

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）

委託業務成果報告（業務項目）

難治性固形がんにも有効なPARG阻害剤の実用化研究（新規PARG阻害剤の開発）：PARG阻害剤活性評価と標的解析

担当責任者 益谷美都子 国立がん研究センター研究所・創薬臨床研究分野・

分野長（平成26年4月～平成27年1月31日）

国立がん研究センター研究所・客員研究員/長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授（平成27年2月1日～平成27年3月31日）

研究要旨 本研究では難治性固形がんにも有効なポリ(ADP-リボース)分解酵素である(PARG)阻害剤の単剤及び化学療法及び放射線療法の増感剤としての実用化に向けて、他の機関と共に物性の改善と溶解性の向上の点から、臨床開発候補化合物の絞り込みと評価を進めることができた。バックアップ化合物候補の探索研究として、MO2282以外の3種類のリード化合物からの合成展開に加え、分子ドッキング、分子動力学シミュレーションによるSBDDにより得られた化合物とその誘導体について実施し、候補化合物の評価を行った。また、合成致死性法による包括的探索系により効果予測(薬効)マーカーの新規候補を得て、その意義について多角的な検討を進めた。また、薬力学的マーカーの測定系の至適化を行った。これらの研究の知見は臨床試験で有効性を検証していくための基盤となると考えられる。

A. 研究目的

本研究では難治性固形がんにも有効なポリ(ADP-リボース)分解酵素である(PARG)阻害剤の単剤及び化学療法及び放射線療法の増感剤としての実用化に向けて、臨床開発化合物の開発と薬力学的マーカー、効果予測(薬効)マーカーを検討し、臨床試験で有効性を検証するための基盤とする。

B. 研究方法

1) これまでに見出された4種類のリード化合物のうち、ヒト xenograft ノードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められた

MO2282の誘導体を他の分担機関が合成し、これらの化合物のPARG阻害活性をリコンビナントPARGを用いて評価した。バックアップ化合物の探索研究により得られた新規化合物についてもPARG阻害活性をリコンビナントPARGを用いて評価した。

2) 薬力学的マーカーの最適化および薬効予測マーカーの同定

複数のレンチウイルス shRNA ライブラリー等を用いてPARG阻害剤と合成致死性を示す遺伝子の検索を行い、得られた標的遺伝子について機構解析を行った。

3) PARG阻害剤の暴露後に起こる、PAR集

積や代謝物を薬力学的マーカーとしてその動態を測定するための検討を行った。

4) 薬物動態評価

本研究事業における開発候補化合物を投与後の生体試料(尿や血清など)をLC/MS等で分析し、薬物動態パラメーターを取得できるようにMO2282誘導体である開発候補化合物をヌードマウスモデルで投与後の薬物動態の検討を進めた。

(倫理面への配慮)

本研究で行う動物実験については、国立がん研究センターの「動物実験に関する指針」を遵守した。遺伝子組換え実験については、国立がん研究センターにおいて遺伝子組換え実験安全委員会において研究計画に対する審査を受け、承認を得た上で実施した。

C. 研究結果

1) PARG阻害剤の構造最適化による臨床開発化合物の取得

a. リード化合物の最適化とCMC研究

これまでに見出された4種類のリード化合物のうち、ヒトxenograftヌードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められたMO2282誘導体から臨床開発化合物の取得のため、溶解性向上を目的とした誘導体設計により合成された化合物の溶解性、PARG阻害活性・細胞毒性などの評価を他の機関と共に実施した。溶解性を大幅に改善させる条件の確立が行えた。

b. バックアップ化合物の探索研究
バックアップ化合物候補の探索研究として、MO2282以外の3種類のリード化合物からの合成展開に加え、分子ドッキング、分子動力学シミュレーションによるSBDDにより得られた化合物とその誘導体について他の機関と共に実施し、候補化合物を得られた。

2) 薬力学的マーカーの最適化および薬効予測マーカーの同定

a. 薬力学的マーカーの最適化研究

PARG阻害剤の暴露後に起こる、PAR集積や代謝物を薬力学的マーカーとして活用を検討した。がん細胞株、末梢血リンパ球及び血漿、尿などの検体を用いたPAR定量系として免疫学的手法と質量分析法の至適化が行えた。

b. 薬効予測マーカーの同定

合成致死仮説に基づく手法で特定の遺伝子発現を抑制し、PARG阻害剤の感受性を規定する分子を包括的に探索した。これまでに薬効予測マーカー候補として同定したがんでは異常が報告されているシグナル伝達系の因子の検証から効果規定因子となる機序に関する知見を集積できた。また、新たな包括的遺伝子探索系により薬効予測マーカー候補を単離した。これらの新たな候補についてもノックダウン系などを用いてPARG阻害剤の効果との関連、メカニズム解析を実施し、検証を進めた。

3) 薬物動態評価

本研究事業における開発候補化合物を投与後の生体試料(尿や血清など)をLC/MS等で分析し、薬物動態パラメーターを取得する系を他の機関と検討した。ヒトxenograftヌードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められたMO2282誘導体である開発候補化合物をヌードマウスモデルで投与後の薬物動態の解析を進めた。

D. 考察

これまでに見出された4種類のリード化合物のうち、ヒトxenograftヌードマウスモデルで有意な抗腫瘍効果が認められたMO2282誘導体を中心に溶解性の向上が達成

され、さらに誘導体合成展開で得られた化合物の中にバックアップ化合物候補も見出された。

合成致死仮説に基づく手法で薬効予測マーカー候補が複数単離された。今後、臨床的意義の高いマーカー候補についてさらに絞り込みを進める。薬力学的マーカーの測定系と薬物動態の測定系についても動物モデルでの至適化を進める必要がある。

E . 結論

本研究では難治性固形がんにも有効なポリ(ADP-リボース)分解酵素である(PARG)阻害剤の単剤及び化学療法及び放射線療法の増感剤としての実用化に向けて、物性の改善と溶解性の向上の点から、臨床開発候補化合物の絞り込みと評価を進めることができた。また、薬力学的マーカーの測定系の至適化と効果予測(薬効)マーカーの候補について多角的な検討を進めた。有効ながん種の特異性と特定がん種に対するPhase IまたはPhase 0試験の計画の立案を進めるためにこれらの研究の知見は基盤となると考えられる。

F . 研究発表

1. 論文発表

1) Islam R, Koizumi F, Kodera Y, Inoue K, Okawara T, Masutani M. Design and synthesis of phenolic hydrazide hydrazones as potent poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG) inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 24(16):3802-6, 2014.

2. 学会発表

1) 益谷美都子、藤森浩彰、原田博美、光畑元晴、高村 岳樹 Poly(ADP-ribose)代謝と ribosyladenosine 及び ribosylinosine **第 87 回日本生化学会大会 シンポジウム**、

京都市(2014年10月16日)。

G . 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

新規抗がん剤 (特許出願予定)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

