

# 研究報告書

一般課題：A

(平成27年度)

平成 29年 4月 30日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 自治医科大学

住 所 栃木県下野市薬師寺 3311-1

研究者氏名 仲矢 丈雄



(研究課題)

大腸癌を促進する病的蛋白間相互作用の解明とその選択的阻害による新規治療薬の開発

---

平成28年 3月 1日付助成金交付のあった標記一般課題：Aについて研究が終了致しましたのでご報告いたします。

### 【要約】

筆者は、腸上皮幹細胞からの腫瘍形成に転写因子 KLF5 が腫瘍形成に必要であることを明らかにした。また、ヒト大腸癌で、KLF5 の発現増加が認められる。これらから、KLF5 の癌を促進する機能を選択的に抑制することで、正常細胞を傷害せず、大腸癌細胞のみ癌幹細胞から選択的に抑制できると考えられる。KLF5 を含む多くの癌促進重要因子は、立体構造に基づく阻害薬開発が困難である。そこで、独自の方法により、KLF5 の蛋白間相互作用を阻害する低分子化合物を合成した。筆者らは、KLF5 の蛋白間相互作用を阻害する化合物が、正常大腸細胞を傷害せず大腸癌細胞のみ選択的に抑制することを明らかにした。さらに、これらの化合物が、KLF5 や TCF4 等の蛋白の drug induced proteolysis を促進することで作用することを解明した。今後、*in vivo*での薬効評価、結合蛋白など分子機構解明と、化合物の改良を進める予定である。この方法により、正常細胞を抑制せず癌細胞のみ選択的に抑制する、副作用が少なく癌のみ選択的に抑制する新しい抗大腸癌薬の開発が期待される。

### 【目的】

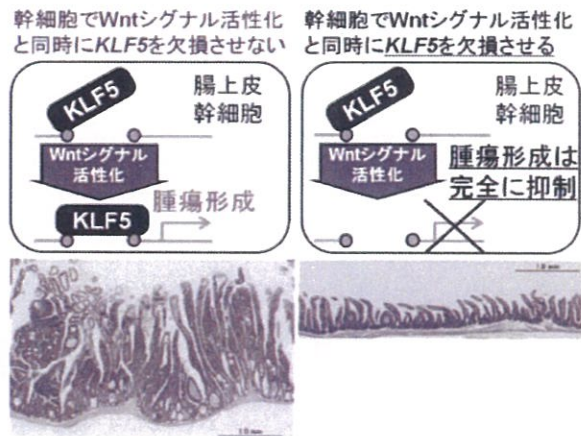
大腸癌は、罹患数、死亡数とも非常に多い癌である。外科的に切除しきれなかった大腸癌を根治させるよい治療薬はまだ開発されていない。

現在、外科的治癒切除不能な大腸癌に対する標準化学療法は、シスプラチン系と 5-FU 系の抗癌剤に、EGFR のシグナルを抑制する抗体薬、VGEF を阻害し血管新生を抑える抗体薬を合わせたものである。しかし、抗癌剤は増殖細胞を正常細胞も含め非特異的に抑制するため副作用が強い。EGFR に対する抗体は Ras に変異がある多くの症例に効果がなくこれらにたいしては適応外である。そして、標準化学療法は、大腸癌の最も重要な Wnt シグナル系の病的活性化を直接阻害する薬剤を含まない。

そこで、癌を促進する分子の正常機能を抑制せず、癌を増殖維持させる病的機能のみ選択的に抑制するような治療薬を開発できれば、進行大腸癌の治療を大きく前進させることが可能になる。

転写因子 Kruppel-like Factor 5(KLF5)は腸上皮、心血管系、代謝など多彩な生体制御、病態において重要な機能を有する。また、KLF5 は、iPS/ES 細胞の維持、誘導にも重要である。

マウスにおいて、腸上皮幹細胞特異的 (Lgr5+ 細胞) に誘導性に Wnt シグナルを活性化すると、腸上皮に腫瘍が形成される。Wnt シグナル活性化と同時に KLF5 を同じ幹細胞で欠損させると、Wnt シグナル活性化による腫瘍の形成は完全に抑制された(図)。ここから、Wnt シグナル活性化による腸上皮幹細胞からの腫瘍形成に KLF5 が腫瘍形成に必要であることを、筆者らは明らかにした。



腸上皮において組織幹細胞が腫瘍の発生母地であり、Wnt シグナルがヒト大腸癌の 95%

に変異を認める最も重要な分子経路である。これらを踏まえ、筆者の得た結果は、KLF5 が腸腫瘍の形成に必須の因子であることを示す (*Cancer Res* 2014)。

また、ヒト大腸癌で、KLF5 の発現増加、KLF5 を含む遺伝子座の増幅が認められる。これらから、KLF5 の癌を促進する機能を選択的に抑制することで、正常細胞を傷害せず、大腸癌細胞のみ癌幹細胞から選択的に抑制できると考えられる。そこで、筆者らは、この研究結果に基づき、進行大腸癌に対する新しい治療法の開発を進めることにした。

#### 【方法】

申請者は、最初 Wnt シグナルによる転写を抑制する化合物を Luciferase assay で、化合物ライブラリーからスクリーニングし候補薬を探索した。しかし、それらの中に癌を選択的に抑制する化合物を見出すことができなかった。

KLF5 を含む多くの癌促進重要因子は、立体構造が解明されない天然変性蛋白で、立体構造に基づく阻害薬開発が困難である。この困難を克服し独自の方法で、KLF5 の蛋白間相互作用を阻害する低分子化合物を合成した。これらの化合物の抗腫瘍効果の評価、分子作用機構の解明を進めた。

#### 【結果】

筆者らは、KLF5 の蛋白間相互作用を阻害する化合物が、正常大腸細胞を傷害せず大腸癌細胞のみ選択的に抑制することを明らかにした。また、これら化合物が、大腸癌細胞にネクロシスを誘導することを解明した。さらに、筆者らは、化合物の化学構造と、化合物の癌抑制能の間に、構造活性相関を見出した。また、KLF5 の蛋白間相互作用を阻害する化合物が、KLF5 や TCF4 等の転写を抑制しないが、KLF5 や TCF4 等の蛋白の drug induced proteolysis を促進することで作用することも明らかにした。

#### 【考察】

現在腫瘍抑制能の最も高い化合物を大量合成中であり、今後 *in vivo* での薬効評価、結合蛋白など分子機構解明と、それに基づく化合物の改良を進める予定である。蛋白間相互作用阻害により、正常機能を含めた分子全体の機能を抑制せず、分子の癌を促進する機能のみ選択的に抑制する。この方法により、正常細胞を抑制せず癌細胞のみ選択的に抑制する、副作用が少なく癌のみ選択的に抑制する新しい抗癌薬の開発が期待される。

#### 【文献】

KLF5 regulates the integrity and oncogenicity of intestinal stem cells.

Nakaya T, Ogawa S, Manabe I, Tanaka M, Sanada M, Sato T, Taketo MM, Nakao K, Clevers H, Fukayama M, Kuroda M, Nagai R.

*Cancer Research* 74: 2882-91 (2014)

#### 【謝辞】

本研究に御支援いただきましたがん研究振興財団に厚く御礼申し上げます。