

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09775

研究課題名(和文) テロメアDNAを標的とした新規癌治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of novel anti-tumor drugs binding to the telomeric DNA structure

研究代表者

富永 和宏 (tominaga, kazuhiko)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：40188793

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：テロメラーゼは細胞の不死化に大きく関連し、あらゆる癌の80%以上に高発現しているが、正常な細胞にはほとんど発現が無い。テロメアDNAの3'末端は4本鎖構造(G-quadruplex)を有していることが近年明らかとなった。このG-quadruplexに特異的に結合するアントラキノン(AQ)の置換基を連結させた環状AQ(cAQ)の合成に成功し、そのテロメラーゼ活性阻害作用を確認した。本研究では、この物質がきわめて高い選択性を持って癌細胞と結合し、抗腫瘍効果を発揮することを細胞および個体レベルで明らかにしており、新規の癌治療薬として極めて有望であると考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌による死亡者数は年々増加しており、近年さまざまな切り口から新規の癌治療薬が開発されているが、有効で、副作用が少ないという理想的な薬剤の開発に至っていないのが実情である。テロメラーゼは正常細胞では少なく、癌細胞で極めて高率に発現していることから新たな抗癌剤開発の標的として期待され、さまざまな化合物が開発されている。

本研究ではテロメラーゼを標的とした新規化合物cAQについて、In vitroおよびIn vivoの系で癌に対する抗腫瘍効果および安全性について検討してきた。その結果、cAQは新規癌治療薬として有望であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have confirmed that cyclic anthraquinone (cAQ), which has a high binding specificity for telomeric DNA structure, exhibits a stronger growth inhibitory effect on cancer cells than on normal cells at the cultured cell level. This time, we examined the antitumor effect and safety of cAQ at the individual level.

cAQ shows an antitumor effect even at the individual mouse level, has lower toxicity to normal tissues than CDDP, and is expected to contribute to the development of a highly safe antitumor drug.

研究分野：テロメア

キーワード：テロメア テロメラーゼ 抗癌剤 抗腫瘍効果 4本鎖DNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) テロメラーゼ活性を阻害して、癌細胞の増殖を抑制するという発想の薬剤としては 4 本鎖 DNA で形成されるグアニンカルテット平面とスタッキングを効果的に行えるテロメスタチン、グアニンカルテット平面の若干のゆがみに適合できる Phen-DC3、4 本鎖 DNA の 4 つの溝に置換基を配置しアンカーとなる 4 置換ナフタレンジイミドが報告されている。本研究の予備的実験で、新たに合成した化合物 環状 NDI (cNDI) とこれら既報告の 3 薬剤を比較したが、cNDI は明らかに低濃度で腫瘍増殖抑制効果を発揮することが明らかになった。これは他の 3 薬剤に比べて cNDI がテロメアの 4 本鎖 DNA により効果的に結合するためと考えており、テロメアを標的とする、正常細胞への影響が少ない新規の癌治療薬が開発できると考えた(図 1)。

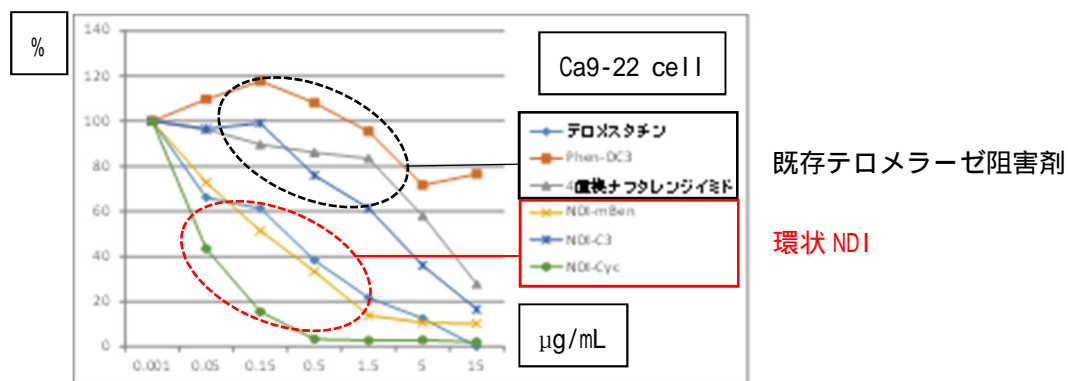


図 1. 各種テロメラーゼ阻害剤による抗腫瘍効果

(2) テロメラーゼは細胞の不死化に大きく関連し、あらゆる癌の 80% 以上に高発現しているが、正常な細胞にはほとんど発現が無い。テロメア DNA の 3' 末端は 4 本鎖構造 (G-quadruplex) を有していることが近年明らかとなったが、連携研究者である竹中らは G-quadruplex に特異的に結合するアントラキノン (AQ) の置換基を連結させた環状 AQ (cAQ) の合成に成功し、申請者らとともにそのテロメラーゼ活性阻害作用を確認した(図 2)。現在、申請者らはこの物質がきわめて高い選択性を持って癌細胞と結合し、抗腫瘍効果を発揮することを明らかにしており、新規癌治療薬として極めて有望であると考えている。

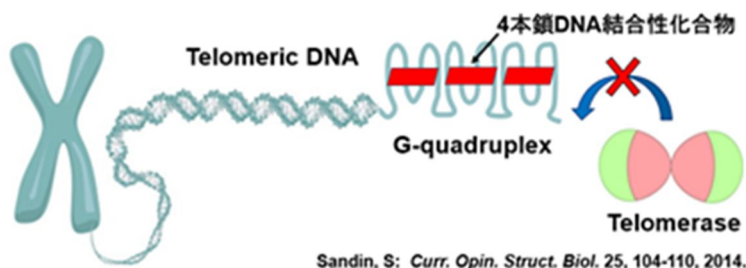


図 2. 4 本鎖 DNA 結合性化合物

4 本鎖 DNA 結合性化合物は 4 本鎖構造を安定化させテロメア反復配列をほどけなくすることで、テロメラーゼによるテロメアの伸長を阻害し抗癌効果を発揮する。

2. 研究の目的

テロメア DNA の 3' 末端側には相補鎖と対をなさない 1 本鎖部分がはみ出しており、この部分は G-quadruplex をなしている。テロメラーゼはこの G-quadruplex と結合し、活性を発現するので、この部分に特異的、競合的に結合できる化合物はテロメラーゼの活性を阻害でき、細胞の増殖を抑制すると考えられる。本研究で用いた cAQ は、4 本鎖の内テロメア DNA の 3' 末端に特徴的なハイブリッド型 G-quadruplex に特異的に結合する。この cAQ の抗腫瘍効果を in vitro および in vivo の系で確認し、新規癌治療薬開発の一助とすることが研究目的である。

3. 研究の方法

(1) *in vivo* の系では cAQ の抗腫瘍効果について細胞レベルで検討した。ヒト口腔癌由来細胞株 Ca9-22、SAS、HSC-2、KB および不死化ヒト細胞株 HeLa、HEK293 およびヒト正常上皮角化細胞ならびにマウス大腿骨から調整した骨髄細胞を用いた。細胞増殖試験は血球計数板による直接計測および WST-8 法により行った。遺伝子の発現は各細胞から調製した全 RNA を逆転写し、PCR およびリアルタイム PCR 法にて解析した。

(2) *In vivo* の系では cAQ の抗腫瘍効果および毒性についてヌードマウスを用いた個体レベルで検討した。5 週齢 KSN/S1c ヌードマウスの背部皮下に SAS 細胞を移植した担癌モデルにおいて、0.003 mmol/kg の cAQ、0.03 mmol/kg の CDDP または生理食塩水を隔日で計 5 回腹腔内投与し、抗腫瘍効果を検討した。一方、非担癌マウスでも担癌モデルと同様の薬物投与を行い、毒性について生化学的及び病理組織学的に解析した。本研究は、九州歯科大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

4. 研究成果

(1) *In vitro* の系で検討した全ての cAQ は用量依存的に細胞増殖を抑制した。中でも cAQ-mBen の ID50 値による細胞増殖抑制効果は、各細胞株における TERT 遺伝子の mRNA 発現レベルと高い関連性を示した。さらに cAQ-mBen による細胞増殖抑制効果は、CDDP との比較において、ヒト正常角化細胞やマウス骨髄細胞と比べて癌由来細胞株に対し、強い細胞増殖抑制効果を示した。

(2) *In vivo* の系では cAQ および CDDP 投与群において、いずれも有意な抗腫瘍効果を認めた。一方、CDDP 投与群では体重が減少し、血清生化学検査から腎臓および肝臓の機能異常が示唆されたが、cAQ 投与群では対照群との相違を認めなかった。また CDDP 投与群では腎臓、肝臓および精巣に既知の異常所見を認めたが、cAQ 投与群による組織学的変化を認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福田晃、土生学、富永和宏、竹内弘
2. 発表標題 テロメアDNA構造結合性化合物の癌細胞特異的増殖抑制効果の検討
3. 学会等名 第73回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田晃、土生学、笹栗正明、富永和宏
2. 発表標題 テロメアDNA構造結合性化合物による新規癌治療薬の開発
3. 学会等名 第38回日本口腔腫瘍学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田晃、竹内弘
2. 発表標題 テロメアDNA構造を標的とする新規化合物の抗腫瘍効果と有害作用に関する検討
3. 学会等名 第56回日本口腔組織培養学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田晃、土生学、富永和宏、竹内弘
2. 発表標題 テロメアを標的とする新規化合物の癌細胞増殖抑制効果の検討
3. 学会等名 第72回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福田晃、佐藤しのぶ、東泉、大住伴子、竹中繁織、富永和宏、竹内弘
2. 発表標題 4本鎖DNA結合性新規化合物の癌細胞増殖抑制効果について
3. 学会等名 第71回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fukuda, H., Sato, S., Tominaga, K., Habu, M., Takenaka, S., Takeuchi, H
2. 発表標題 Evaluation of the growth inhibitory effect of newly developed compounds targeting tetraplex DNA on normal cells and cancer cells
3. 学会等名 第11回バイオマイクロセンシング技術に関する日韓ジョイントシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福田晃、土生学、笹栗正明、富永和宏
2. 発表標題 テロメアDNA構造特異的化合物cAQの抗腫瘍効果と有害作用に関する検討
3. 学会等名 第65回日本口腔外科学会総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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