)。これまでの私たちの研究で、この物質は、転写因子 STAT3 を標的とすることがわかった。転写因子 STAT3 抑制薬開発については、インシリコ構造ベース・スクリーニングにより既知ケミカルライブラリより候補物質をしぼりこみ、細胞実験にて確認後、抗がん効果の高い物質が見いだされている(海外での研究では PNAS 102: 4700, 2005 など)。しかし、特異性や毒性の問題により臨床での実用化に至っていない。従来の抗がん薬には脂肪酸を基本骨格とするものがなく、炭素鎖 16 よりなる PPI の構造は側鎖のピペリジンあるいは窒素原子を構造中にふくむアルキル基とあわせて非常に特徴的である。IC<sub>50</sub> (50% 増殖抑制率) を指標にすると、私たちの抗がん物質は従来の STAT3 抑制薬と比べて 200 ~ 800 倍程度強力な抗がん効果をもつことがわかっている。

### 2. 研究の目的

(I) 「リガンド分子内求核性 標的分子相関」が関わる腫瘍選択性の詳しい機序解析

- a. STAT3 の 2 量体形成をどのようにして抑制するか
- b. STAT3 リン酸化への影響はあるか
- c. STAT3 が制御する分子機能(下流経路)への影響はあるか

(II) 抗がん効果の検証と腫瘍選択性機序の個体レベルでの再現確認

- a. 腫瘍組織での STAT3 リン酸化への影響を検討する
- b. 腫瘍組織での特異的分子機能への影響を検討する
- c. 上記 a, b で毒性影響(体重、臓器重量、組織)がどの程度あるかをしらべる
- d. 製剤形(遊離型、塩酸塩)に有利な投与方法(経口、注射)検討

### 3. 研究の方法

(I-a): 腫瘍選択性は N(窒素)原子周辺の 3 次元構造と STAT3 への親和性に依存していると考えられるため、STAT3 タンパクの構造上のくぼみへの入り具合(配向)をコンピュータ解析(Discovery Studio2017R2)にて検討した。(I-b): プロト A のリン酸化型 STAT3 発現への影響と、転写活性をもつのはリン酸化型 STAT3(チロシン 705)の 2 量体だけであるためリン酸化抑制へのタイミングを検討した。(I-c): STAT3 に制御される細胞周期、アポトーシス、血管新生に関わる分子発現への影響をしらべた。(II-a, b): 化学発がん剤(azoxymethane)で誘発したラット大腸前がん病変(aberrant crypt foci)を指標とし、病変数、サイズ、悪性度などを指標に大腸発がんプロモーション抑制効果を検証した。(II-c): 動物実験により、体重減少の有無、主要臓器に対する毒性影響(臓器重量、組織学的所見)を検討した。(II-d): 臨床応用を想定した有利な製剤形(遊離型と塩酸塩)を検討した(動物実験)。

### 4. 研究成果

(I-a): PPI は、STAT3 の SH2 ドメインへの結合性が示された。ドッキングスコアは既存の STAT3 特異的阻害剤である LLL-12 および STA-12 よりも高い値であった。PPI をリードとして新たに設計されたプロトタイプ化合物(プロト A)は、炭素鎖 16 の共通の構造を持つが、開環構造中に窒素原子を三つ持ち(求核性の増加)、求核性がより高められている。ドッキングスコアは PPI の倍以上であり、SH2 ドメインおよびリンカードメインへの結合性が示された。統計学的に、プロト A およびその誘導体の IC<sub>50</sub> 値とドッキングスコアには相関があることがわかった。また、PPI に比べてより優れた腫瘍特異性を発揮した。(I-b): PPI のリン酸化型 STAT3(チロシン 705)の発現を抑制した。この変化は、PPI のばく露短時間で起きることがわかり direct action であると考えられた。(I-c): PPI は細胞レベルで細胞周期調節分子で

ある cyclin D1 および p53、アポトーシス関連分子である Bcl-xL、Bcl-2、Bax、Cleaved caspase-3、7、8、9、Pro PARP、cleaved PARP、および血管新生に関わる分子である VEGF のタンパク発現に影響することがわかった。マウスに移植されたヒトがん細胞においてリン酸化型 STAT3 の発現抑制、アポトーシスコアの増加、血管数の抑制効果がみられた。(II-a, b) : PPI はラット大腸前がん病変 aberrant crypt foci に対して、特にサイズの大きい病変の発生数を有意に抑制した。この結果は、PPI が悪制度の高い細胞集団をターゲットにしていることを示唆している。(II-c) : 動物実験において、実験期間中に PPI 投与に伴う有意な体重減少は見られず、マクロおよびマイクロレベルで PPI に特異的な毒性発現は見られなかった。(II-d) : 動物実験では遊離型を使用し、注射による投与を行った。経口投与の利便性を評価するために塩酸塩の検討を行っている。また、ラット 2 週間経口投与試験では、LD50 値は 1.000 mg/kg (雄)、500 mg/kg (雌)、pKa 値と cLogD 値から PPI は消化管から吸収されることがわかった。腫瘍選択性に必須の構造(ファルマコフォア)は、炭素数が 16 の飽和炭素鎖とピペリジンあるいはアルキル鎖から成る 2 つ以上の N(窒素)原子である。(プロト A は特許第 6532730 号, 2019 年登録, プロト A およびその誘導体合わせて計 15 化合物の特許取得に成功した)。研究成果詳細については、論文 Ando et al. Int J Oncol 58: 251-265, 2021 を参照。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 Ando S, Fukamachi K, Yoshimoto E, Matsumoto H, Iinuma M, Suzui M	4. 巻 58
2. 論文標題 Palmitoyl piperidinopiperidine, a novel derivative of 10-hydroxy-2-decenoic acid, as a potent and selective anticancer agent against human colon carcinoma cell lines	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 251 ~ 265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2020.5160	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 Ichimaru Y, Kanaeda N, Tominaga S, Suzui M, Maeda T, Fujii H, Nakao M, Yoshioka H	4. 巻 82
2. 論文標題 Sasa veitchii extract induces anticancer effects via inhibition of cyclin D1 expression in MCF-7 cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nagoya J Med Sci	6. 最初と最後の頁 509 ~ 518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18999/nagjms.82.3.509	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 Fukamachi K, Hagiwara Y, Futakuchi M, Alexander DB, Tsuda H, Suzui M	4. 巻 32
2. 論文標題 Evaluation of a biomarker for the diagnosis of pancreas cancer using an animal model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Toxicol Pathol	6. 最初と最後の頁 135-144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1293/tox.2018-0062	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 Liao D, Wang Q, He J, Alexander DB, Abdelgied M, El-Gazzar AM, Futakuchi M, Suzui M, Kanno J, Hirose A, Xu J, Tsuda H	4. 巻 31
2. 論文標題 Persistent Pleural Lesions and Inflammation by Pulmonary Exposure of Multiwalled Carbon Nanotubes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemical Research in Toxicology	6. 最初と最後の頁 1025 ~ 1031
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.chemrestox.8b00067	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 Futakuchi M, Nitanda T, Ando S, Matsumoto H, Yoshimoto E, Fukamachi K, Suzui M	4. 巻 19
2. 論文標題 Therapeutic and Preventive Effects of Osteoclastogenesis Inhibitory Factor on Osteolysis, Proliferation of Mammary Tumor Cell and Induction of Cancer Stem Cells in the Bone Microenvironment	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 888 ~ 888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19030888	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 Yoshioka H, Nonogaki T, Shinohara Y, Suzui M, Mori Y, Hwang GW, Ohtani K, Miura N	4. 巻 43
2. 論文標題 Lethal chronotoxicity induced by seven metal compounds in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 129 ~ 134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.43.129	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 Otsuki R, Yamamoto M, Matsumoto E, Iwamoto S, Sezutsu H, Suzui M, Takaki K, Wakabayashi K, Mori H, Kotani E	4. 巻 114
2. 論文標題 Bioengineered silkworms with butterfly cytotoxin-modified silk glands produce sericin cocoons with a utility for a new biomaterial	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 6740 ~ 6745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1703449114	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20件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 安藤さえこ、吉本恵里、松本晴年、深町勝巳、酒々井眞澄
2. 発表標題 新規抗がん物質の効果および作用機序解析
3. 学会等名 第36回日本毒性病理学会総会及び学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安藤さえこ、深町勝巳、吉本恵里、松本晴年、酒々井眞澄
2. 発表標題 脂肪酸をリードとする新規抗がん物質の開発
3. 学会等名 2019年度「先端モデル動物支援プラットフォーム」成果発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安藤さえこ、深町勝巳、酒々井眞澄
2. 発表標題 STAT3阻害剤による新規抗がん物質の開発
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会；国立京都国際会館
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤さえこ、吉本恵里、松本晴年、深町勝巳、酒々井眞澄
2. 発表標題 脂肪酸をリードとする新規STAT3阻害物質の探索
3. 学会等名 第34回発癌病理研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤さえこ、吉本恵里、松本晴年、深町勝巳、酒々井眞澄
2. 発表標題 脂肪酸をリードとするSTAT3阻害薬の開発
3. 学会等名 第26回日本がん予防学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤さえこ、吉本恵里、松本晴年、深町勝巳、酒々井眞澄
2. 発表標題 脂肪酸をリードとするSTAT3阻害抗がん物質のcytotoxicityおよび作用機序の検証
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤さえこ、吉本恵里、深町勝巳、松本晴年、酒々井眞澄
2. 発表標題 脂肪酸をリードとするSTAT3阻害抗がん物質の開発
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤さえこ、深町勝巳、松本晴年、吉見直紀、酒々井眞澄
2. 発表標題 新規抗がん物質の特性と作用機序
3. 学会等名 第35回日本毒性病理学会総会及び学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤さえこ、深町勝巳、松本晴年、酒々井眞澄
2. 発表標題 天然脂肪酸を由来とする新規抗がん物質の作用機序解析
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安藤さえこ、深町勝巳、松本晴年、酒々井眞澄
2. 発表標題 新規物質パルミトイルピペリジノピペリジンの抗がん効果と作用メカニズムの解析
3. 学会等名 第64回日本薬学会東海支部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安藤さえこ、松本晴年、深町勝巳、酒々井眞澄
2. 発表標題 天然脂肪酸を由来とする新規抗がん物質の作用機序解析
3. 学会等名 第45回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安藤さえこ、松本晴年、深町勝巳、二口充、酒々井眞澄
2. 発表標題 パルミトイルピペリジノピペリジンの抗がん効果発現機序
3. 学会等名 第25回日本がん予防学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安藤さえこ、松本晴年、深町勝巳、酒々井眞澄.
2. 発表標題 新規抗がん物質パルミトイルピペリジノピペリジンのIn vitroおよびvivo抗がん効果.
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 安藤さえこ、松本晴年、深町勝巳、二口充、吉見直紀、酒々井眞澄.
2. 発表標題 パルミトイルピペリジノピペリジンの毒性影響および抗がん効果発現機序.
3. 学会等名 第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安藤さえこ、松本晴年、深町勝巳、二口充、酒々井眞澄.
2. 発表標題 新規抗がん物質パルミトイルピペリジノピペリジンの抗がん活性.
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安藤さえこ、松本晴年、深町勝巳、二口充、酒々井眞澄.
2. 発表標題 新規抗がん物質パルミトイルピペリジノピペリジンのin vitroおよびin vivoにおける抗がん活性.
3. 学会等名 平成29年度「先端モデル動物支援プラットフォーム」若手支援技術講習会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S. Ando, H. Matsumoto, K. Fukamachi, M. Futakuchi, N. Yoshimo, M. Suzui.
2. 発表標題 A new anticancer agent derived from decenoic acid for the treatment of colon cancer.
3. 学会等名 第32回発癌病理研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安藤さえこ、松本晴年、深町勝巳、二口充、酒々井眞澄.
2. 発表標題 パルミトイルピペリジノピペリジンの毒性影響および抗がん効果発現機序.
3. 学会等名 第44回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安藤さえこ、松本晴年、深町勝巳、二口充、酒々井眞澄.
2. 発表標題 パルミトイルピペリジノピペリジンの抗がん効果発現機序.
3. 学会等名 がん予防学術大会2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 M. Suzui, S. Ando, H. Matsumoto, K. Fukamachi, M. Futakuchi, N. Yoshimi.
2. 発表標題 A new anticancer agent derived from decenoic acid for the treatment of colon cancer.
3. 学会等名 American Association for Cancer Research Annual Meeting 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 酒々井眞澄、他著	4. 発行年 2018年
2. 出版社 化学生物総合管理学会	5. 総ページ数 32
3. 書名 化学生物総合管理	

1. 著者名 酒々井眞澄、他著	4. 発行年 2017年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 279
3. 書名 はじめの一步の病理学 第2版	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 抗がん剤	発明者 酒々井眞澄、飯沼宗和、森田彰	権利者 名古屋市立大学
産業財産権の種類、番号 特許、第6532730	取得年 2019年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

受賞（酒々井眞澄）：化学生物総合管理学会 「奨励賞」 2019. 2. 1  名古屋市立大学大学院医学研究科神経毒性学ホームページ <a href="http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/moltox.dir/index.html">http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/moltox.dir/index.html</a>
--

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