

*ras*がん遺伝子産物の新規立体構造情報に基づくがん分子標的治療薬の開発

研究代表者 片岡 徹 神戸大学大学院医学研究科 教授

研究要旨：我々は、背景となる研究において、独自に発見した Ras のポケット構造情報に基づくコンピュータシミュレーションと生化学・細胞生物学的検証試験を駆使した独自の大規模 Ras 阻害物質探索研究を通じて、担がん動物において強力な腫瘍増殖抑制効果を示し、低毒性かつ経口薬適性に優れたリード化合物の同定に成功した。本研究では、背景となる研究で獲得・保有するリード化合物から医薬品開発候補獲得のための構造最適化を重点的に行う（先行開発）。また、最近決定した新規ポケット構造情報を用いた新たなインシリコスクリーニングと一連の検証試験も行い、本格的な前臨床試験に入る候補品を創出する（後行開発）。H25 年度、先行開発では、保有リード化合物（KMR084 ならびにその誘導体）に関する特許（WO2012/153775 A1）の実施権許諾契約を提携した国内大手製薬企業との協力型共同研究契約下において、前年度に引き続きフラグメントリンク法を活用したリード化合物の構造展開を実施した。個体レベルでシード化合物 KMR084 を凌ぐ Ras 機能の阻害活性を示す誘導体 K18781 の同定に成功した。この誘導体は腫瘍組織において Ras/Raf シグナル伝達系を有意に阻害したが、担がん動物レベルで濃度依存性の抗がん作用の増強が認められなかったことから、吸収・代謝安定性の改善が必要と考えられた。KMR084 の部分構造からなるフラグメント化合物などを用いた NMR 解析を通じて、Ras と化合物との複合体の結晶作成が困難な場合にも、化合物と Ras との相互作用の NMR 情報とシミュレーションとを組み合わせることにより、シードならびにリード化合物の効率的な構造展開（構造デザイン）を可能にするシステム基盤を構築した。後行開発では、特殊試料マウント法を利用した野生型 H-Ras の X 線結晶解析ならびに NMR 解析を通じて、リード化合物の構造最適化の際に検討すべき、Ras のポケットの辺縁構造の運動性に関する知見が得られた。また、バックアップリードを創出するために H24 年度の新規スクリーニングで選抜したシード化合物の中から、Kobe0065 に構造類似性を示す化合物を選択し、保有シード化合物 Kobe0065 とともにフラグメントリンク法による構造展開を実施したが、Kobe0065 を上回る活性を示す誘導体の創出には至らなかった。活性改善に至らなかった理由の一つとして、薬剤結合ポケット構造の運動性に由来する誘導体の安定結合の阻害が考えられた。この結果を踏まえ、今後の構造展開においては、ポケットの運動性をも加味した構造展開を進めることが望ましいと判断された。また本研究により、保有シード化合物 Kobe0065 には個体レベルで腫瘍増殖抑制作用のみならず、市販薬 sorafenib には認められない抗がん作用としてがん転移抑制作用が確認され、Lysyl Oxidase の発現抑制を介する化合物のがん転移抑制の分子メカニズムの一端が明らかになった。がんの転移は患者の生命予後を大きく作用する主要要素であり、その分子メカニズムの解明は、抗がん剤開発上極めて重要な課題である。よって本研究開発を通じて、Ras を介するがん転移の分子メカニズムの詳細が解明されれば、Ras 阻害剤の新たな用途が切り開かれる可能性がある。

Kobe0065 とその誘導体に関する研究成果の米国科学アカデミー紀要への掲載（研究成果の刊行物・別刷 1）ならびに *Nature Reviews Cancer* での同研究成果のハイライト（2013 *Nature Reviews Cancer* 13, 381）の公開に伴い、著書などの執筆（Kobe0065 とその誘導体に関する研究成果の米国科学アカデミー紀要への掲載（研究成果の刊行物・別刷 2, 3）、招待講演（学会発表の項参照）などの依頼を国内外から多数受ける結果となった（研究発表の項参照）。

研究分担者

島 扶美	神戸大学大学院医学研究科 生化学・分子生物学講座 分子生物学分野・准教授
閨 正博	神戸天然物化学株式会社 医薬事業部・創薬化学部長
熊坂 崇	公益財団法人高輝度光科学研究 センター・利用研究促進部門・構 造生物グループ・副主席研究員

A. 研究目的

*ras*がん遺伝子産物Rasは、低分子量G蛋白質ファミリーの一員であり、細胞増殖・分化など数多くの細胞内シグナル伝達に關与する。ヒトではH-Ras, K-Ras, N-Rasの3つのアイソフォームが存在し、M-Ras, Rap1, Ralなどの類縁蛋白質とともにRasファミリーを形成する。RasにはGDPと結合した不活性型 (Ras-GDP) と、GTPと結合した活性型 (Ras-GTP) の2種類のヌクレオチド結合型がある。細胞外刺激によりグアニンヌクレオチド交換因子の働きを介してGDP型からGTP型への変換が起こり、Ras-GTPはRaf, RalGDS, PI-3キナーゼ (PI3K) などの複数の標的蛋白質との結合と活性化を通じて、下流へのシグナル伝達を行う。

日本国民の死因第1位を占めるがんの約20%において、上記3つのアイソフォームのいずれかの遺伝子の突然変異によるRasの恒常的活性化が認められることから、Rasは抗がん剤開発上格好の分子標的と考えられるが、これまでに開発の成功例はない。我々は、Rasの新規立体構造の解析を通じて、Ras-GTPの分子表面に薬剤開発のターゲットとなりうる特異的ポケット構造が存在することを独自に発見し、このポケット構造情報に基づくコンピュータ (インシリコ)・ドッキングシミュレーションと生化学・細胞生物学的検証試験を駆使した独自の大規模Ras機能阻害物質探索研究を行った結果、担がん動物において強力な腫瘍増殖抑制効果を示し、低毒性かつ経口薬適性に優れたリード化合物の同定に成功した。

H25年度、背景となる研究で獲得・特許導出の後、国内製薬企業とのライセンス契約研究ならびに協力型共同研究下で開発中のリード化合物KMR084の理論的構造展開・最適化を前年度に引き続き重点的に行う。構造展開・最適化に際しては、X線結晶解析ならびにNMR解析による化合物とRasとの結合情報を利用し、フラグメントリンク法により実施する (先行開発)。またRasの新規ポケット構造情報を利用した、リード化合物の効率的な初期構造展開のシステム構築

を行うとともに、H25年4月に米国科学アカデミー紀要に発表したリード化合物Kobe0065の、フラグメントリンク法による構造展開についても実施する。さらには、新たに確認されたKobe0065のがん転移抑制作用の分子メカニズムの解明も行う。(後行開発)。

独自の方法論に基づく本研究開発を強力に推進することにより、革新的な医薬品開発候補品が得られれば、厚生労働省が掲げる施策の基本目標I「安心・信頼してかけられる医療の確保と国民の健康づくりを推進すること」の施策大目標8「新医薬品・医療機器の開発を促進するとともに、医薬品産業等の振興を図ること」への直接的な貢献が見込まれる。

B. 研究方法

先行開発

1) フラグメントリンク法によるリード化合物の構造最適化

H-Rasとリード化合物KMR084の誘導体KMR112との複合体のNMR構造情報に基づいて、神戸大学が提案するフラグメントリンク法を参考にし、特許 (WO2012/153775 A1) 導出先である国内大手製薬企業が協力型共同研究下で合成した29種の新規誘導体について、常時活性化型H-Ras (H-RasG12V) を安定発現するマウスNIH3T3細胞を用いて足場非依存性細胞増殖抑制作用を評価した。

のマウス培養細胞を用いて、誘導体の細胞内でのRas-Raf結合抑制作用を評価するとともに、Ras/Rafの下流に位置するシグナル伝達分子MEK, ERKのリン酸化による活性化の抑制について、抗リン酸化MEK, ERK特異的抗体を使用して確認した。

の試験で活性が強かった誘導体については、常時活性化型K-Ras (K-RasG12V) を有するヒト大腸がん細胞 (SW480細胞) を移植したヌードマウスに誘導体を腹腔内投与し、腫瘍増殖抑制効果を評価した。

新規誘導体を投与したマウスから腫瘍組織を採取し、抗リン酸化ERK特異的抗体を用いた免疫組織染色により、腫瘍組織におけるRas/Rafの下流のシグナル伝達の活性化の阻害効果を評価した。

2) リード化合物の構造最適化の効率化のためのRasと化合物との複合体構造情報の収集

保有リード化合物KMR084の溶解度の改善目的で前述の製薬企業において合成した誘導体、ならびに神戸大の既保有フラグメント化合物を用いて、H-Rasとの複合体のX線結晶解析ならびにNMR法による構造解析を行った。

後行開発

1) Rasの薬剤結合ポケットの運動性の解析

HAG (Humid Air and Glue-coating) 特殊試料マウント法を利用して、野生型H-Rasの新規ポケットの辺縁構造の運動性を評価するために、種々の沈殿剤濃度条件下で結晶溶液を作成し、さらに複数の温湿度条件下にてX線結晶解析を行った。

NMR解析によっても同様のポケット構造の運動性についての詳細な解析を行った。

2) 保有リード化合物の構造展開：

保有ヒット化合物Kobe0065をリード化合物とし、フラグメントリンク法を利用して新規誘導体をデザイン・合成し、生化学・細胞生物学的Ras阻害活性を評価した。

Rasの新規ポケット構造情報を利用して、インシリコスクリーニングと*in vitro*のアッセイによりH24年度までに選抜した新規ヒット化合物について構造分類を行い、合成法、特許既知情報・市販類似化合物の調査の後、活性データ、物性(特に水溶性)と合成展開性のバランスの良好な3種類をリード化合物として選抜した。

の選抜リード化合物の中で、保有リードKobe0065との構造類似性が最も高かったKBFM561に着目し、有機化学合成専門家の見知から新規誘導体をデザイン・合成を実施し、生化学・細胞生物学的Ras阻害活性を評価した。

3) 保有リード化合物Kobe0065のがん転移抑制作用の解析

K-RasG12Vを有するヒト大腸がんリンパ節転移細胞株SW620を尾静注にて接種したヌードマウスにKobe0065を経口投与し、腫瘍細胞の肺転移抑制作用を評価した。

Kobe0065のがん転移関連分子LOX (Lysyl Oxidase) の発現抑制とRasの機能阻害作用との関係を調べるために、H-RasG12Vを安定発現するマウスNIH3T3細胞の2次元(2D)、3次元(3D)培養システムを用いて、LOXのmRNAならびに蛋白質の発現レベルを調べた。K-RasG12Vを有する大腸がん細胞株SW480、SW620ならびにK-RasG12Dを有するPanc-1、比較対象として野生型Rasを有するPxPC-3を用いて同様の実験を行った。

Kobe0065投与が、Ras/LOXを介するがん細胞の遊走・浸潤に与える影響を調べるために、の細胞を用いて、化合物存在下ならびにK-Rasのノックダウン条件下(siRNA存在下)で、創傷治癒アッセイならびにがん細胞浸潤アッセイを行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え実験と動物実験は、学内の安全委員会及び倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

先行開発

1) フラグメントリンク法によるリード化合物の構造最適化

フラグメントリンク法でデザイン・合成したKMR084の新規誘導体の細胞増殖抑制作用：

・H24年度に引き続き、フラグメントリンク法を利用して、保有リード化合物(KMR084)の誘導体を製薬企業との共同研究下で、29種類新たにデザイン・合成し、試験管内Ras-Raf結合阻害活性を測定した。これら化合物の、H-RasG12Vを安定発現するマウスNIH3T3細胞に対する足場非依存性細胞増殖抑制作用ならびに、Ras/Rafの下流の細胞内シグナル伝達(MEK, ERKのリン酸化)の抑制作用を調べたところ、細胞レベルでKMR084を凌ぐRas機能の阻害活性を示す誘導体K25292の同定に成功した。さらにこの化合物は、SW480に対しても顕著な足場非依存性細胞増殖抑制作用を示した。ただし、常時活性化型Rasを持たないヒト子宮がん細胞株(Hela細胞)に対しても弱い細胞増殖抑制作用を示した。

フラグメントリンク法で合成したKMR084の新規誘導体の担がんモデル動物での抗がん作用：

・H24年度からH25年度にかけて有機化学合成した合計46化合物のうち、試験管内Ras-Raf結合阻害活性、細胞内Ras-Raf結合阻害活性、細胞活性のバランスの比較的良かった3種類の誘導体を、SW480を異種移植したヌードマウスに腹腔内投与し、個体レベルでの抗がん作用を評価した。その結果、同じ投与量で誘導体K18781は、KMR084より強い腫瘍増殖抑制作用を示すことが確認された。しかし、投与量の増加に伴う作用の増強は認められなかったことから、化合物の吸収・代謝安定性に関する課題を確認した。

・誘導体K18781を腹腔内投与したヌードマウスから採取した腫瘍組織の免疫組織染色により、化合物の腫瘍組織レベルでの顕著なERKの活性化の抑制作用が確認された。

2) リード化合物の構造最適化の効率化のためのRasと化合物との複合体構造情報の収集

KMR084の構造展開に有用なフラグメント誘導体のRas結合情報とその利用：

・保有リード化合物KMR084の溶解度の改善目的で前述の製薬企業において合成した、KMR084の疎水性部分構造からなる誘導体(フラグメント誘導体)とH-Rasとの複合体の結晶を作成し、放射光を用いて(SPring-8にて)X線回折実験を行ったが、複合体の構造決定には至らなかった。

・一方、KMR084の親水性部分構造からなるフラグメント誘導体ならびに、先の疎水性部分構造からなるフラグメント誘導体、さらには既保有の別のフラグメント化合物とH-Rasとの¹H-¹⁵N HSQC (Heteronuclear Singles Quantum Coherence) -NMRを行った結果、これら誘導体(ならびに化合物)のRasの分子表面上の結合領域は互いに近接するものの異なることが明らかになり、今度の構造展開に必須の新たな立体構造情報を収集することができた。また、既保有フラグメント化合物とH-Rasとの¹H-¹⁵N HSQCならびにSTD (Saturation Transfer Difference) -NMRの解析データを利用して、HADDOCK (NMRの化学シフトをはじめとする相互作用情報を拘束条件として分子ドッキングを行うソフト)により、水溶液中での複合体の構造予測が可能となり、複合体の結晶構造情報の収集が困難な場合にも、NMRによる化合物とRasとの溶液中での相互作用情報に基づく新規誘導体の理論的構造設計が可能になった。

後行開発

1) Rasの薬剤結合ポケットの運動性の解析

特殊試料マウント(HAG)法によるX線結晶解析により明らかになったH-Rasのポケット構造の運動性と構造情報の化合物デザインへの利用:

・同一蛋白質結晶のX線回折実験時に、結晶の温湿度の制御がHAG法により可能になる特殊X線結晶解析を通じて、野生型H-Rasの分子表面には、既保有リードならびにシード化合物が結合するポケットの他に、その近傍に比較的大きな新規のポケット構造が存在することが明らかになった。既知ポケットは、RafをはじめとするRasの標的蛋白質の結合領域である2つのSwitch領域(Switch IとSwitch II)の辺縁に位置するが、今回明らかになった新規ポケットは、2つのSwitch領域にまさにはさまれる位置に存在することから、新規ポケットに結合可能な化合物は、より効果的にRasと標的蛋白質との結合を阻害する可能性が示唆された。また、新規ならびに既知ポケット構造は互いに隣接するため、既知リードならびにシード化合物の理論的構造展開にも有用な立体構造情報の収集に成功したと言える。

シード化合物Kobe0065の担がんモデル動物でのがん転移抑制作用:

・常時活性化型K-RasG12Vを有し高い転移能を示すヒト大腸がん細胞株SW620をヌードマウスに尾静注し、Kobe0065の経口投与下でのSW620の肺転移の頻度を調べた。その結果、化合物非投与群ならびに対象薬であるsorafenib (Raf, VEGFな

どに対するマルチキナーゼ阻害剤)投与群では全例肺転移が認められたのに対して、Kobe0065投与群では濃度依存的に肺転移を起こした個体数が減少した。また、肺組織切片において肉眼で確認できた腫瘍の個数はKobe0065投与群では濃度依存的に減少していたことから、Kobe0065は、常時活性化型K-Rasを有するがん細胞の肺転移を抑制する作用を示すことが確認された。

2) 保有シード化合物の構造展開

シード化合物Kobe0065の構造展開:

・フラグメントリンク法ならびにMOE (蛋白質などの構造予測・解析システム)を活用してデザインし、有機化学合成を行った9種類の新規誘導体のうち、細胞試験において顕著な腫瘍細胞増殖抑制作用を示した化合物NKB23について、担がん(大腸がん: SW480)モデルマウスでの抗がん作用(腹腔内投与)を評価した結果、腫瘍増殖抑制作用はシード化合物と同等であることが確認された。ただし、フラグメントリンク後のMOEでの化合物結合予測の順位と、*in vitro*の活性順位は必ずしも一致しない結果となった。

・Kobe0065の有するチオセミカルバジド構造の等価変換を目的として、保有する構造活性相関データならびにフラグメントリンク法の知見を活用し、新たに8種類の誘導体を合成して活性評価を行ったが、いずれの誘導体もRas-Raf結合阻害試験において大幅な活性低下を示す結果となった。

シード化合物KBFM561の構造展開:

・前年度までに実施した新規スクリーニングにより選抜した新たなヒット化合物について、構造分類を行い、合成法、特許既知情報・市販類似化合物の調査の後、活性データ、物性(水溶性)と合成展開性のバランスの良かった3種類(KBFM561, KBFM492, KBFM580)をシード候補化合物として選抜した。

・この中で、既保有シード化合物Kobe0065と構造類似性(チオセミカルバジド構造)の高いKBFM561に着目し、物性(溶解度)の改善目的で新規誘導体を5種類デザイン・合成した。そのうち2種類については溶解度(物性)の改善は認められたものの、有意なRas-Raf結合阻害活性は認められなかった。

3) 保有シード化合物Kobe0065のがん転移抑制作用の解析

保有シード化合物Kobe0065のがん転移抑制メカニズムの解析:

・H-RasG12Vを導入したマウスNIH3T3細胞の3D-培養では、コントロールと比較して有意なLOXの発現上昇が認められることが、前年度までの研究で確認されていた。同様の培養条件下でKobe0

065を投与したところ、LOXの有意な発現抑制が認められた。また、常時活性化型K-Rasを有し、siRNA処理によるK-Rasの発現抑制によりLOXの発現抑制が認められる3種類のヒト培養がん細胞株SW480, SW620ならびにPanc-1についても、3D-培養条件下での化合物処理により、有意なLOXの発現抑制が確認された。一方、K-Rasの発現抑制がLOXの発現に影響を与えない野生型K-Rasを有するBxPC-3ではKobe0065処理によるLOXの発現抑制は認められなかった。これらの結果は、Rasに活性化型変異を有する細胞群では、Kobe0065処理がRasを介するLOX発現を抑制する可能性を示唆していた。

・Kobe0065の作用がRas/LOXを介するがん細胞の遊走に与える影響を調べるために、SW620, Panc-1, BxPC-3を用いた創傷治癒アッセイを行った。siRNA処理によるLOX発現抑制およびLOX特異的阻害剤処理は、使用したこれらすべての細胞の遊走を阻害したことから、これらの細胞の遊走にLOXが重要な役割を果たしていることが示された。これらのがん細胞にKobe0065の投与ならびにK-Rasの発現抑制を行った結果、K-Rasに活性化型変異を有するSW620とPanc-1では遊走の抑制が観察されたが、野生型K-Rasを有するBxPC-3ではKobe0065投与ならびにK-Rasの発現抑制による遊走の抑制は認められなかったことから、Kobe0065がRasに活性化型変異を有するがん細胞特異的にRasを介するLOXへのシグナルを抑制する事で細胞遊走を阻害する可能性が示唆された。

・次に、がん細胞の浸潤におけるKobe0065の効果についても検証した。Rasに活性化型変異を有するSW620ならびにPanc-1では、Kobe0065の濃度依存性の細胞浸潤の阻害が認められた。一方、野生型K-Rasを有するBxPC-3ではほとんど浸潤抑制はなかった。これらの結果から、Kobe0065がRasに活性化型変異を有するがん細胞特異的に浸潤を阻害する可能性が示唆された。

D. 考察

・フラグメントリンク法の活用により、先行研究において、個体レベルでリード化合物KMR084を凌ぐRas機能の阻害活性を示す誘導体K18781の同定に成功した。この誘導体は腫瘍組織においてRas/Rafシグナル伝達系を有意に阻害したが、担がん動物レベルで濃度依存性の抗がん作用の増強が認められなかったことから、吸収・代謝安定性の問題を改善する必要があると考えられた。・またフラグメントリンク法でデザインした誘導体については、先行研究、後行研究いずれのケースでも、化合物とRasとの理論上の結合エネルギー

の順位と実験上の活性順位とが必ずしも一致していなかったことから、出発化合物に新たに付与したフラグメント部分構造がRas上の予測結合部位と確実に相互作用をしていない可能性が示唆された。HAG法を利用したX線結晶解析で明らかになった、Rasの薬剤結合ポケットの構造ダイナミクスに関する知見は、この結合エネルギーの予測値と実測値の乖離を積極的に指示していた。従って今後の構造展開・最適化では、ポケット構造の運動性をも加味した新規誘導体のデザインが望ましいと判断された。

・X線結晶解析が困難な場合にも、フラグメント化合物とRasとの相互作用のNMR情報とシミュレーションとを組み合わせることで、リードならびにリード化合物の理論的かつ効率的な化合物の構造設を可能にするシステム基盤を構築した。・本年度、有機合成化学の専門家による、保有リード化合物Kobe0065のチオセミカルバジド構造に変わり得る新たな母核構造の探索を行ったが、現時点ではポテンシャルが低いことが確認され、今後の本構造展開については中止することが妥当と判断された。

・Kobe0065以外の3種類の保有リード化合物のうち、Kobe0065に部分構造が類似したKBFM561に着目し初期構造展開を実施したが、有意な活性は確認できなかった。2つ目のヒットであるKBFM492シリーズについても今後、誘導体の合成を実施し、物性・活性の改善を目指す予定である。

・保有リード化合物Kobe0065には、市販薬のsorafenibには認められない、がん転移抑制作用があることが確認され、本年度その分子メカニズムの一端が明らかになり、研究成果を学会報告した。

・Kobe0065とその誘導体に関する研究成果の公開に伴い、著書などの執筆、招待講演など、国内外から多数の依頼を受けた。

E. 結論

Ras阻害剤の開発は、Rasの立体構造が解明されてから25年近く経過しても、世界的に未だ開発成功例のない現状にあり、抗がん剤開発の歴史の中では最も難易度の高い課題の1つとして位置づけられている。米国では昨年度より、米国国立がん研究所を中心に、メガファーマ、複数の大学・研究機関などが参画する、Ras阻害剤開発の国家プロジェクトが立ち上がり、研究開発が世界的に加速している。本研究ではH23年度より、Rasのポケット構造情報に基づく理論的創薬を展開しており、本年度は、国内製薬企業との協力型共同研究下でのフラグメントリンク法による構造展開を通じて、保有リード化合物KMR084の活性を

上回る誘導体をいくつか獲得している。しかし現時点では、リード化合物の活性を劇的に上回る誘導体の同定には至っていない。原因としては、立体構造ベースの理論的構造展開を進めて行く上で必須の、RasならびにRasと化合物との複合体の精密な立体構造（X線結晶解析ならびにNMR解析）の情報量の不足が挙げられる。また、薬剤結合ポケットの構造ダイナミクスの問題も、結合親和性の高い化合物の創出を困難にしている要因の一つと考えられる。よって今後は、Rasと化合物との複合体の高精度の立体構造情報の収集に注力するとともに、ポケット構造のダイナミクスをも考慮したシードならびにリード化合物の構造展開を進めて行く必要があると判断される。

がん患者の生命予後を大きく作用するがん転移の分子メカニズムの解明は、抗がん剤の開発上極めて重要な研究課題である。近年の研究で、がん転移の分子メカニズムにLOXが含まれ、RasからLOXへのシグナル伝達についてはPI3K/Aktの関与などが示唆されているが、詳細については不明である。我々が保有するシード化合物Kobe0065は、Rasの分子表面のポケット部分に直接結合し、複数のエフェクターとRasとの直接結合を阻害することにより個体レベルで抗がん作用（腫瘍増殖抑制作用）を示すが、本研究により市販薬sorafenibにはない新たな作用として、がん転移抑制作用が確認された。本研究を通じてRasを介するがん転移の詳細な分子メカニズムが解明されれば、Ras阻害剤の新たな用途を切り開くことができる。

F.健康危険情報

特記事項なし

G.研究発表

1.論文発表

Shima, F., Yoshikawa, Y., Ye, M., Araki, M., Matsumoto, S., Liao, J., Hu, L., Sugimoto, T., Ijiri, Y., Takeda, A., Nishiyama, Y., Sato, C., Murakami, S., Tamura, A., Osoda, T., Tsuda, K., Miyakawa, T., Fukunishi, H., Shimada, J., Kumasaka, T., Yamamoto, M., and Kataoka, T. *In silico* discovery of novel small-molecule Ras inhibitors that display antitumor activity by blocking the Ras-effector interaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (2013) **110** (20): 8182-8187

Shima, F., Yoshikawa, Y., Matsumoto, S., and Kataoka, T. Discovery of small-molecule Ras inhibitors that display antitumor activity by interfering with Ras•GTP-effector interaction. *The Enzymes* (2013) Vol. **34**, Inhibitors of the Ras superfamily

G-proteins, pp1-23 (Tamanoi, F. and Der, C. J., eds., Elsevier)

島 扶美, 熊坂 崇, 松本 篤幸, 吉川 陽子, 山本 雅貴, 片岡 徹 *ras*がん遺伝子産物の新規立体構造情報を利用した分子標的がん治療薬の開発 *日本放射光学会誌 放射光* (2014) **27** (1) :3-9

Shima, F., and Kataoka, T. Structure-based drug design of small-molecule Ras inhibitors having anti-tumor activity. *Spring-8 Research Frontiers* (2013), in press.

2.学会発表

片岡 徹 分子標的がん治療薬のインシリコ創薬、第5回スーパーコンピュータ「京」と創薬・医療の産学連携セミナー（HPCI計算生命科学推進プログラム）、グランフロント大阪ナレッジキャピタル（大阪）、2013年10月2日（招待講演）

Osamu Takano, Yoko Yoshikawa, Fumi Shima, Toru Kataoka. Analysis of the mechanism underlying the anti-metastatic action of Ras inhibitors by using a lung metastatic model mouse. 第72回日本癌学会学術総会（横浜）2013年10月4日

片岡 徹 Ras シグナル伝達系を標的とした抗がん剤の開発、MEET 医学研究コロキウム・1 - がんの分子標的治療を考える -（大阪大学産学連携プロジェクト MEET）（大阪大学大学院医学研究科）2013年10月7日（招待講演）

片岡 徹 *ras* がん遺伝子産物の分子標的薬のインシリコ創薬、平成 25 年度臨床研究総合センターシンポジウム～がん治療最前線：ゲノム創薬と免疫治療～（千葉県がんセンター）2013年12月7日（招待講演）

片岡 徹 *ras* がん遺伝子産物を分子標的としたがん治療薬のインシリコ創薬、神戸医療産業都市クラスター交流会「放射光を用いた革新的創薬研究の展開」（神戸市）2014年1月23日（招待講演）

Kataoka, T. *In silico* development of anti-cancer drugs targeting Ras oncoproteins. University of Washington-Kobe University Joint Symposium on Membrane Biology. (Seattle, USA) March 28, 2014（招待講演）

H．知的財産権の出願・登録状況

1．特許取得

名称：Ras機能阻害作用を有するチオキソチアゾ
リジン誘導体

発明者：片岡徹、島扶美、閨正博、笹原大輔

出願番号：特願2011-105613

出願日：平成23年5月10日

国際出願番号：PTC/JP2012/061908

国際出願日：平成24年5月9日

国際公開番号：WO2012/153775 A1

2．実用新案登録

なし

3．その他

なし