

# 難治性腫瘍に対する 低毒性抗腫瘍化合物

福岡大学 医学部 医学科 細胞生物学  
准教授 角田 俊之

2019年5月21日

KRAS as a key oncogene without direct inhibitors

## KRASとは？

癌において最も重要な癌遺伝子  
患者数

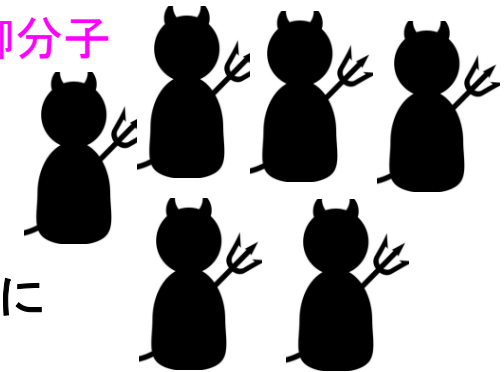


|            |     |    |
|------------|-----|----|
| 膵臓癌-KRAS   | 95% |    |
| 大腸癌-KRAS   | 45% | 9万 |
| 肺癌-KRAS    | 35% | 7万 |
| 悪性黒色腫-KRAS | 15% |    |

変異KRAS



変異KRAS制御分子



肺癌ではイレッサ等の分子標的薬はKRASに変異がある患者には効果なく保険適用外。

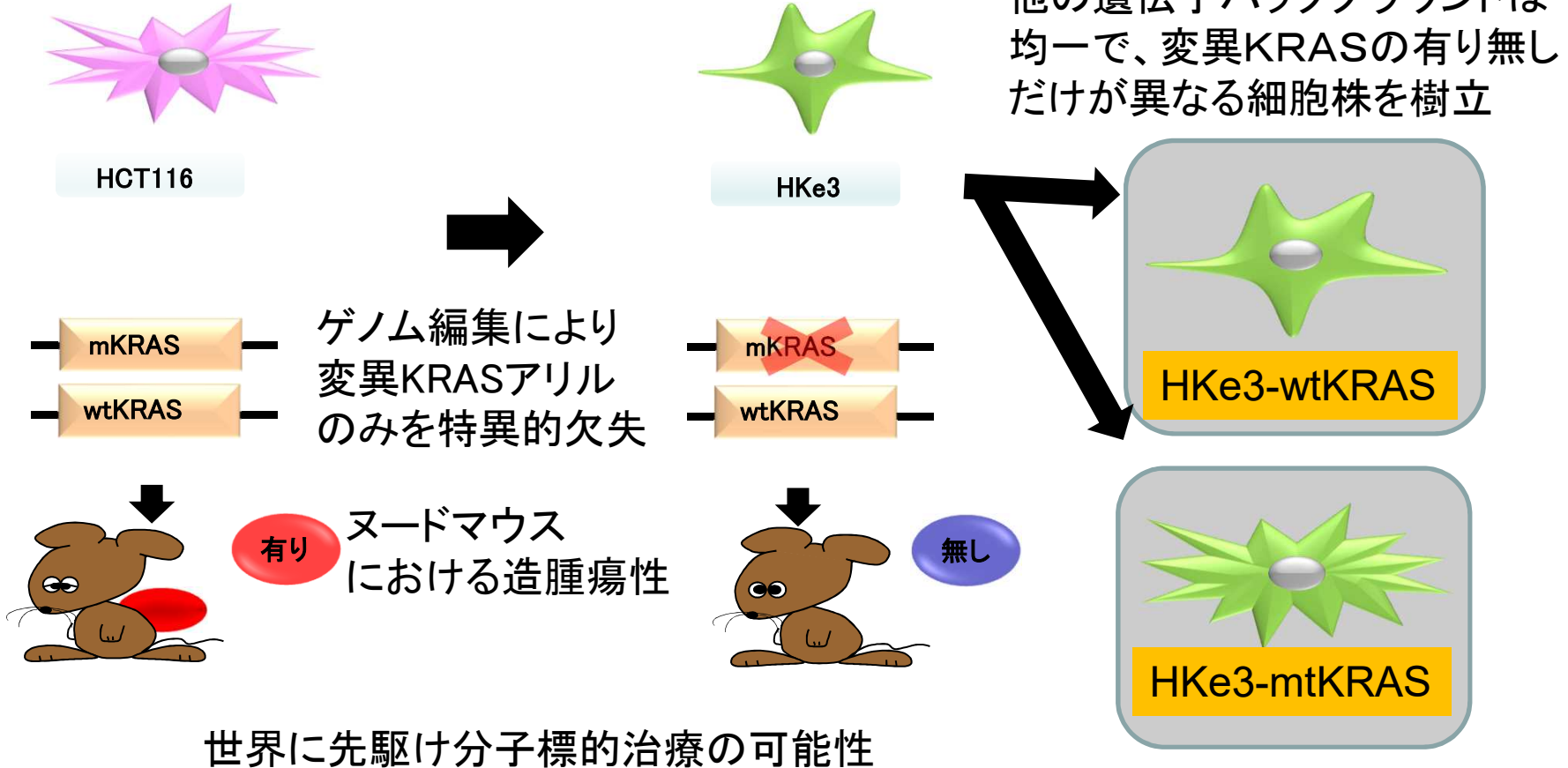
変異KRAS制御分子関連の癌はさらに多い。

日本だけで300～1000億円ほどの市場

## 世界の現状

- ★ 30年間変異KRASを直接標的とできる薬の開発に成功していない: Undruggable
- ★ 米国立癌研究所:2014年～ RAS project, 250億円の予算

## ヒト大腸癌細胞株



世界に先駆け分子標的治療の可能性

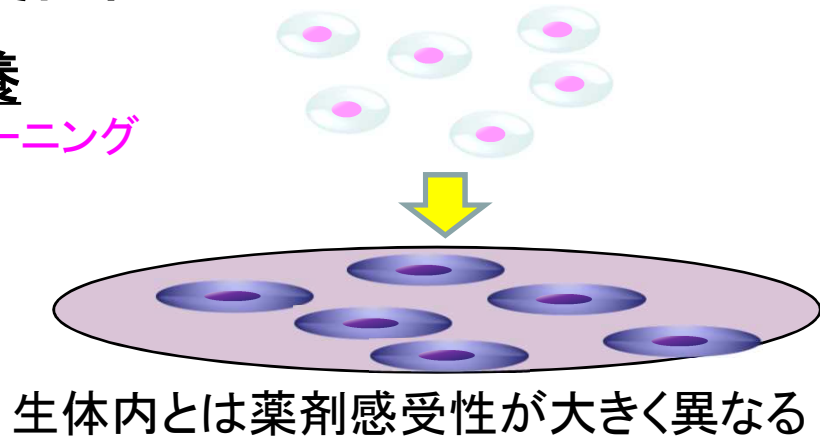
Shirasawa *et al.*, *Science* 260, 1993

## 変異KRAS関連シグナルに特化した解析が可能

# 3次元培養の優位性

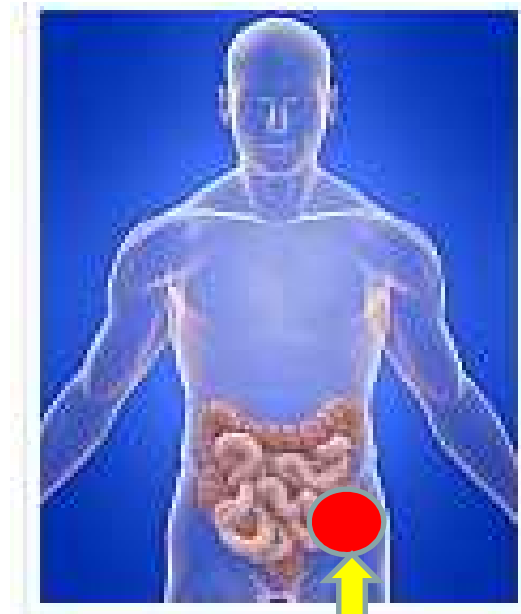
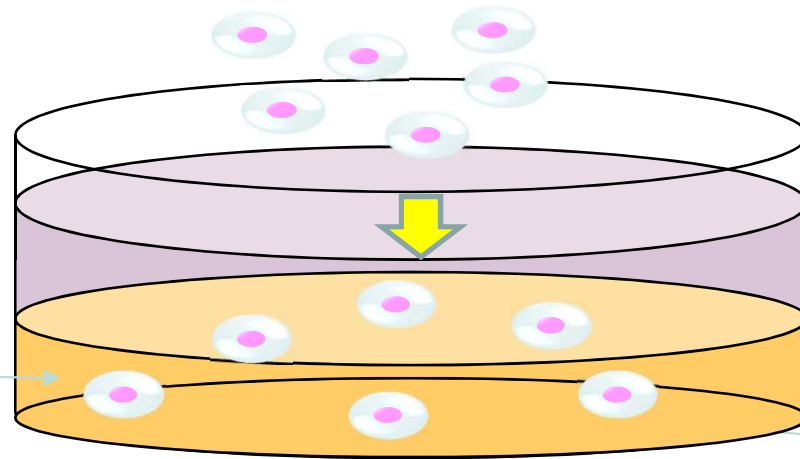
## 2次元単層培養

従来の薬剤スクリーニング  
に使用



## 3次元培養

マトリックス



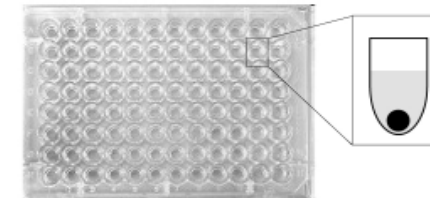
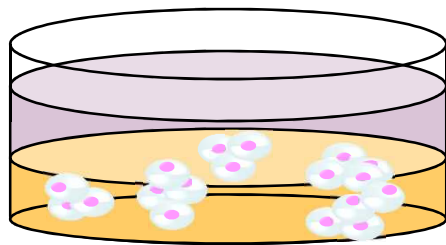
生体内と同じ環境

## Screening system

より簡便な3次元浮遊培養法を確立し、2種のisogenicな細胞株を用いることで、スクリーニングの段階から、効果および毒性を独自のスコアリングで判定できるスクリーニングシステムを用いた。

自動化による効率化

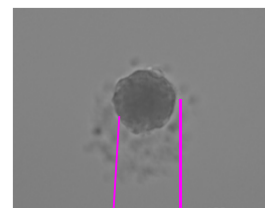
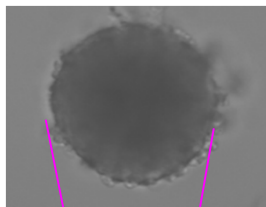
**3D**



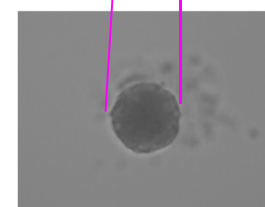
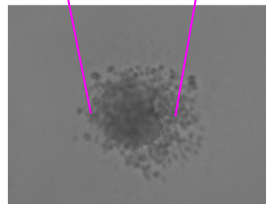
HKe3  
+変異KRAS  
癌モデル

HKe3  
+野生型KRAS  
正常モデル

control



化合物X

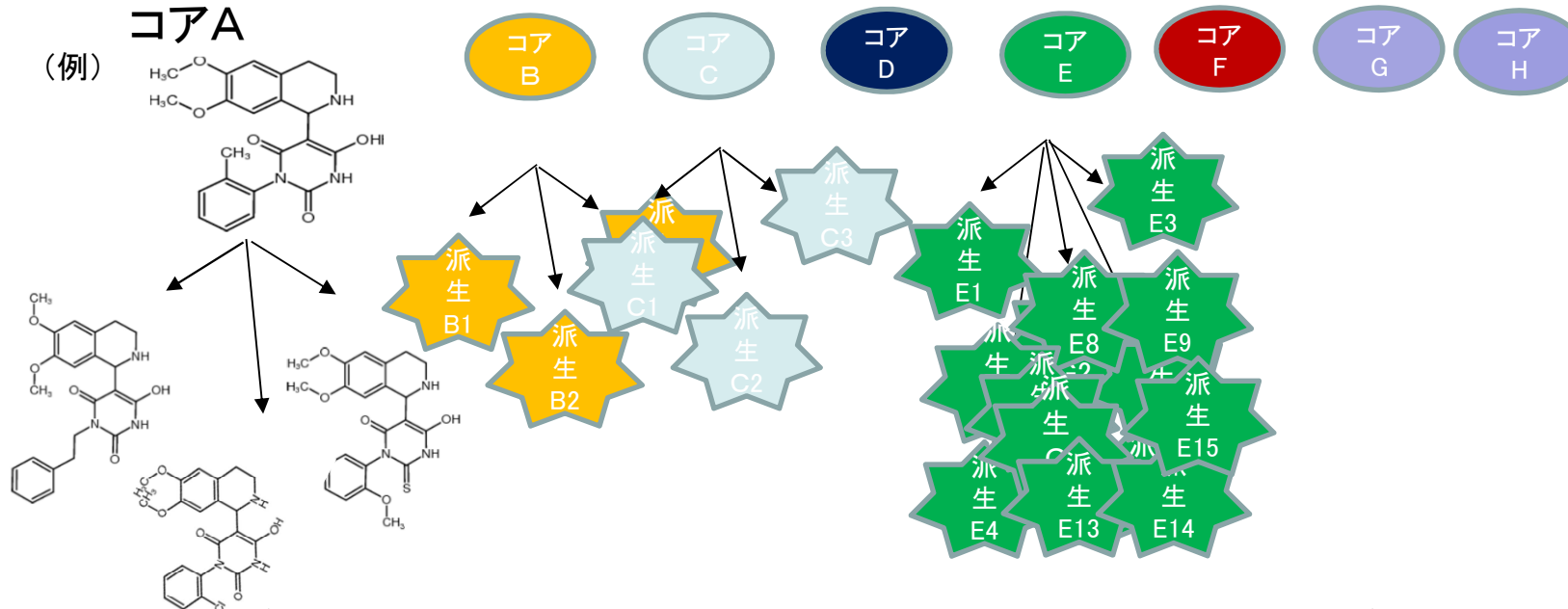


プレ毒性試験もできる  
スクリーニングシステム  
の確立

## Result of screening (1)

### 天然物由来化合物ライブラリーのスクリーニング (コアドラッグ500種類)

★ 変異KRASを有する癌に特異的に効果のある毒性のない7種類のコアドラッグA~Gを1次スクリーニングで取得



その後派生物のうち変異KRAS陽性スフェロイドのみ効果のある121(1%)化合物を取得(特許出願)

さらに、スコアリングにてスコアが高い45(0.3%)化合物取得

ヌードマウスにて効果を示すもののうち、抗腫瘍効果が良好な化合物STAR2(仮名)を取得

# 結果(1)

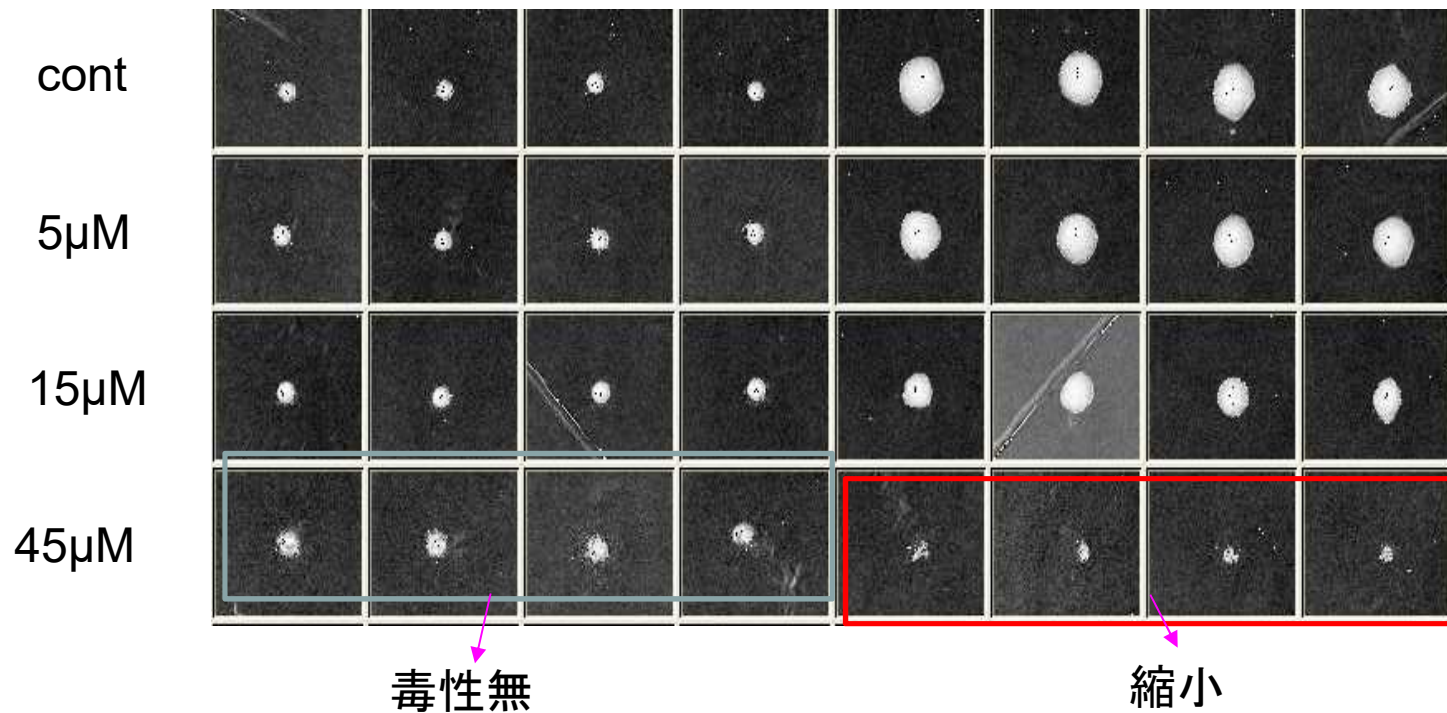
方法：3次元浮遊培養(3DFC)；Day 0にSTAR2投与、Day6に断面積計測。

The efficacy of growth suppression by STAR2 in 3DFC

3次元培養Day6

HKe3  
(野生型KRAS)

HCT116  
(変異型KRAS)



結果：3DFCにおいてSTAR2は変異KRASを有する細胞塊のみに効果

# 結果(2)

方法：3次元浮遊培養(3DFC)；Day 0にSTAR2, STAR3投与、Day6に断面積計測。

Efficacy of growth suppression by STAR2 on several types of cancer spheroids

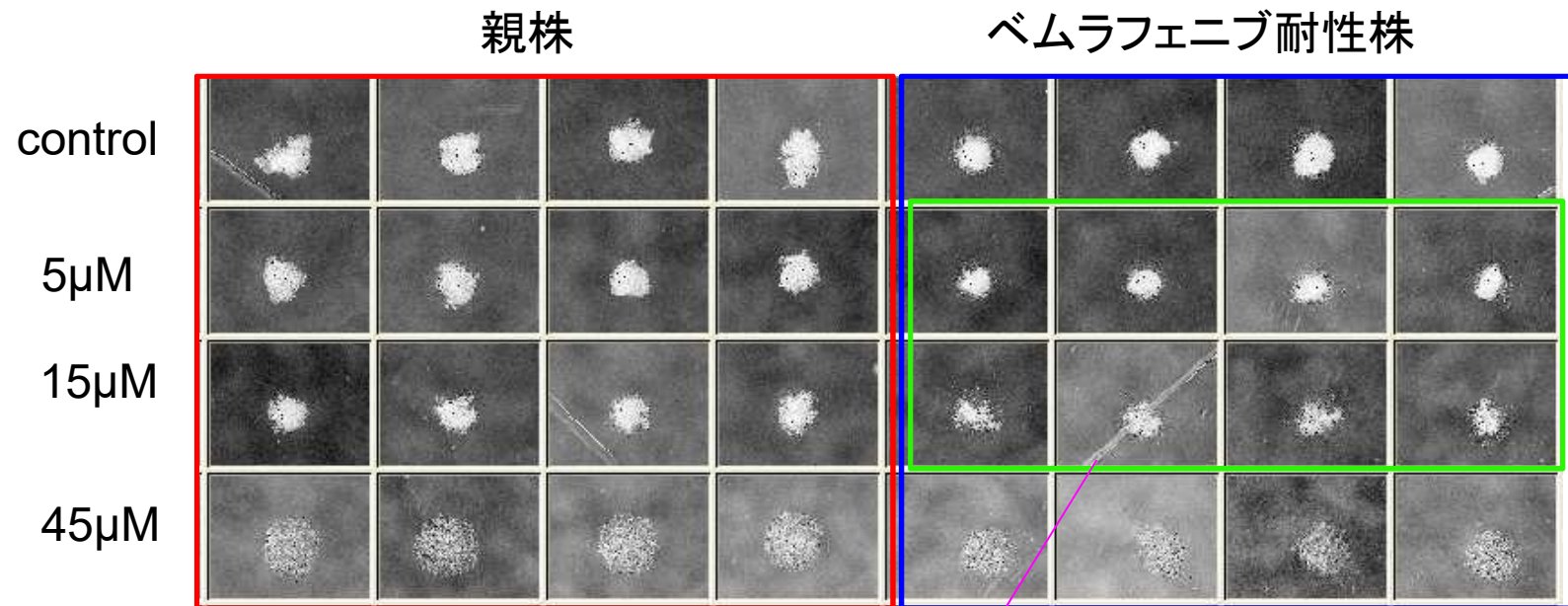
| tissue          | cell line   | Type of RAS mutation | Other mutations of hub genes | The effect of STAR2 | The effect of STAR3  |
|-----------------|-------------|----------------------|------------------------------|---------------------|----------------------|
| colorectal      | HCT 116     | KRAS(G13D)           | CDKN2A PIK3CA CTNNB1         | positive            | positive             |
| colorectal      | HKe3-mtKRAS | KRAS(G13D)           | CDKN2A PIK3CA CTNNB2         | positive            | positive             |
| colorectal      | DLD-1       | KRAS(G13D)           | APC TP53                     | positive(high conc) | negative             |
| colorectal      | SW 620      | KRAS(G12V)           | APC SMAD4 TP53               | positive            | positive             |
| colorectal      | SW 837      | KRAS(G12C)           | APC TP53                     | positive(high conc) | negative             |
| colorectal      | CCK-81      | WT                   |                              | positive            | negative             |
| colorectal      | HCT-15      | KRAS(G13D)           | APC PIK3CA TP53              | positive(high conc) |                      |
| colorectal      | LoVo        | KRAS(G13D)           | APC CDKN2A                   | Positive            |                      |
| colorectal      | SW 48       | WT                   | CTNNB1 TP53                  | Positive            |                      |
| colorectal      | COLO 201    | WT                   | CTNNB1 BRAF (V600E)          | Positive            |                      |
| colorectal      | COLO 205    | WT                   | BRAF(V600E)                  | Positive            |                      |
| colorectal      | LS 180      | KRAS(G12D)           | CTNNB1                       | positive            |                      |
| colorectal      | WiDr        | WT                   | BRAF(V600E) SMARCA4          | positive            |                      |
| lung            | A549        | KRAS(G12S)           | CDKN2A                       | positive(high conc) | negative             |
| lung            | Calu-6      | KRAS(Q61K)           | TP53                         | positive            |                      |
| lung            | A-427       | KRAS (G12V, G12D)    | CDKN2A CTNB1                 | positive            |                      |
| pancreas        | MiaPaka2    | KRAS(G12C)           | CDKN2A TP53                  | positive(high conc) | positive             |
| pancreas        | Hs 766T     | KRAS(Q61H)           | CTNNB1,TP53                  | positive(high conc) | positive (high conc) |
| pancreas (meta) | Hs 700T     | KRAS(G12C)           | TP53 SMARCA4                 | positive            | negative             |
| melanoma        | SK-MEL-28   | WT                   | BRAF(V600E) EGFR TP53        | positive            | positive             |
| stomach meta    | Hs 746T     | WT                   | TP53                         | positive            |                      |
| liver           | Hep G2      | NRAS(Q61L)           | CTNNB1                       | positive            | positive(weak)       |
| kidney          | A-498       | WT                   | CDKN2A VHL SETD2             | positive            | positive             |
| bladder         | J82         | WT                   | PIK3CA PTEN RB1TP53          | positive(high conc) |                      |
| prostate        | DU145       | WT                   | CDKN2A RB1TP53               | positive(high conc) |                      |
| breast          | MCF-7       | WT                   | PIK3CA CDKN2A                | positive(high conc) | negative             |
| breast          | BT549       | WT                   | RB1 TP53 PTEN SMAD4          | positive(high conc) |                      |
| breast          | MDA-MB-468  | WT                   | RB1 TP53 SMAD4 PTEN          | positive            |                      |
| breast          | MDA-MB-231  | KRAS(G13D)           | BRAF (G464V) CDKN2A TP53     | positive(high conc) |                      |
| breast          | Hs 578T     | HRAS(G12D)           | TP53                         | positive(high conc) |                      |
| breast          | BT-20       | WT                   | TP53 PI3CA RB1               | positive            |                      |
| breast          | HCC1937     | WT                   | TP53 BRCA1 PTEN              | positive            |                      |
| cervix          | HeLa        | WT                   |                              | positive            | positive             |
| cervix          | C-33A       | WT                   | PTEN                         | positive            |                      |
| cervix          | SiHa        | WT                   |                              | positive            |                      |
| endometrium     | HEC-1-B     | KRAS(G12D)           | PIK3CA                       | positive(high conc) | negative             |
| endometrium     | AN3 CA      | KRAS(G12D)           | PTEN PIK3R1 FGFR2            | positive            |                      |
| ovarian         | Caov-3      | WT                   | PTEN                         | positive(high conc) |                      |



# 結果(3)

方法: 患者由来のメラノーマ細胞親株(BRAFV600E変異有)と  
ベムラフェニブ(BRFFV600E阻害剤)耐性細胞株樹立し、  
3次元浮遊培養(3DFC); Day 0にSTAR2投与、Day6に断面積計測。

Efficacy of growth suppression by STAR2 on  
vemrafenib-resistant melanoma spheroids

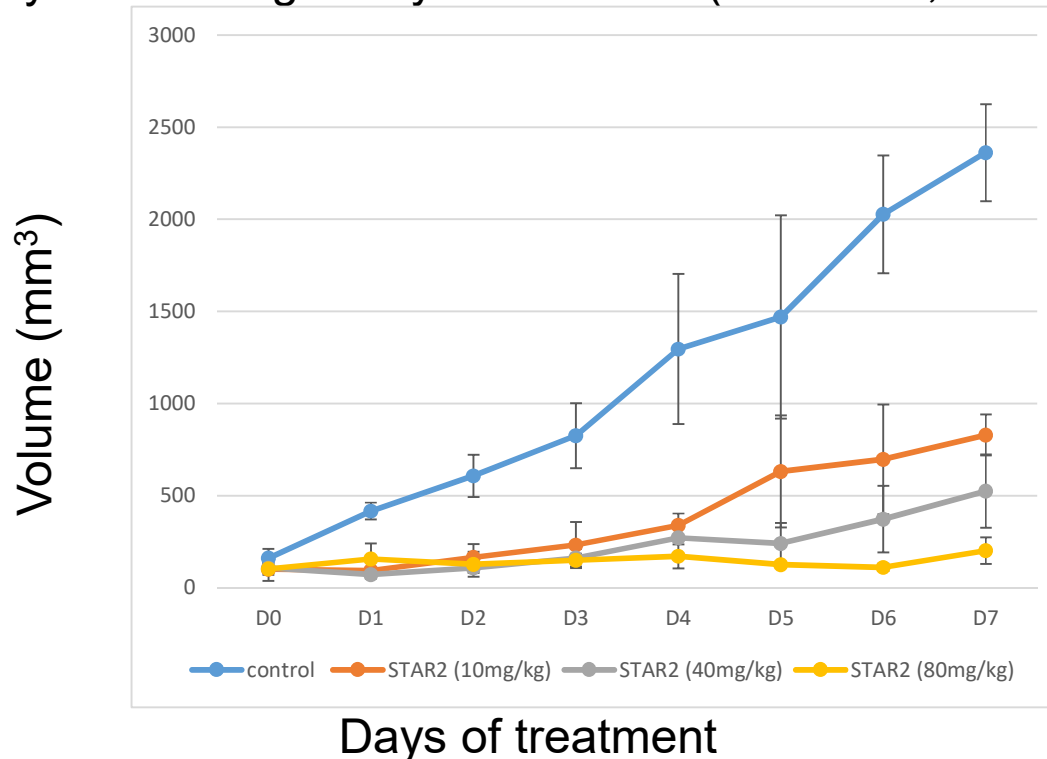


結果: 薬剤耐性株により増殖抑制効果あり。

## 結果(4)

方法:ヌードマウス皮下にマトリゲルに懸濁した  
 $1.5 \times 10^6$ 細胞播種し、腫瘍長径が5mmを超えた時点  
から、STAR2を腹腔内へ一日一回投与。

Assays of tumorigenicity for HCT116 (STAR2 IP, once a day)



結果:GI50(50%増殖阻害濃度)=7.7mg/kg

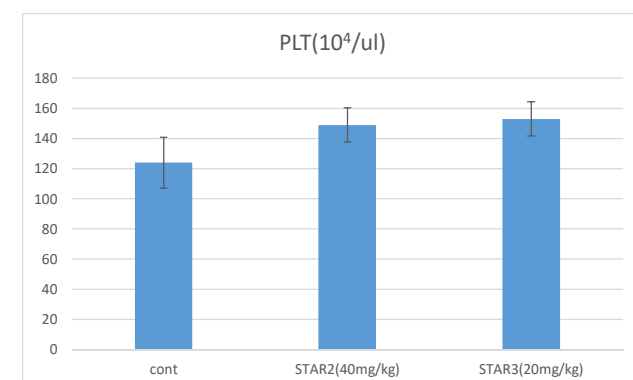
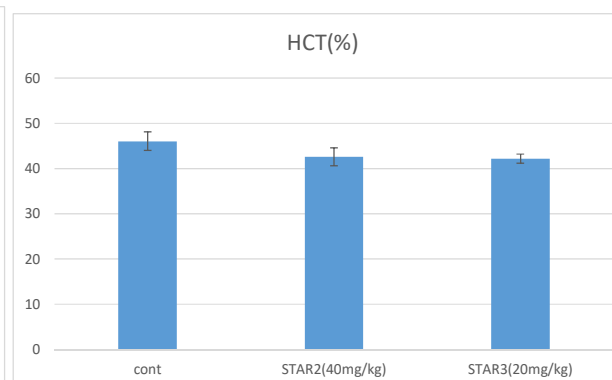
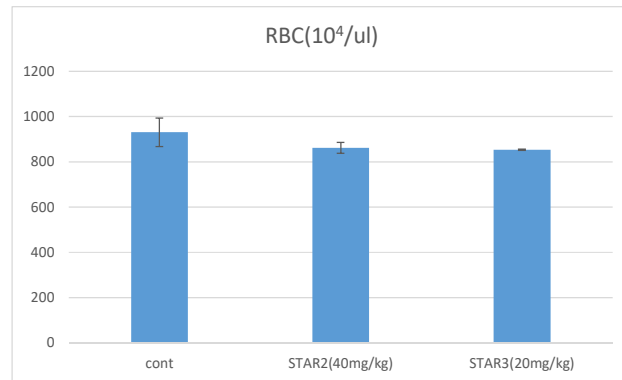
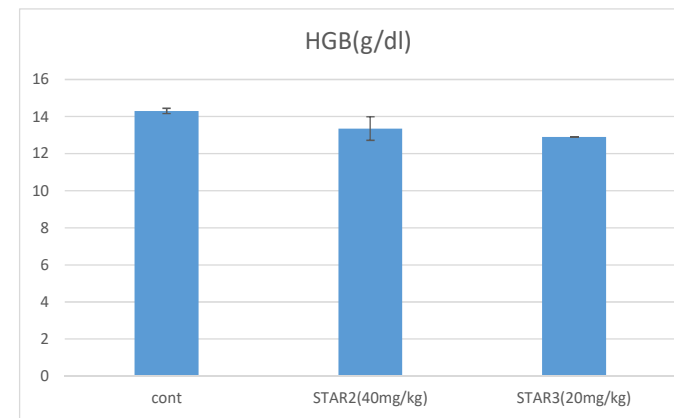
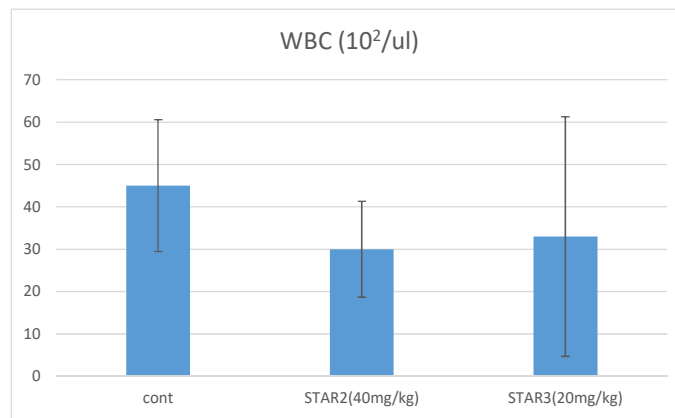
80mg/kgでも毒性無、溶解度良好

その他、4週間投与でも毒性無  
飲水投与でも毒性無

# 結果(5)

方法:ヌードマウス皮下にマトリゲルに懸濁した $1.5 \times 10^6$ 細胞播種し、腫瘍長径が5mmを超えた時点から、STAR2,3を腹腔内へ一日一回投与。Day8に採血

## 血液学的検査 (Day8)



結果:正常

- 標的タンパク質(2つ)は既に同定し、それぞれが多くのタンパク質と結合するハブ分子であることが分かった。  
更にそれぞれの阻害により、相加または相乗効果が発揮されている可能性がある。  
(新規関連特許出願準備中のため詳細は提示できません。)
- 化合物最適化(九州大学薬学部との共同研究)により効果の高いものを取得済み。
- フラグメント分子軌道(FMO)法を用いた解析にて(九州大学理学研究院化学部門との共同研究)標的タンパク質と化合物の結合部位が決定できたので、その情報を基にさらなる新規化合物の創生を試みている。
- 薬剤効果を鋭敏に反映できるバイオマーカーも開発中。

## 従来技術とその問題点

- 既に実用化されているものには、プラチナ製剤等の殺細胞性の抗癌剤があるが、正常細胞も標的にすることに起因する副作用が発生し、患者に多大な苦痛を与える。
- 分子標的薬は耐性化が問題となる。
- 抗腫瘍抗体薬などの生物学的製剤は価格が非常に高く、患者に経済的負担をかける。

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった毒性を低減させ得る化合物を入手することに成功した。
- 変異KRAS陽性癌やその他の難治性癌に対しては従来の抗癌剤は使用できないことが多いが、この薬剤はあらゆる癌に有効である可能性が高い。
- 化合物であることより、抗体薬に比べて製造コストが低い。

# 想定される用途

- 対象となる癌腫は変異KRAS陽性の大腸癌や肺がん、膵臓癌に加え、変異KRAS陽性でなくても、ベムラフェニブ耐性変異BRAF陽性メラノーマ、トリプルネガティブ乳がん、ホルモン療法抵抗性前立腺癌等、  
現在分子標的治療薬のない多くの難治性癌に対して考えられる。  
(癌領域における最大のアンメットメディカルニーズを充足できる薬剤)。
- 副作用がないために難治性癌患者以外に、  
前立腺癌の早期でPSA監視療法等を行っている  
早期がん患者に対しても投与可能である。
- また、標的タンパク質の特性に着目すると、  
アルツハイマーなどの神経変性疾患や糖尿病などの代謝性疾患に  
対する用途に展開することも可能と思われる。

## 実用化に向けた課題

- 現在、物質特許取得が可能なところまで海外特許を含め構造検索を終了し、全く新しい構造の新規改変化合物を開発中。
- 今後、ヌードマウスにおける抗腫瘍効果や毒性について実験データを取得していく。
- 実用化に向けて、化合物の体内動態を解析する必要もあり。



# 企業への期待

- 化合物の最適化については、  
現在九州大学薬学部と共同で行っている。  
さらなるスピードアップが製薬企業との  
共同研究により可能。
- 化合物と標的のin vitroでの結合の確認  
[等温滴定カロリメトリー(ITC)など]  
および評価化合物が標的と結合したことを  
どうモニターするか等。
- 臨床治験の実施

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : フェニルテトラヒドロピリドインドール誘導体及び医薬組成物(未公開)
- 出願番号 : 特願2018-147801 (2018年8月6日 出願)
- 出願人 : 福岡大学 [80%]、九州大学 [20%]
- 発明者 : 白澤専二\*、角田俊之\*\*  
福岡大学 医学部 医学科 細胞生物学  
: 大嶋孝志\*、矢崎亮\*\*\*  
九州大学 薬学部 環境調和創薬化学分野  
\* : 教授、\*\* : 准教授、\*\*\* : 助教

# お問い合わせ先

**福岡大学 研究推進部 産学官連携センター**  
**担当コーディネーター**  
**芳賀 慶一郎**

**TEL 092-871 - 6631 (内線2809)**

**FAX 092-866 - 2308**

**e-mail [sanchi@adm.fukuoka-u.ac.jp](mailto:sanchi@adm.fukuoka-u.ac.jp)**