

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15676

研究課題名(和文) 抗がん剤の心毒性抑制に向けたBRD4阻害薬併用療法の開発

研究課題名(英文) Development of BRD4 inhibitor combination therapy for suppressing cardiotoxicity of anticancer drugs

研究代表者

栃内 亮太 (Tochinai, Ryota)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教

研究者番号：90833997

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：がん増殖において重要なBET family タンパク質であるBRD4を阻害することにより、良好な抗腫瘍効果を得られることが知られている。さらに、BRD4阻害薬には心不全の抑制作用もあることも明らかになってきた。これらのことから、心毒性を有する既存の抗がん剤とBRD4阻害薬を併用することにより、心毒性リスクを軽減させた化学療法が可能になると期待される。

本研究で実施したマウスおよびラットを用いた非臨床試験の成果から、心毒性が開発の障壁となっている微小管重合阻害薬とBRD4阻害薬との併用により、微小管重合阻害薬の心毒性リスクを低減した新規がん化学療法を開発できる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BRD4阻害薬の抗腫瘍効果については多くの期待が集まっており、多くの研究開発が進められている。一方、BRD4阻害薬の抗がん剤誘発性の心筋障害に対する有用性については国内外を含めてほとんど報告がなされていなかった。本研究結果により、BRD4阻害薬の心毒性抑制効果が明らかになり、BRD4阻害薬の応用可能性が広がることで新規がん化学療法の開発に繋がるものと期待される。

研究成果の概要(英文)： It is known that a good antitumor effect can be obtained by inhibiting BRD4, which is an important BET family protein in cancer growth. Furthermore, it has become clear that BRD4 inhibitors also have an inhibitory effect on heart failure. Based on these findings, it is expected that chemotherapy with a reduced risk of cardiotoxicity will be possible by using an existing anticancer drug with cardiotoxicity in combination with a BRD4 inhibitor.

Based on the results of non-clinical studies using mice and rats conducted in this study, the risk of cardiotoxicity of combretastatin A4, a microtubule polymerization inhibitors, was reduced by the combined use of a BRD4 inhibitor, and the possibility of developing a new cancer chemotherapeutic method was shown.

研究分野：病態生理学、毒性学、循環器学、獣医学、薬理学

キーワード：抗がん剤 心毒性 BRD4 microtubule JQ1 combretastatin A4

1. 研究開始当初の背景

(1)がん化学療法の進歩に伴い、抗がん剤治療後の患者の生存期間は延長している。一方で、抗がん剤の心毒性や神経毒性が患者の QOL や長期的な予後に影響するケースも増えてきており、毒性発現の予防や加齢医学的なマネジメントの重要性が認識されている。

(2) BRD4 は、MYC 等のがん遺伝子のスーパーエンハンサー部位に結合して転写を促進させ、がんの増殖に重要な役割を担っている。このことから、BRD4 阻害薬の抗がん剤として可能性に期待が集まり、既に臨床研究が実施されている。さらに近年では、BRD4 の阻害により心不全の進行を抑制できる可能性も明らかになってきた。心不全抑制のメカニズムとしては、TLR4/TRAF6/NF- κ B パスウェイを介した炎症と心筋細胞のアポトーシスの抑制であると考えられており、循環器疾患における治療薬としての可能性にも注目が集まっている。

(3)微小管重合阻害薬は、有糸分裂阻害作用を有することから、抗がん剤として応用がなされてきた。近年では、微小管上のコルヒチンバインディングサイトに結合することにより微小管の働きを妨げる新規化合物である combretastatin A4 (CA4) などにおいて、腫瘍血管破綻作用があることも確認されていることから、獣医療およびヒト医療の双方において臨床試験が実施されている。しかしながら、これらの新規化合物は薬効域と心毒性発現域の乖離が不十分であり、上市には至っていない。一方、BET ファミリータンパクの一つである BRD4 はアセチル化修飾されたヒストンと結合してがん遺伝子 c-Myc の発現を制御しており、BRD4 阻害薬が細胞増殖抑制作用を有することが明らかになっている。さらに、有糸分裂が異常停止した際に BRD4 がヒストンから分離して細胞質へ遊走し、その後再結合することで異常停止状態からの分裂プロセス再開に寄与していることも明らかにされている。

2. 研究の目的

微小管重合阻害薬と BRD4 阻害薬の併用により、微小管重合阻害薬が有糸分裂を異常停止させた後、BRD4 阻害薬が異常停止状態からの分裂プロセス再開を抑制することにより、細胞増殖抑制作用を増強するという仮説を立て検証することにした。そこで本研究では、微小管重合阻害薬 CA4 および BRD4 阻害薬 JQ1 を併用した際の非臨床試験薬効評価ならびに毒性評価を実施することにより、新たながん化学療法として開発することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)固形腫瘍由来の腫瘍細胞株を用いて、CA4 および BET 阻害薬 (JQ1) を併用した際の薬効と薬理機序について、WST-8 アッセイ、qPCR あるいは BRD4 に対する免疫組織化学染色等を用いた *in vitro* 試験系にて評価した。

(2)免疫不全動物に移植して担がんマウスを作製し、得られた動物に両剤を併用投与して *in vivo* における抗腫瘍効果を評価した。

(3)CA4 誘発性心筋障害モデルラットを作製し、JQ1 を併用した場合の CA4 誘発性心筋障害の病態を解析した。なお、抗腫瘍効果や心筋障害の解析において、機能画像解析を用いた腫瘍や臓器の血流評価を実施した。

4. 研究成果

(1)CA4 および JQ1 のいずれも、単独添加により CHMp-13a に対する濃度依存的な細胞増殖抑制作用が認められた (図 1)。

また、併用により細胞増殖抑制作用は増強された。また、CA4 および JQ1 のいずれも、単独添加により CHMp-13a における c-Myc の発現量の減少傾向が認められ、併用により顕著な発現量の減少が認められた (図 2)。

さらに、CA4 の単独添加により、CHMp-13a の細胞質内 BRD4 陽性率は増加した。一方、併用により細胞質内 BRD4 陽性率は減少した (図 3)。

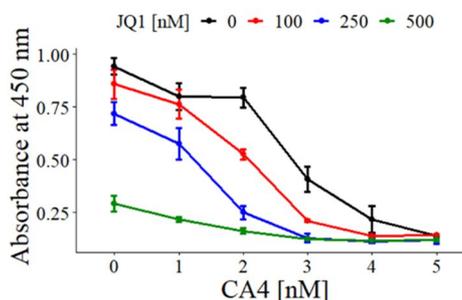


図 1. 被験薬剤の腫瘍細胞に対する細胞増殖抑制作用 (WST-8アッセイ)

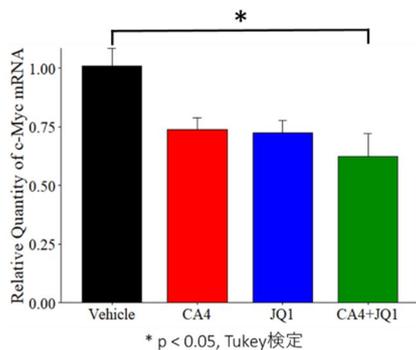


図2. 被験薬剤添加時の腫瘍細胞におけるがん遺伝子c-Mycの発現量 (qPCR)

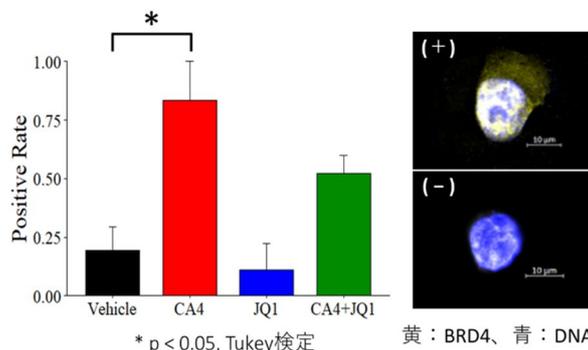


図3. 被験薬剤添加時の腫瘍細胞における細胞質内BRD4の発現割合 (免疫染色)

(2) Vehicle 群と比較して CA4 群、JQ1 群は腫瘍重量が軽い傾向にあり、CA4DP + JQ1 群は明らかに腫瘍重量が軽く、強い細胞増殖抑制作用が認められた (図4)。

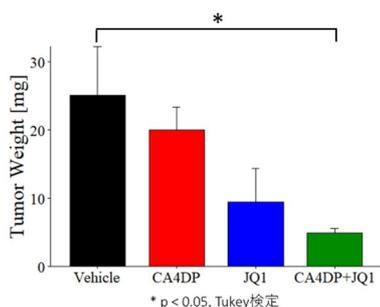


図4. 被験薬剤投与後の担がんマウスの腫瘍重量

(3) : CA4DP が投与された群では投与されない群と比較して、心拍数、Cardiac Index(心拍出量/体表面積)および Stroke Index(1 回拍出量/体表面積)は低値あるいは低値傾向を示した。さらに、これらの指標は CA4DP 群の方が CA4DP + JQ1 群と比較して、より低値傾向であった (図5)。

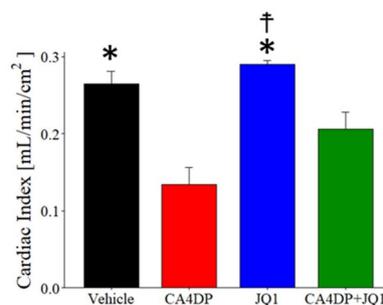
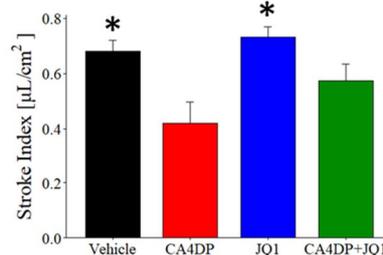
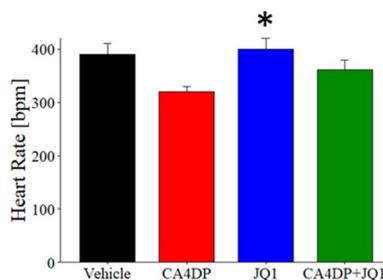


図5. 被験薬剤投与後のラットの心エコー検査結果

以上により、CA4DP と JQ1 の併用は、各単剤投与の場合と比較して、優れた細胞増殖抑制作用を示すことが明らかとなった。CA4 により誘発された有糸分裂停止時に細胞質へ遊走した BRD4 が分裂プロセス再開時に再結合することを JQ1 が阻害することにより、異常停止状態からの回復が妨げられ、細胞増殖抑制作用が増大したものと推察された。また、併用による c-Myc の発現量の顕著な抑制も細胞増殖抑制作用の増大に寄与したと考えられたが、その分子機序については、更なる検討が必要である。さらに、CA4DP を臨床応用する上での課題である心毒性は、JQ1 との併用で増悪することはなく、むしろ改善傾向が認められた。BRD4 阻害薬は心不全の進行に抑制効果があると報告されていることから、JQ1 が CA4DP 誘発性心筋障害の進行を抑制した可能性も示唆される。以上のことから、微小管重合阻害薬と BRD4 阻害薬の併用により細胞増殖抑制作用が増強するとともに、心毒性発現リスクを低減させることが可能であると考えられた (図6)。

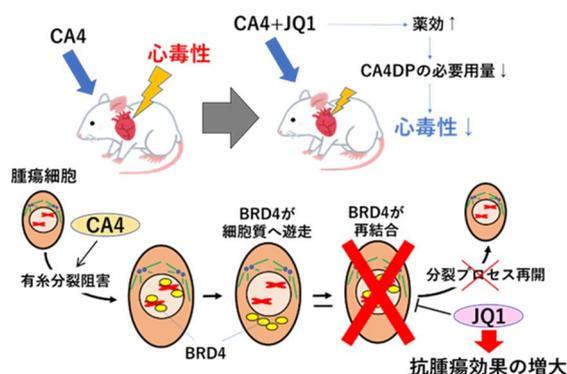


図6. CA4およびBRD4阻害薬の併用効果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 折原遥香、加藤大貴、関澤信一、武藤達士、瀧靖之、品田真央、青木督、藤田直己、中川貴之、西村亮平、桑原正貴、栃内亮太
2. 発表標題 微小管重合阻害薬とBRD4阻害薬の併用による新規がん化学療法の開発
3. 学会等名 第25回日本獣医がん学会
4. 発表年 2022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
---------	---------