

# 新規ERストレス誘導剤の開発と 骨損失性腫瘍治療への応用

大阪公立大学 大学院理学研究科

講師 中山 淳

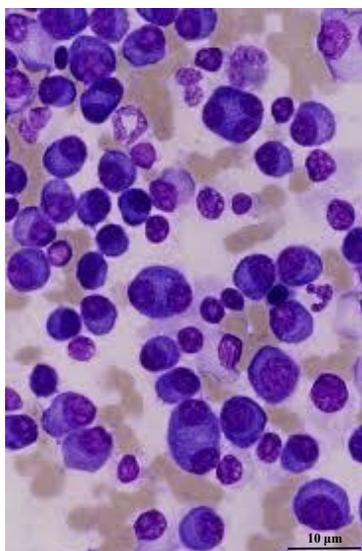
2022年11月1日



# 骨損失性腫瘍：多発性骨髄腫

- ◆ 造血系腫瘍の一種で、骨髄内の形質細胞が多発性骨髄腫細胞へとがん化
- ◆ 新規罹患数： 約 7,000人/年（日本） → 罹患 約7,600人（2019年）  
約 35,000人/年（米国） 死亡 約4,200人（2020年）  
約 180,000人/年（世界）  
国立がんセンターがん情報サービス  
([https://ganjoho.jp/reg\\_stat/statistics/stat/cancer/26\\_mm.html#anchor1](https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/cancer/26_mm.html#anchor1))
- ◆ 形質細胞のがん化による免疫抑制や貧血、広範な骨破壊性病変の形成等の症状を呈し、著しくQuality of Life (QoL)やActivities of Daily Living (ADL)を低下させる
- ◆ 高齢者に多く完治困難な難治性疾患

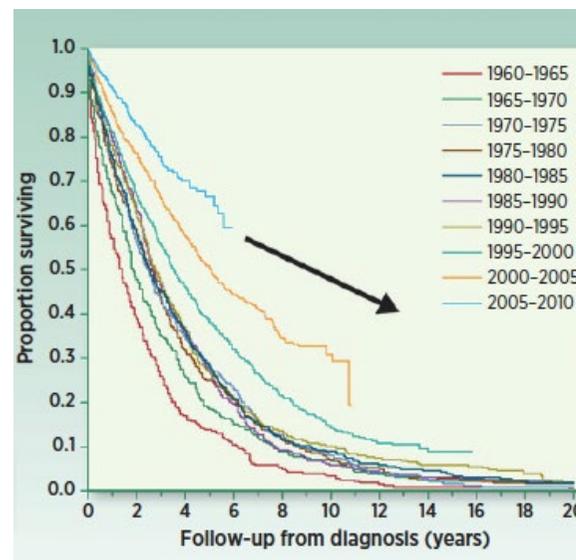
病理組織



臨床所見 (X-ray)



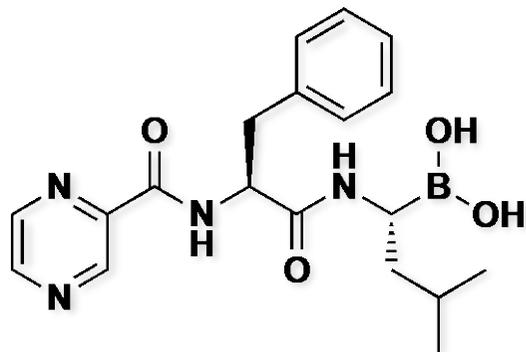
多発性骨髄腫の予後



# 骨損失性腫瘍治療薬の現状

## ◆ 抗腫瘍薬

プロテアソーム阻害剤  
(ボルテゾミブ)



Bortezomib

有効な治療薬だが、副作用リスクは高い。  
(特に血球減少は頻発する)

## ◆ 骨破壊性病変治療薬

ビスホスホネート製剤

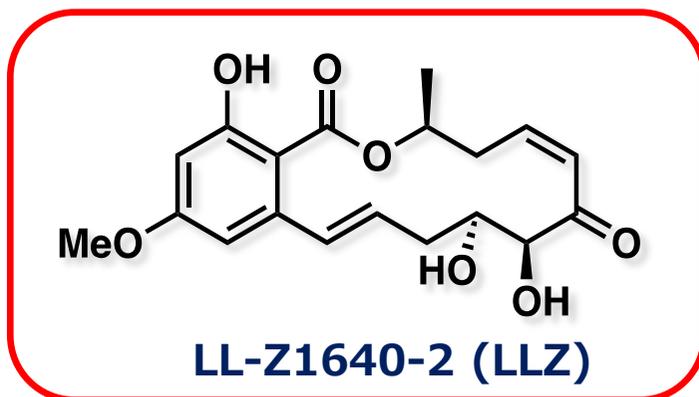
破骨細胞形成を強力に抑制するが、  
顎骨壊死のリスクも生じる。  
脊椎骨折以外には有効性低い

リコンビナントPTH

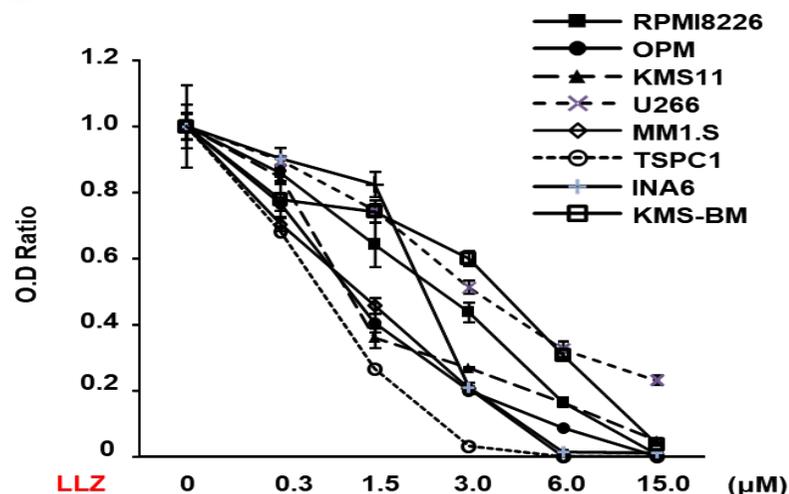
カルシウム吸収を高めるが  
骨肉腫発生のリスクがある

副作用リスクが小さく抗腫瘍効果と骨破壊性病変を  
同時に治療できる薬剤の開発は骨損失性疾患治療に有益

# 天然マクロライド: LL-Z1640-2 (1)



## ◆ 抗腫瘍活性

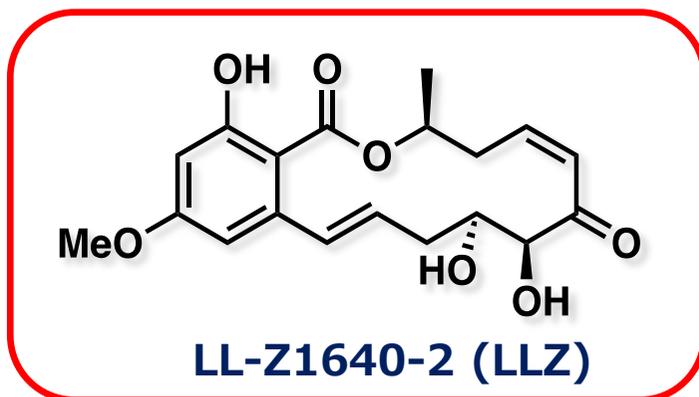


各種ヒト骨髄腫細胞にLLZを24時間処理し、細胞の増殖への影響をCCK-8アッセイを用いて評価した。



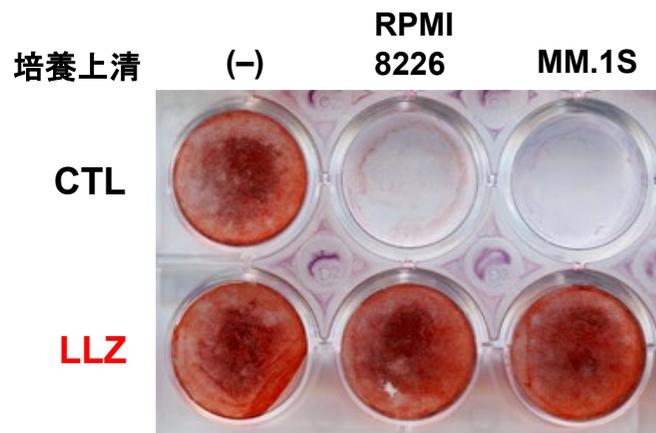
マウス骨髄腫細胞株5TGM-1を免疫不全マウスの脛骨に移植し、腫瘍の生着確認後からLLZを20mg/kgを隔日腹腔内投与した。LLZ治療群では腫瘍の増大阻止と骨病変形成の抑制が確認できる。

# 天然マクロライド: LL-Z1640-2 (2)



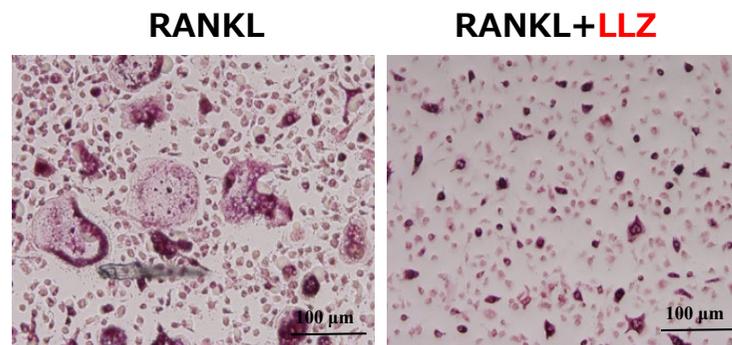
## ◆ 骨病変改善作用

抑制された骨芽細胞分化を回復



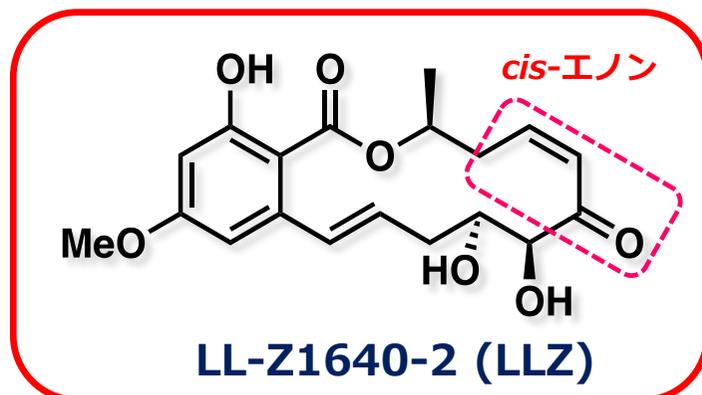
MC3T3-E1細胞を用いた骨芽細胞分化培養系に骨髓腫培養上清を添加し、21日間培養後、石灰化結節をアリザリンレッド染色にて検出した。

破骨細胞形成抑制



マウス初代培養細胞を用いた破骨細胞形成系にLLZ1640-2 (0.3  $\mu$ M)を添加し、7日間培養後、破骨細胞をTRAP染色にて検出した。

# 天然マクロライド: LL-Z1640-2の課題



強力な抗腫瘍効果と骨改善作用を併せ持つ  
有望リード化合物であることが明らかとなった。

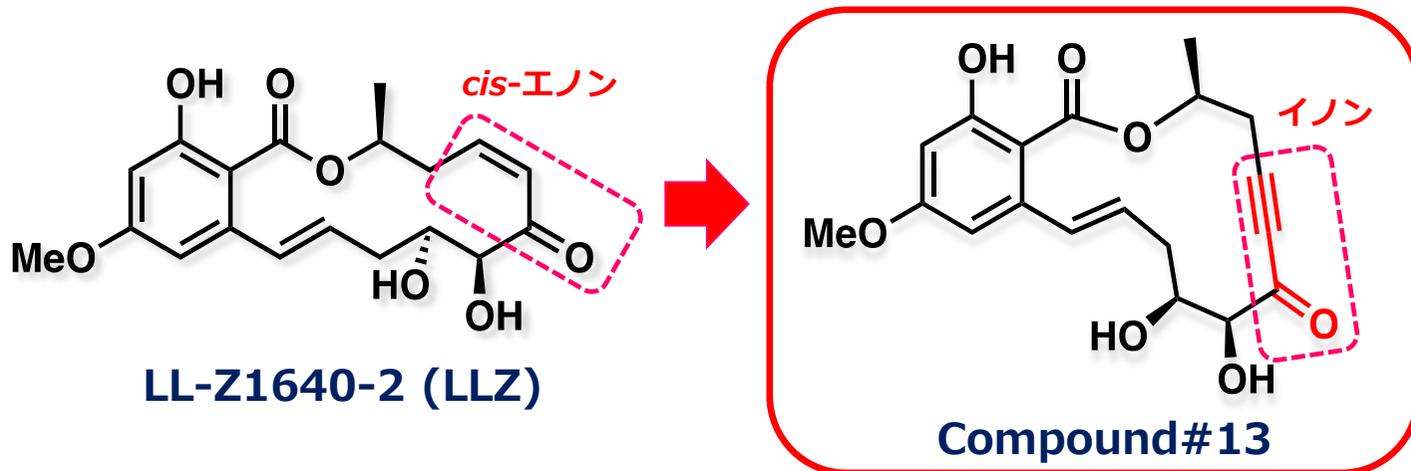
## ◆ 問題点

活性発現部位である*cis*-エノンは生体内で容易に  
*trans*-エノンへと異性化してしまう。

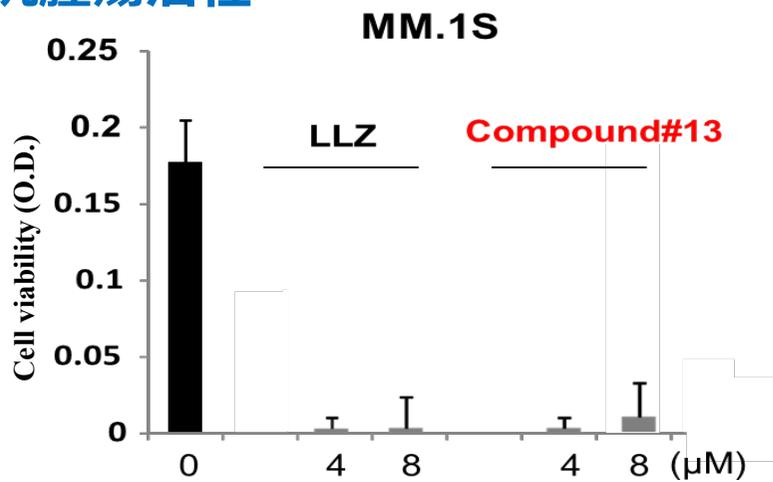


LL-Z1640-2をリード化合物として  
新たな化合物の創製を目指す。

# イノンの導入による 新規化合物の創製 (1)



## ◆ 抗腫瘍活性

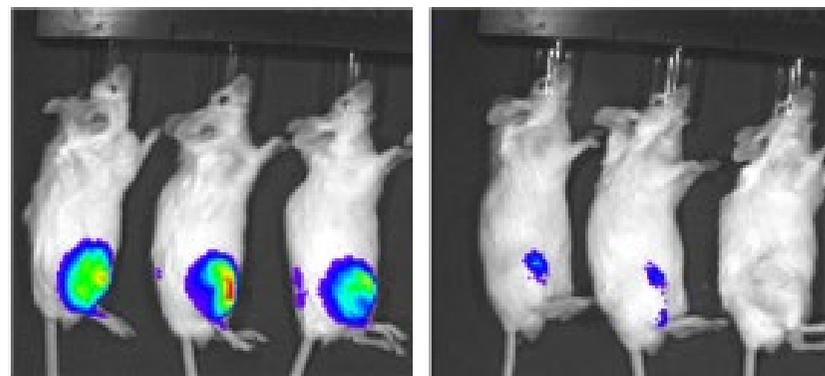


\*実験方法は前頁と同様。

## 骨髄腫担がんマウス

#13 非投与群

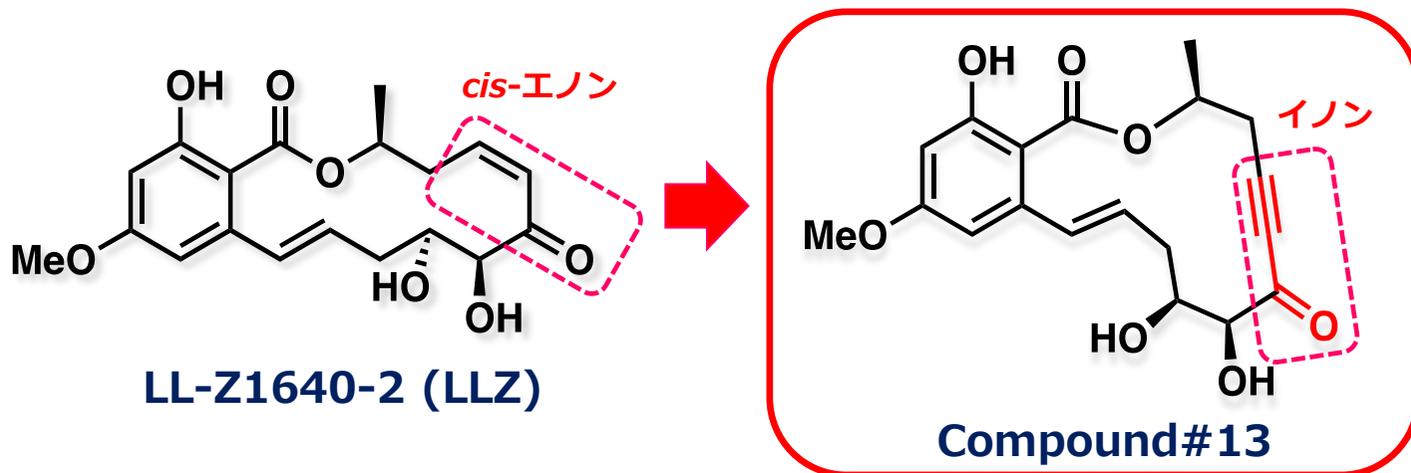
#13 投与群



\*実験方法は前頁と同様。

LLZと同様の強力な抗腫瘍活性を示した。

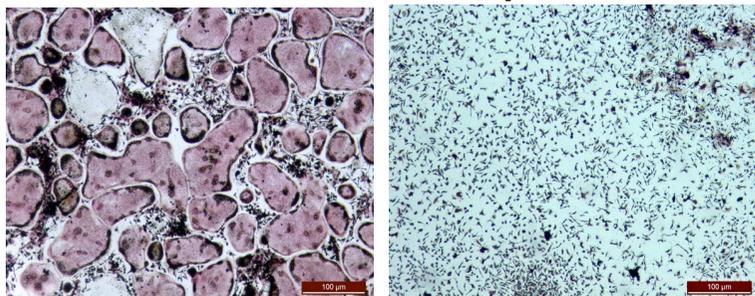
# イノンの導入による 新規化合物の創製 (2)



## ◆ 骨病変改善作用

破骨細胞形成抑制

RANKL+  
Compound#13



X線による骨形態観察

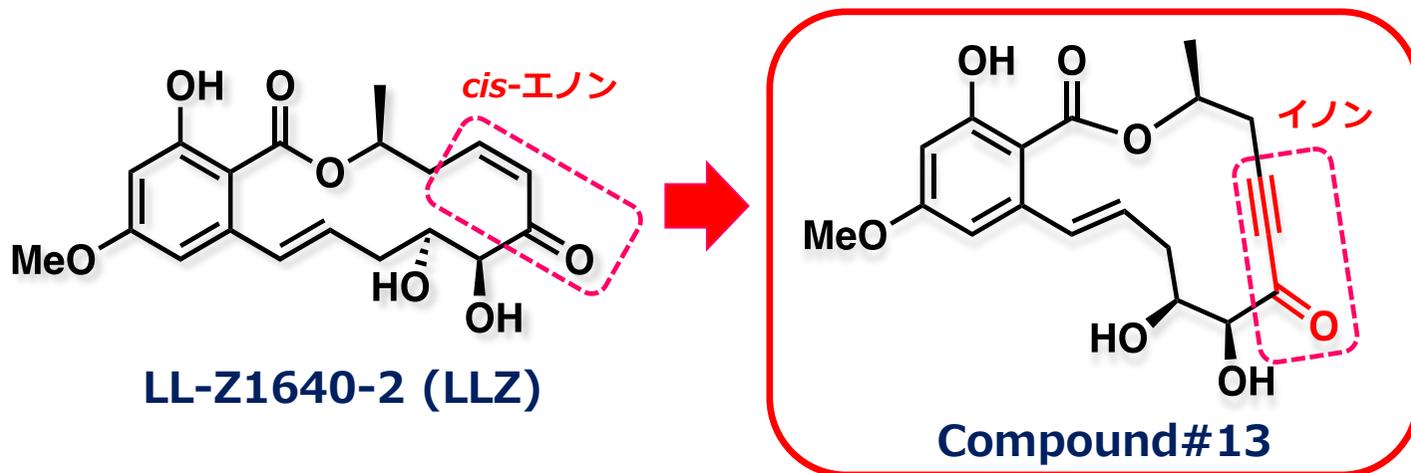
#13 非投与 #13 投与



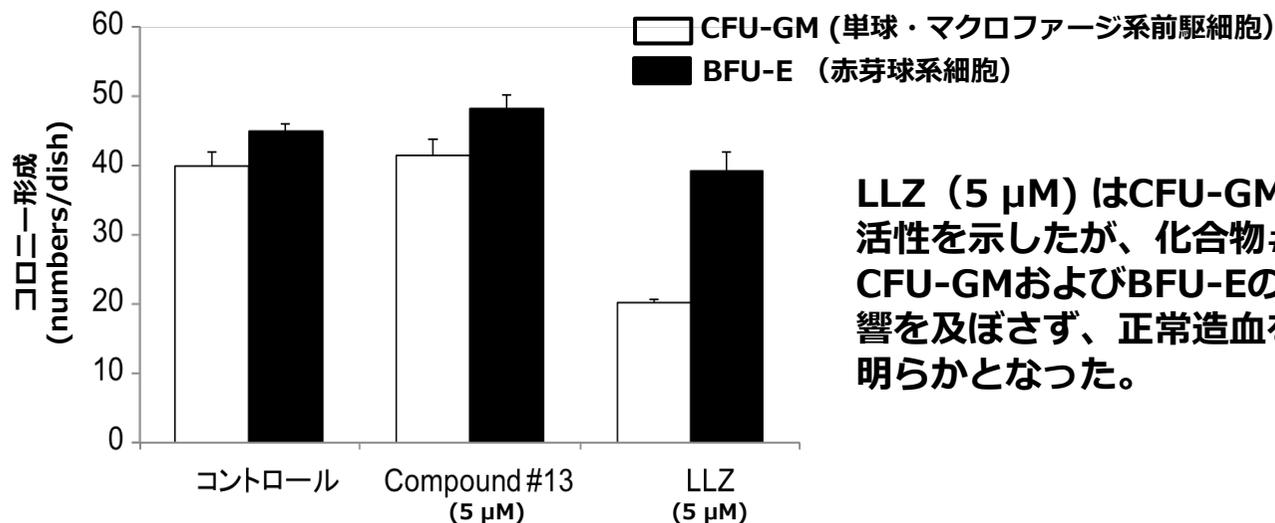
\*実験方法は前頁と同様。

骨病変改善効果が認められた。

# イノンの導入による 新規化合物の創製 (3)



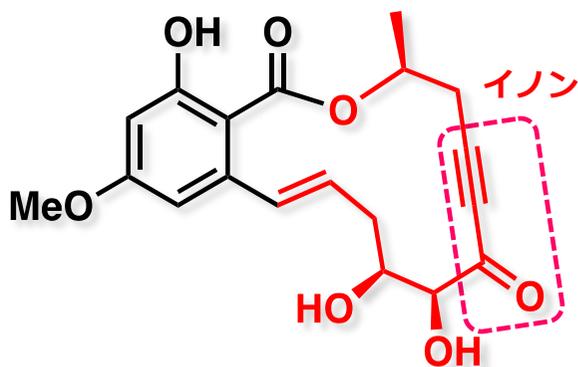
## ◆ 正常ヒト造血幹細胞への影響



LLZ (5 μM) はCFU-GMに対して細胞傷害活性を示したが、化合物#13 (5 μM)はCFU-GMおよびBFU-Eのコロニー形成に影響を及ぼさず、正常造血を抑制しないことが明らかとなった。

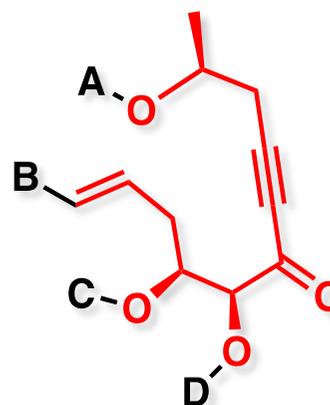
Compound#13は治療濃度域で正常造血抑制を誘導しない。

# イノン含有化合物群の創製



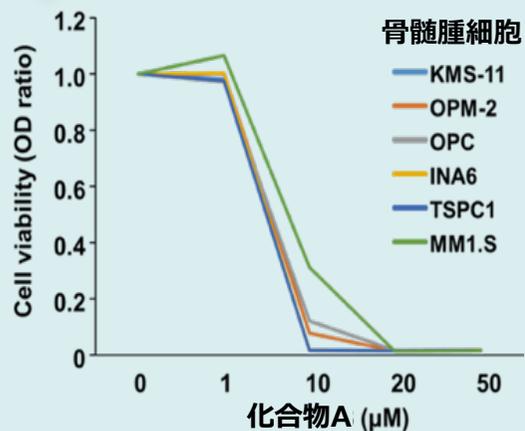
Compound#13

強力な抗腫瘍効果と骨改善作用  
+ 非造血抑制効果

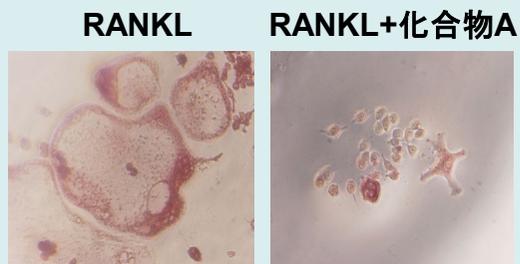


必須構造を含む  
構造簡略化誘導体群

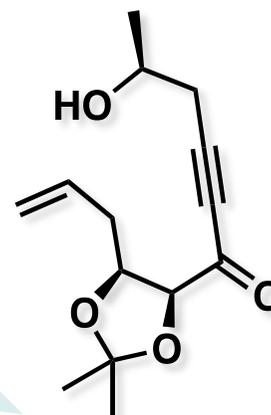
## ◆ 抗腫瘍活性



## ◆ 破骨細胞形成抑制



\*実験方法は前頁と同様。

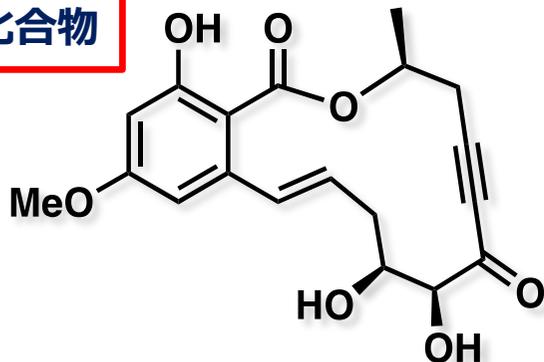


例：化合物A

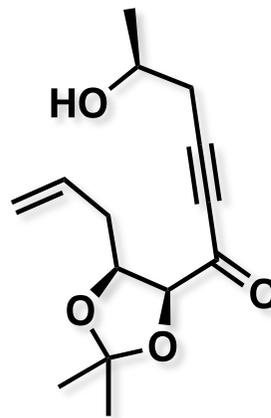
その他  
イノン含有化合物群を  
多数保有。

# 新規ERストレス誘導剤の獲得

保有代表的  
イノン化合物



Compound#13



化合物A

- ◆ 作用標的に関して  
イノン含有分子プローブの合成

骨髄腫細胞に関してpull-downアッセイ  
(標的タンパクの釣り出し実験)の実施

LC-MS/MS解析

小胞体関連タンパクの存在を示唆

- ◆ ERストレス誘導の確認

分子量  
マーカー none A #13



ERストレス  
マーカーである  
CHOPが発現

化合物で処理した骨髄腫細胞の  
細胞破碎液をSDS-PAGEで分析し、  
CHOP抗体で免疫染色した。

強力にERストレスを惹起する  
新規のイノン化合物群を獲得した

## 新技術の特徴・従来技術との比較

- ある種のイノン化合物がERストレスを誘導するという新たな知見を得た。
- 従来の低分子抗腫瘍薬は、抗腫瘍効果あるいは骨破壊抑制のいずれかに特化しているが、本薬剤はこれら作用を併せ持つ。
- 治療域で正常造血を阻害しない薬剤であるため、抗腫瘍薬誘導性血球減少リスクの低い薬剤となる可能性を持つ。

## 想定される用途

- 代表的ERストレス誘導剤(例:ツニカマイシンやサプシガルジン)とは異なる作用メカニズムであり、ERストレス関連研究に有用である。
- 骨髄腫に対して強力な抗腫瘍活性を示すため、抗腫瘍薬としての開発が期待できる。
- 破骨細胞分化を抑制するため、骨損失疾患(関節リウマチ等)治療に応用できる。

## 実用化に向けた課題

- ERストレスを誘導する作用メカニズムの完全解明には至っていないため、特に強力な生物活性を示す化合物#13などの詳細な作用標的決定が必要である。
- 動物実験における体重減少は認められていないが、毒性試験や安全性試験の詳細が不明である。

## 企業への期待

- ERストレス誘導剤としての研究試薬開発
- 骨髄腫に対する治療薬リード化合物としての開発研究
- 特殊動物モデルを用いた有効性、安全性、毒性確認の補助
- 共同研究開発を希望

## 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 新規イノン化合物及びその用途
- 国際公開番号 : WO2020/090700
- 出願人 : 公立大学法人大阪
- 発明者 : 中山淳 他5名

# 産学連携の経歴

- 2018年 AMED橋渡し研究シーズA事業に採択
- 2019年 AMED橋渡し研究シーズA事業に採択

# お問い合わせ先

**大阪公立大学**

**URAセンター 三村 忠昭**

**TEL 06-6605-3550**

**FAX 06-6605-2058**

**e-mail [gr-knky-uracenter@omu.ac.jp](mailto:gr-knky-uracenter@omu.ac.jp)**

新技術説明会  
New Technology Presentation Meetings!

大阪公立大学  
Osaka Metropolitan University

総合知で、超えていく大学。



大阪公立大学

Osaka Metropolitan University

大阪市立大学 × 大阪府立大学



大阪公立大学のHPで**研究シーズ集**を公開しています。QRコードもしくは下記URLよりご覧ください。

<https://www.omu.ac.jp/research/collaboration/seeds/>

大阪公立大学 研究シーズ一覧

検索

