

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
FS ステージ シーズ顕在化タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	: NADPH oxidase 1(NOX1) 選択的阻害薬 NOS31 の非臨床研究開発
プロジェクトリーダー	: バイオリンクス(株)
所属機関	: バイオリンクス(株)
研究責任者	: 鎌田徹 (信州大学)

1. 研究開発の目的

(1)K-Ras 活性化変異のある大腸癌、肺癌、膵臓癌などに対する新規抗がん剤の開発

K-Ras 活性化変異のある大腸癌、肺癌、膵臓癌は既存の抗癌剤では治療が困難で新たな作用機構を持つ抗癌剤の開発が待たれている。NOS31 をシーズ化合物として鎌田が明らかにした活性化 Ras による癌化において働く ROS シグナルを標的にした革新的分子標的薬を開発する。

(2)ROS 過剰産生による老化とそれに伴う各種疾患の治療・予防薬

ミトコンドリアからの活性酸素の過剰産生が老化とそれに伴う各種疾患の原因になっていることが報告され、NOX1 & 4阻害薬の臨床試験が行われている(参考文献1、2)。既存の NOX 阻害薬と比べて選択性、新規性で優れると思われる NOS31 をシーズ化合物として Nox1 選択的阻害薬の効果が期待されている心筋梗塞(参考文献2)、ドライアイ(PLoS One, 2012)などの臨床開発を目指す。

2. 研究開発の概要

①成果

H24 年探索タイプ“新規蛍光プローブを用いたがん分子標的としての Nox1 阻害剤の探索”において北里生命科学研究所の天然物ライブラリーから Nox1 を高発現する大腸癌細胞での H2O2 産生を抑制する NOS31を見出した。NOS31は放線菌の生産する新規化合物であり、Nox4を高発現する細胞におけるH2O2産生には作用しない。

本課題においては、1)NOS31 関連化合物の発酵生および合成による誘導体創製、2)NOS31 関連化合物の Nox1 選択性、抗癌活性、細胞毒性などの評価から化合物の最適化、3)NOS31 関連化合物の特許申請、4)バックアップとしての新規 Nox1 阻害物質探索を行う。

研究開発目標	達成度
①NOS31 関連化合物*)の発酵生産および誘導体合成による創製	①本課題において発酵生産による NOS31 の大量取得については達成できなかったものの、NOS31 (56.2mg)と NOS 関連化合物である NOS35(41.3mg)、NOS40(20.7mg)の 2 種類取得することが出来た。また、大量取得に関してはコンビナトリアルライブラリーの構築を指向した NOS31 の合成法が目的化合物の1step 前まで確立された。
②バックアップとしての新規 Nox1 阻害物質探索	②北里大学生命科学研究所の天然物・化合物ライブラリーおよび、既知化合物のライブラリーを 390 化合物、PRISM の新規化合物が 22 化合物をアッセイした。低分子既知化合物ライブラリーのなかから、下記の阻害剤を見出した。i) Nox1 選択的阻害薬として NOS101(IC50:0.2 μM を同定し、ii) Trio 阻害剤 pbH02 が Nox1 を阻害した。iii) Nox4 を高発現している脳腫瘍(Glioblastoma)細胞で探索を行い、Nox4 の ROS 産生を抑制する

<p>③Nox1 選択的阻害剤の特許化</p> <p>④NOS31 のNox1選択性、培養細胞株での抗癌活性の検討および、大腸がん発症モデルマウス (Ras oncogene transgenic mouse、LSL-K-RasG12D: Cancer Cell. 5, 375, 2004)に NOS31 関連化合物を投与して造腫瘍に対する効果を評価</p>	<p>NOS401 と NOS402 を見出した。NOS402 は Glioma 細胞の増殖を抑制した(5 M で 90%阻害)。</p> <p>③信州大学を代表機関、北里大学を共同発明機関として米国仮出願の準備を行った。米国仮出願に必要な発明の内容を示すドラフトを作成したが、研究代表者の鎌田徹が 2015 年 3 月で信州大学を退官することになり信州大学発明委員会で本発明は信州大としての出願は行わないと決定された。今後、発明者鎌田徹を中心に発明を検討していく。</p> <p>④各種コントロール実験で、NOS31 のNox1特異性が確認された。NOS31 の Nox1 に対する ICD50 は 2 μ M で他のNoxファミリー、Nox2~5 に比べて少なくとも1オーダー低く Nox1 選択性をもつことを明らかにした。NOS31 は Nox1 システム複合体の調節サブユニット NOXO1 を標的とする可能性が判明した。</p> <p>NOS31 は Nox1 発現を亢進している大腸癌、胃癌細胞の増殖を阻害するが(10 μ M で ~50%阻害)、Nox1 発現の低い他の癌細胞や、正常細胞では阻害しないことを見出した。また、NOS31 は、大腸癌細胞の cell survival 活性、遊走性、VEGF 産生も抑制することが判明した。</p> <p>動物試験においては Colon26 細胞が上手く移植できずに癌細胞が一様に増殖しなかった。この事から大腸がん発症モデルマウスの作成は上手くいっておらず、抗腫瘍試験をするベースが整っていないと考えられる。本試験は計画変更を申請し行った試験であったが NOS31 の正確な in vivo 抗腫瘍活性を確認することは出来なかった。</p>
--	--

②今後の展開

今後は本課題でも行ったモデルマウスによる造腫瘍に対する効果の評価を継続していく。その際、マウス検体数を増やし、腫瘍の種類と移植部位の検討、NOX1阻害活性のある NOS31 関連化合物の評価などを行う。最終的にヒト大腸がん細胞株を移植したマウスへ NOS31 関連化合物を投与して造腫瘍を抑制するかを検討する Xenograft アッセイにて研究開発を進めていく。さらに本課題で見出された新規 NOX4 選択的阻害剤 NOS402 についてもその抗癌活性を調べ、NOS31 と比較しながら研究開発を行う。

また、A-STEP ハイリスク挑戦タイプや AMED など視野に入れ開発を進めていく予定である。さらに本課題の成果を通して製薬会社などのパートナー企業を探し実用化・産業化に近づけていきたい。

3. 総合所見

成果が得られず、イノベーション創出は期待されない。

重要な種々の目標が達成されておらず、その要因分析も不十分である。発酵産物 NOS31 の大量取得に成功しなかったこと、またヒト腫瘍マウス移植系が実験そのものとして成立していないことが大きい。現状の化合物群のままでは、臨床をめざした開発のルールに乗せることは難しく、研究の発展の可能性は低いように思われる。