

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25830110

研究課題名(和文)新規HDAC/PI3K dual inhibitorの開発

研究課題名(英文)Development of novel HDAC/PI3K dual inhibitors

研究代表者

西條 憲(SAIJO, KEN)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：70636729

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)：HDAC, PI3Kはがん治療における有力な標的分子とされている。さらにHDAC阻害剤とPI3K阻害剤の併用は殺細胞効果の相乗作用をもたらすことが報告されている。申請者らは、独自のPI3K阻害剤スクリーニングにより、文部科学省化学療法支援班の寄託化合物ライブラリーの中から、HDAC阻害剤であるデプシペプチド類縁体にPI3K阻害活性があることを新たに見出した。つまりHDAC/PI3K 2重阻害剤のリード化合物を同定した。さらに構造活性相関の解析から、活性の強い類縁体(FK-A11)を同定した。また、ヒト前立腺がん細胞移植マウスモデルにより、FK-A11の優れた抗腫瘍効果を確認した。

研究成果の概要(英文)：Both HDAC and PI3K are considered to be promising targets for cancer therapy. A combination of an HDAC inhibitor and a PI3K inhibitor potentiates the cytotoxic effect in a synergistic manner. Therefore, development of an HDAC/PI3K dual inhibitor will provide an attractive novel drug. The depsipeptide analogs have been identified as HDAC/PI3K dual inhibitors. Moreover, using structure based optimization, FK-A11 has been identified as the most potent analog. FK-A11 showed anti-tumor effects in vivo mouse model using human prostate cancer cells.

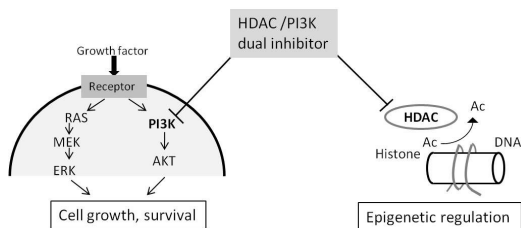
研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：分子標的薬 創薬 HDAC阻害剤 PI3K阻害剤

1. 研究開始当初の背景

がんは日本人の死因の第1位であり、総死亡の約3分の1を占める。転移・進行がん患者への治療は薬物療法が主体となる。近年、がんの薬物療法は、がん細胞において特異的に活性化した分子を標的とする分子標的薬を主体とした治療へとパラダイムシフトを迎えており、目覚ましい発展を遂げている。しかしながら、その効果は未だ十分とはいえ、より治療効果の高い、新しいがん分子標的薬の開発が期待されている。

PI3K/AKT 経路は細胞の生存と増殖に関わる主要なシグナル伝達経路の一つであるが、その異常な活性化が高頻度に生じていることが報告され、PI3K はがん治療における有力な標的と考えられている¹⁾。一方、がんの発生と増殖にはエピジェネティックな異常が深く関わるということが明らかにされており、その制御因子であるヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)の阻害剤が新しいがん分子標的薬として注目を集めている²⁾。さらに、数種のヒトがん細胞株において、PI3K 阻害剤と HDAC 阻害剤の併用は、殺細胞効果の相乗作用をもたらすことが報告されており³⁾、PI3K と HDAC をともに阻害する薬剤の開発は、難治性がんの克服に多大な貢献をするものと考えられる。



われわれは、酵母を利用した PI3K 阻害剤のスクリーニングシステムを用いて、文部科学省化学療法支援班の寄託化合物ライブラリーから、HDAC 阻害剤であるロミデプシン (FK228) およびその新規類縁体(東北薬科大学 加藤正教授が新規に合成)に PI3K 阻害活性があることを見いだした (HDAC/PI3K

dual inhibitor の同定)⁴⁾。いずれの類縁体も強力な HDAC 阻害活性を有するが、PI3K 阻害活性は類縁体ごとに異なり、構造活性相関の検討から、さらに活性の強い類縁体の同定が可能であると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 構造活性相関の検討から、シーズ化合物より活性の高い HDAC/PI3K dual inhibitor を同定する。

(2) *in vivo* 実験系において、これらの化合物の抗腫瘍活性の評価し、proof of concept を行う。

3. 研究の方法

(1) 東北薬科大学医薬合成化学教室が保有する活性未評価の FK228 類縁体について、活性の評価を行う。PI3K の酵素反応は、複数の酵素反応測定キットを用いて検討したが、その反応基質が脂質であるという特性から、安定した測定結果が得られにくいという経験があり、PI3K 阻害活性は外部委託にて測定する。また、Drug-PI3K の *in silico* ドッキングシュミレーションも行う。HDAC 阻害活性に関しては、市販の測定キットを用いる。数種のがん細胞株を用いて、MTT アッセイを行い殺細胞効果の評価を行う。

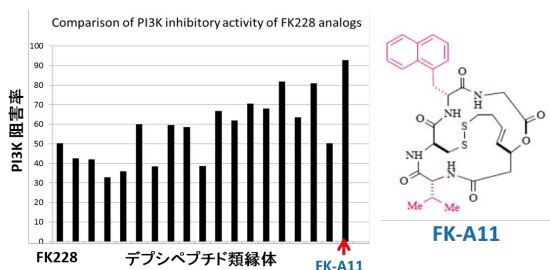
(2) ヒトがん細胞を移植し腫瘍を形成させたヌードマウスを用いて、薬剤の抗腫瘍活性の評価を行う。ヒト前立腺がん細胞株 PC-3 をヌードマウスの皮下に接種し、約 10 日後腫瘍の形成を確認し、試験物を 3 日ごとに 3 回腹腔内投与し、腫瘍径を計測し、抗腫瘍効果を評価する。

4. 研究成果

(1) *In vitro* の活性評価

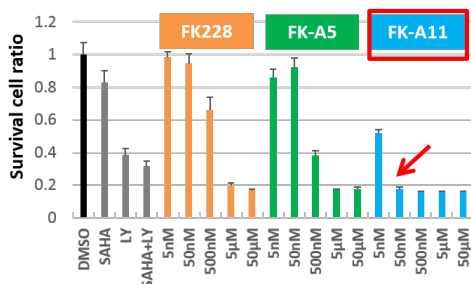
FK-A11 の同定

in vitro での HDAC 阻害活性および PI3K 阻害活性の評価から、最も活性の強い類縁体 FK-A11 を同定した。



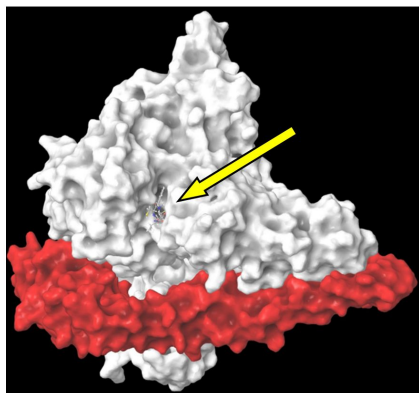
殺細胞効果の評価

FK-A11 は、殺細胞効果も他の類縁体よりも強い殺細胞効果を示した。(大腸癌細胞 RKO)



PI3K 阻害活性の特性に関する解析

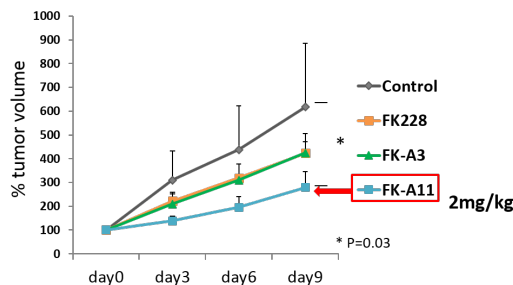
PI3K 阻害活性に関して、酵素反応速度 lineweaver-Burk plot 解析から ATP 競合阻害であることを示した。また、PI3K(P110α) の 4 つの isoform 別の阻害活性を測定することで pan-PI3K 阻害剤であることを示した。さらに 20 種のキナーゼに対する阻害活性を比較し PI3K 選択性が高い kinase 阻害剤であることを示した⁵⁾。また in silico でのドッキングモデルにおいても FK-A11 は PI3K の ATP 結合部位と高い親和性を有することを示した。



(2) in vivo での抗腫瘍効果の評価

ヒト前立腺がん細胞移植マウスモデルにより、FK-A11 が優れた抗腫瘍効果をもつこと

を示し、免疫組織染色法で HDAC/PI3K2 重阻害活性が作用していることを確認した。



引用文献

- 1) Kong D. and Yamori T. Advances in development of phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors. Cur Med Chem 16:2839-2854, 2009
- 2) Wu W. et al. Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action. Oncogene 26:5541-52, 2007
- 3) Wozniak MB. Et al. Vorinostat interferes with the signaling transduction pathway of T-cell receptor and synergizes with phosphoinositide-3 kinase inhibitors in cutaneous T-cell lymphoma. Haematologica 95:613-21, 2010
- 4) Saijo K. et al. Romidepsin (FK228) and its analogs directly inhibit PI3K activity and potently induce apoptosis as HDAC/PI3K dual inhibitors. Cancer Science, 103, 1994-2001, 2012
- 5) Saijo K. et al. Biological, biochemical and structural properties of romidpsin (FK228) and its analogs as novel HDAC/PI3K dual inhibitors. Cancer Science 106; 208-15, 2015

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Saijo K., Imamura J, Narita K, Oda A, Shimodaira H, Katoh T, and Ishioka C.

Biological, biochemical and structural properties of romidpsin (FK228) and its analogs as novel HDAC/PI3K dual inhibitors. *Cancer Science* 106; 208-15, 2015 DOI: 10.1111/cas.12585 査読有り

Oda A, Saijo K, Ishioka C, Narita K, Katoh T, Watanabe Y, Fukuyoshi S, Takahashi O. Predicting the structures of complexes between phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and romidepsin-related compounds for the drug design of PI3K/histone deacetylase dual inhibitors using computational docking and the ligand-based drug design approach. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 54; 46-53, 2014 査読有り

〔学会発表〕(計 3 件)

Ken SAIJO, Jin LEE, Koichi NARITA, Tadashi KATOH, Hideki SHIMODAIRA, and Chikashi ISHIOKA *In vivo* antitumor activity of Romidepsin analogs as novel HDAC/PI3K dual inhibitors. 第 73 回日本癌学会 2014.9.27 パシフィコ横浜 (横浜市)

李仁、西條憲、下平秀樹、成田紘一、加藤正、石岡千加史 *In vitro* および *in vivo* における PI3K/HDAC 2 重阻害剤としての FK228 類縁体の抗腫瘍効果の評価第 18 回日本がん分子標的学会学術集会 2014.6.27 仙台市産業・情報プラザ (AER) (仙台市)

西條憲、李仁、加藤正、小田章史、下平秀樹、石岡千加史 HDAC/PI3K dual inhibitor としての FK228 類縁体の同定と開発 文部科学省 新学術領域研究公開シンポジウム がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動 2014.1.30 一橋記念講堂 (東京都千代田区)

〔その他〕

ホームページ等

東北大学病院臨床研究推進センター

シーズ一覧

<http://www.crieto.hosp.tohoku.ac.jp/seedlist/#section03>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

西條 憲 (SAIJO, KEN)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号 : 70636729