

平成24年4月24日提出

対象研究テーマ： MT1-MMP の機能解析と分子標的治療法の開発

研究期間：2011年4月1日～2012年3月31日

研究題目：ヒトがん細胞を用いた抗転移性制癌剤の開発

研究代表者：徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部 准教授 宇都義浩

## 研究成果の概要：

本研究では、我々の有するケミカルライブラリーについて種々のヒト癌細胞に対する細胞増殖抑制作用および MMP 阻害活性を有する分子を探索した。その結果、低酸素サイトトキシン類の TX-2137 および TX-2282 が高い細胞増殖抑制作用と MMP-9 産生抑制作用を有することを見出した。両化合物は VEGF 誘導性の血管新生阻害と深く関係する Akt に対する強力な阻害剤でもあるので MMP 阻害とは別の経路での血管新生阻害活性が期待され、抗転移性制癌剤のリード化合物として創出した。

研究分野：創薬化学

キーワード： hypoxic cytotoxin、MMP inhibition

### 1. 研究開始当初の背景

がんはがん細胞だけでなく、血管や結合組織、免疫担当細胞といったがん周囲組織との相互作用の上で成り立っている。このがん環境をがんの発育に適しないように変えることががん治療上有効と考えられ、治療戦略としてがんの縮小ではなく再燃抑制期間の延長という観点から考えられた新しいがん治療法である「がん休眠療法 (tumor dormancy therapy)」が提唱され研究が進められている。我々はこれまで種々の血管新生阻害剤の開発研究を精力的に進めており、がん休眠療法においてがん転移を抑制できる血管新生阻害剤は最適な制癌剤であるとの考えに至っている。がんの転移は微小転移の段階からランダムな現象ではなく、システムの連携された連続した段階を伴う現象であり、「がん転移の成立」を左右する最も初期の重要な段階が血管新生である。血管新生阻害性の制癌剤は、がんの転移を抑制しつつ抗腫瘍作用による制癌活性をもつ多機能性薬剤として大変有効であると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、種々のヒトがん細胞を用いた *in vitro* スクリーニング系を用いて、抗転移活性を有する TX-1877 をリードとして分子設計・合成した新規放射線増感剤、ホウ素含有クルクミン誘導体、低酸素サイトトキシンについて抗がん活性を評価し、選出された候補薬剤について MMP に対する阻害活性を

評価し、最終的に *in vivo* 試験に進めるリード化合物を創出することを目的とする。

### 3. 研究の方法

本研究では、B16F10 メラノーマ細胞、ヒト線維肉腫細胞 HT-1080、ヒト胃癌細胞株 MKN-45・NKPS・NUGC-4・KKLS を用いて、WST-8 アッセイ法により 24 時間および 72 時間持続接触における細胞増殖抑制効果を評価し、抑制効果が確認された化合物についてザイモグラフィ法により MMP 阻害活性を評価した。供試した化合物 (TX-2123, 2137, 2140, 2141, 2244, 2258, 2272, 2281, 2282, UTX-42, 44, 47, 50, 51, 73, 74) は、我々が以前に開発した合成法に従って有機合成し、純度 95% 以上のものを用いた。

### 4. 研究成果

抗転移活性を有する TX-1877 とグルコースをハイブリッドした TX-2141 および TX-2244 は、100 micro-M までの濃度範囲で細胞増殖抑制効果を示さなかった。また、ホウ素含有クルクミン誘導体 (UTX シリーズ) は、UTX-44, 50, 51 が複数のヒト癌細胞に対して数 micro-M オーダーの IC<sub>50</sub> 値を示し、特に、UTX-51 は < 1.6 micro-M とクルクミンよりも強い抑制効果を示したが、MMP 阻害活性については観察されなかった。一方、低酸素サイトトキシン類については、TX-2137, TX-2258, TX-2282 が複数のヒト癌細胞に対して数 micro-M オーダーの IC<sub>50</sub> 値を示し、TX-2137 お

よびTX-2282 についてはMMP-9 産生の抑制効果が認められた。MMP-9 産生には転写因子AP-1, NFκBが関わるのでそちらの抑制効果の可能性もある。また、TX-2137 およびTX-2282 はVEGF誘導性の血管新生阻害と深く関係するAktに対する強力な阻害剤であることが以前の研究より明らかであるので、MMP阻害とは別の経路での血管新生阻害活性が期待され、抗転移性制癌剤のリード化合物として創出された。

#### 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)

1. Miyake K, Nishioka M, Imura S, Batmunkh E, Uto Y, Nagasawa H, Hori H, Shimada M, The novel hypoxic cytotoxin, TX-2098 has antitumor effect in pancreatic cancer: possible mechanism through inhibiting VEGF and hypoxia inducible factor-1α targeted gene expression, *Exp. Cell Res.*, in press, 2012.
2. Abe C, Uto Y, Nakae T, Shinmoto Y, Sano K, Nakata H, Teraoka M, Endo Y, Maezawa H, Masunaga S, Nakata E, Hori H, Evaluation of the in vivo radiosensitizing activity of etanidazole using tumor-bearing chick embryo, *J. Radiat. Res.* **52**, 208-14, 2011.

[学会発表] (計4件)

1. 腫瘍移植鶏卵における低酸素腫瘍の同定とetanidazoleのin vivo放射線増感活性の評価、田中大地、宇都義浩、安部千秋、遠藤良夫、前澤 博、原田 浩、増永慎一郎、堀 均、日本薬学会第132年会 (2012年3月、札幌)
2. 発育鶏卵を用いた低酸素細胞放射線増感剤およびラジカル含有ナノ粒子のin vivo評価法の開発、宇都義浩、バイオインダストリー協会 大学発・選り抜きセミナー 徳島大学研究者との集い・第3回東京編 (2011年12月、東京)
3. Development of an in vivo screening system for radiosensitizers and antioxidants using a chick embryo model, Uto Y, 4th Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology (2011年10月、北九州)
4. Evaluation of the In vivo Radiosensitizing Activity of Etanidazole Using Tumor-bearing Chick Embryo, 安部千秋、宇都義浩、遠藤良夫、前澤 博、増永慎一郎、堀 均、第70回

日本癌学会学術総会 (2011年10月、名古屋)

[図書] (計1件)

1. 発育鶏卵を利用した創薬研究と将来展望、安部千秋、宇都義浩、遠藤良夫、堀均、*放射線生物研究*、46、221-233、2011.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部・准教授 宇都義浩

(2)研究分担者

徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部・教授 堀 均

徳島大学先端技術科学教育部 博士後期課程・3年 安部千秋

徳島大学先端技術科学教育部 博士後期課程・1年 田中 涼

(3)本研究所担当者

細胞機能統御・教授 佐藤 博

中央実験施設・准教授 遠藤良夫