

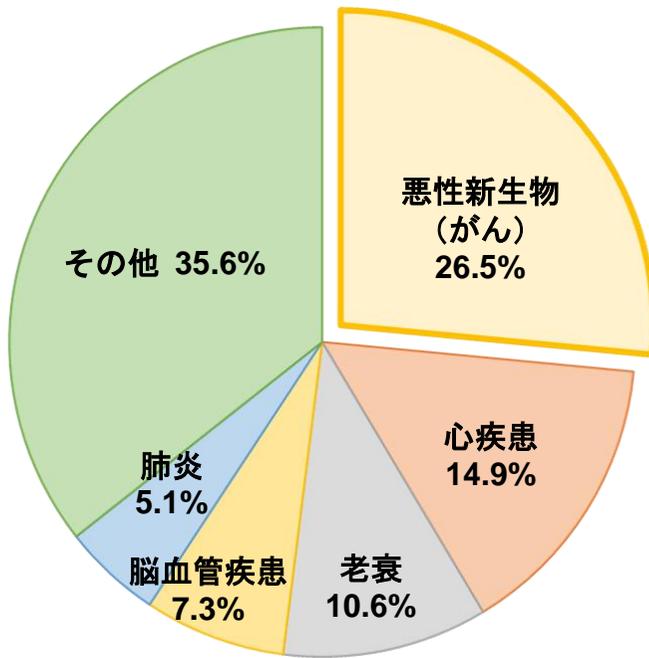
抗がん剤抵抗性を改善する 細胞接着不全薬剤の開発

日本大学 生物資源科学部
バイオサイエンス学科
教授 袴田 航

2024年1月25日

がんとその治療法

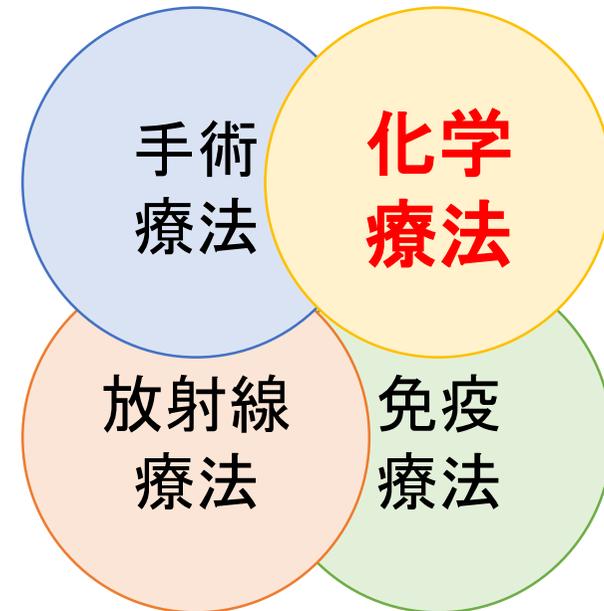
日本における主な死因の構成割合



(2021年度 人口動態統計)

日本人の生涯がん罹患率 (2019年)
男性 : **65.5%**、女性 : **51.2%**

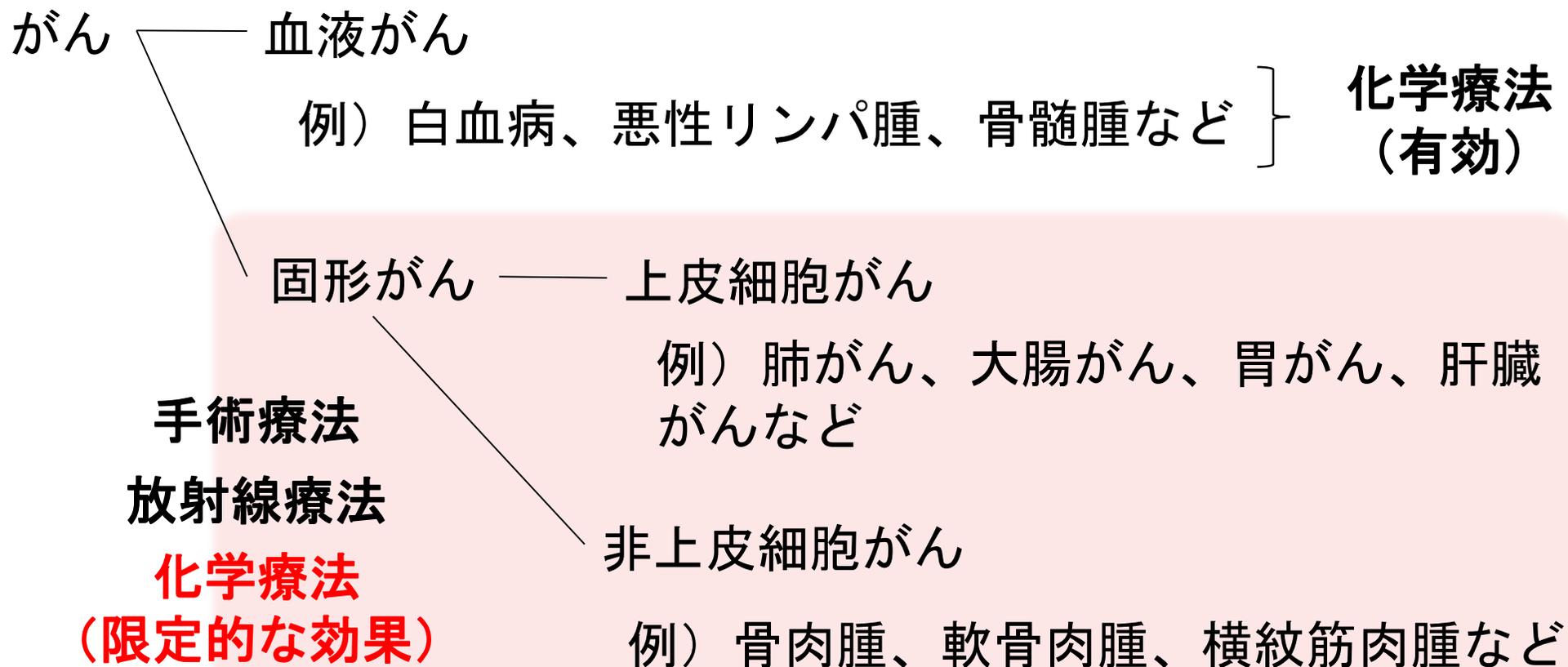
がんの代表的な治療法



がん化学療法の特徴
広範囲に効果が期待できる
強い副作用が課題になっている

がんの化学療法の課題

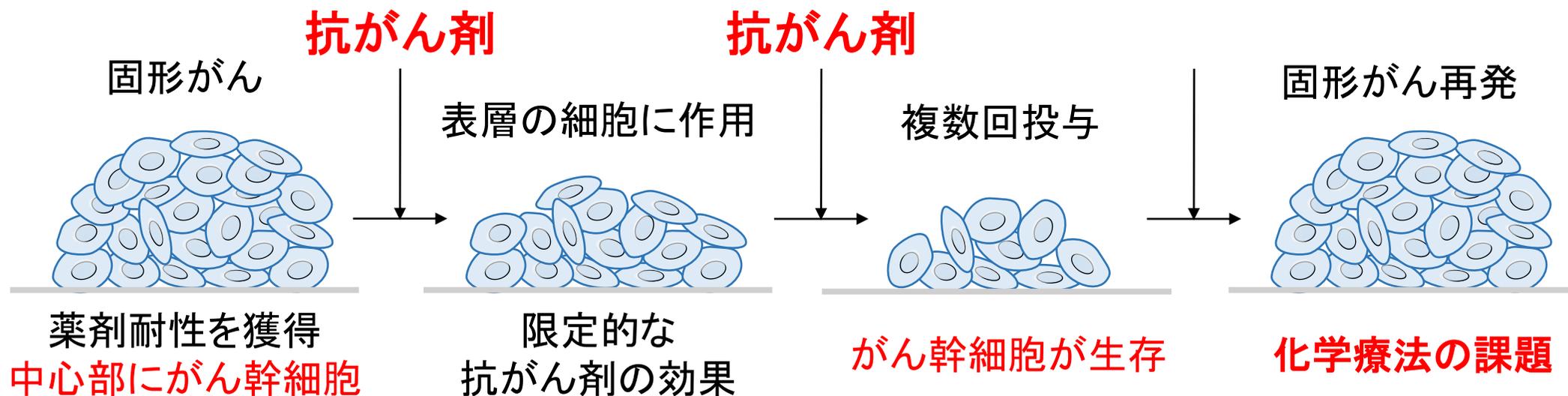
がんの種類と治療法



化学療法における薬剤耐性と従来技術

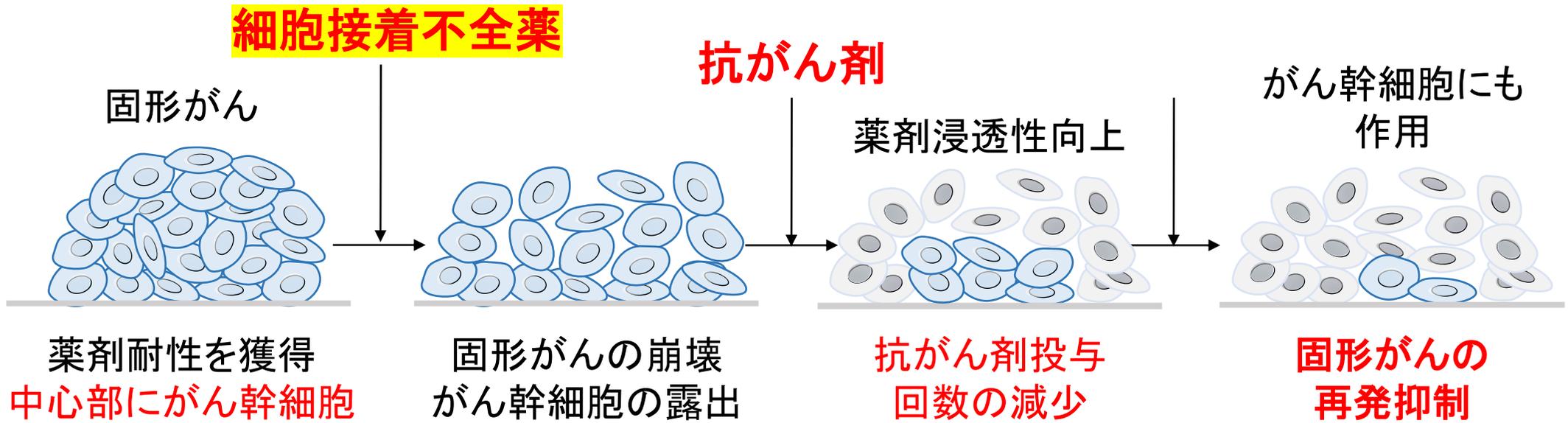
要因	作用機序	上市医薬品
薬剤ポンプによる 抗がん剤の排出	薬剤ポンプ阻害	ベラパミル シクロスポリン A
抗がん剤の代謝 不活性化	薬物代謝酵素阻害	エタクリン酸 エザチオスタット
低酸素状態による 免疫低下	低酸素活性化 プロドラッグ	アパジコン チラパザミン
がん幹細胞による 腫瘍組織再生	幹細胞増殖阻害 本発明の標的	なし
強固な細胞接着に よる薬剤の未送達	本発明の標的	なし

薬剤耐性と副作用



- ✓ 固形がんの薬剤耐性（**物理的な効果**）のため抗がん剤が効きずらく投与回数が増える＝副作用が強くなる
- ✓ 分化・増殖能を有するがん幹細胞が残存するため固形がんが再発する

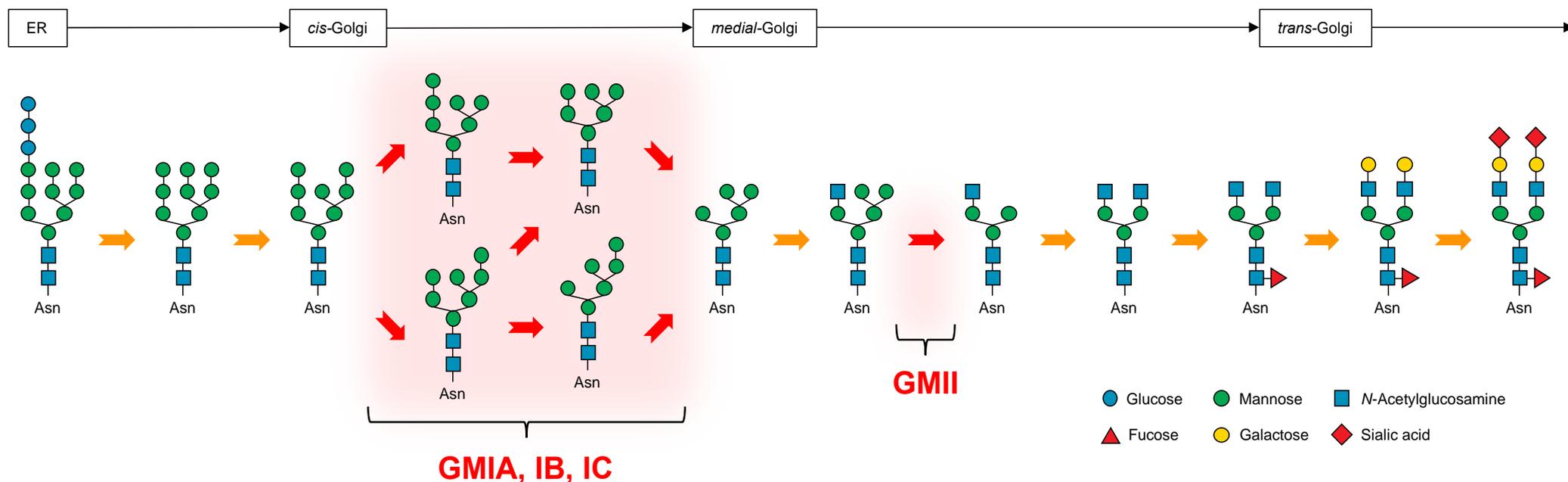
薬剤耐性への新しいアプローチ



- ✓ 固形がんへの薬剤浸透性が向上（薬剤耐性の回避）し、抗がん剤の**投与回数が減少＝副作用の緩和**
- ✓ 分化・増殖能を有するがん幹細胞へも抗がん剤が作用するため、**固形がんの再発を抑制**

細胞接着不全薬のターゲット

ゴルジマンノシダーゼ阻害は細胞接着を不全にする



- ✓ タンパク質糖鎖修飾酵素の1つであるゴルジマンノシダーゼ(以下、GM)を阻害すると、**未成熟糖鎖が細胞表面に輸送**される
- ✓ 細胞表面の未成熟糖鎖は、細胞同士の接着を不全とする。よって、**GM阻害剤＝細胞接着不全薬**となる

細胞接着不全薬のターゲット

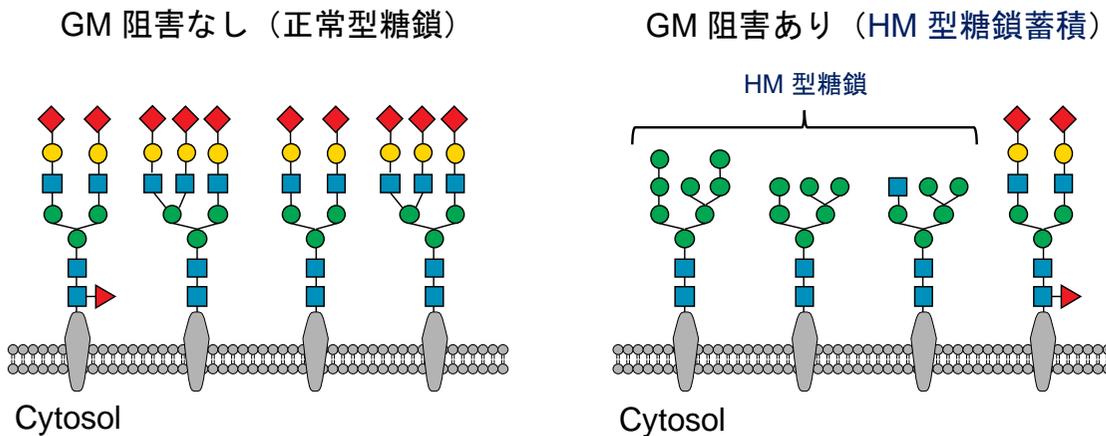
ゴルジマンノシダーゼ阻害は細胞接着を不全にする



GM阻害による
細胞表面糖鎖の変化



未成熟糖鎖による
細胞接着不全



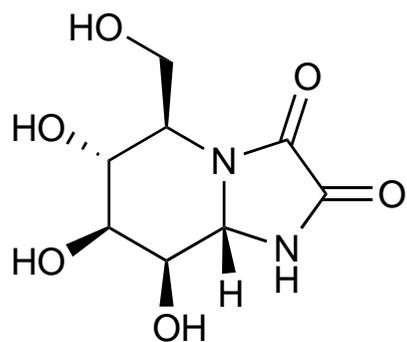
正常型糖鎖 ←→ 正常型糖鎖
正常な細胞接着

正常型糖鎖 ←→ HM型糖鎖
細胞接着不全

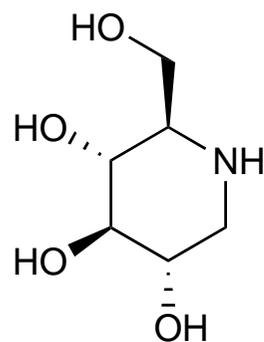
HM型糖鎖 ←→ HM型糖鎖
細胞接着不全

ゴルジマンノシダーゼ阻害 = 細胞接着不全薬

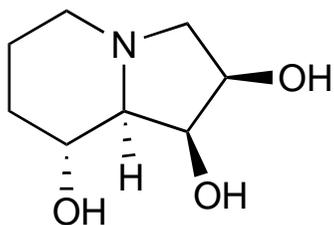
既存のGM阻害剤と課題



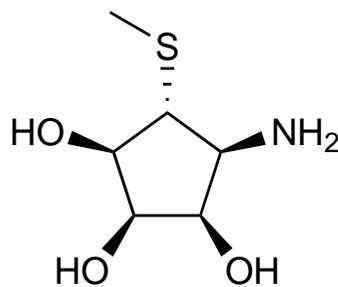
キフネンシン (KIF)



デオキシマンノジ
リマイシン (DMJ)



スワインソニン (SWA)



マンノスタチンA (ManA)

性質と長所

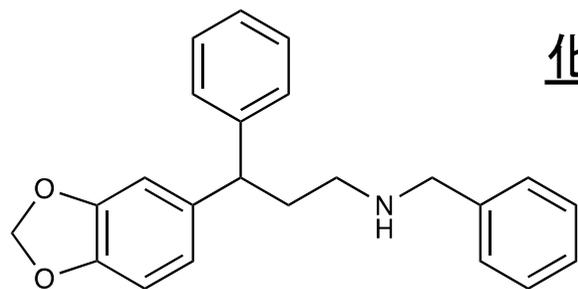
- ✓ 天然由来化合物
- ✓ 優れたGM阻害活性と低い毒性さ

阻害剤の課題

- ✓ 医薬品には適さない構造 (多くの不斉中心、高い親水性)
- ✓ 高い合成難易度、構造展開の困難さ

非天然型GM阻害剤と課題

化合物ライブラリより発見

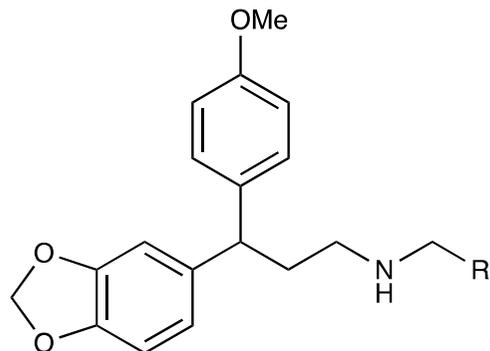


- 中程度のGM阻害活性
- 高い細胞毒性

阻害剤の構造展開



GM阻害剤の構造最適化



- 高いGM阻害活性
- 高い細胞毒性

長所: 前述の課題を解決

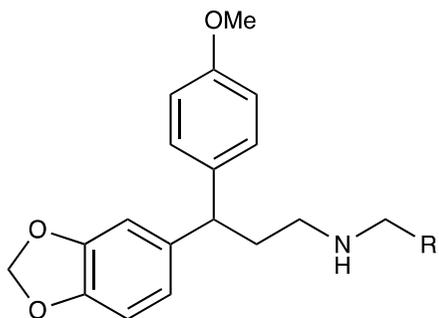
- ✓ 医薬品に適した構造 (不斉中心、親水性)
- ✓ 合成容易な構造、多様な構造展開が可能

解決すべき課題

- ✓ GM阻害活性は高いが細胞毒性が高い
- ✓ 非特異的生体内標的を示唆

発明したGM阻害剤

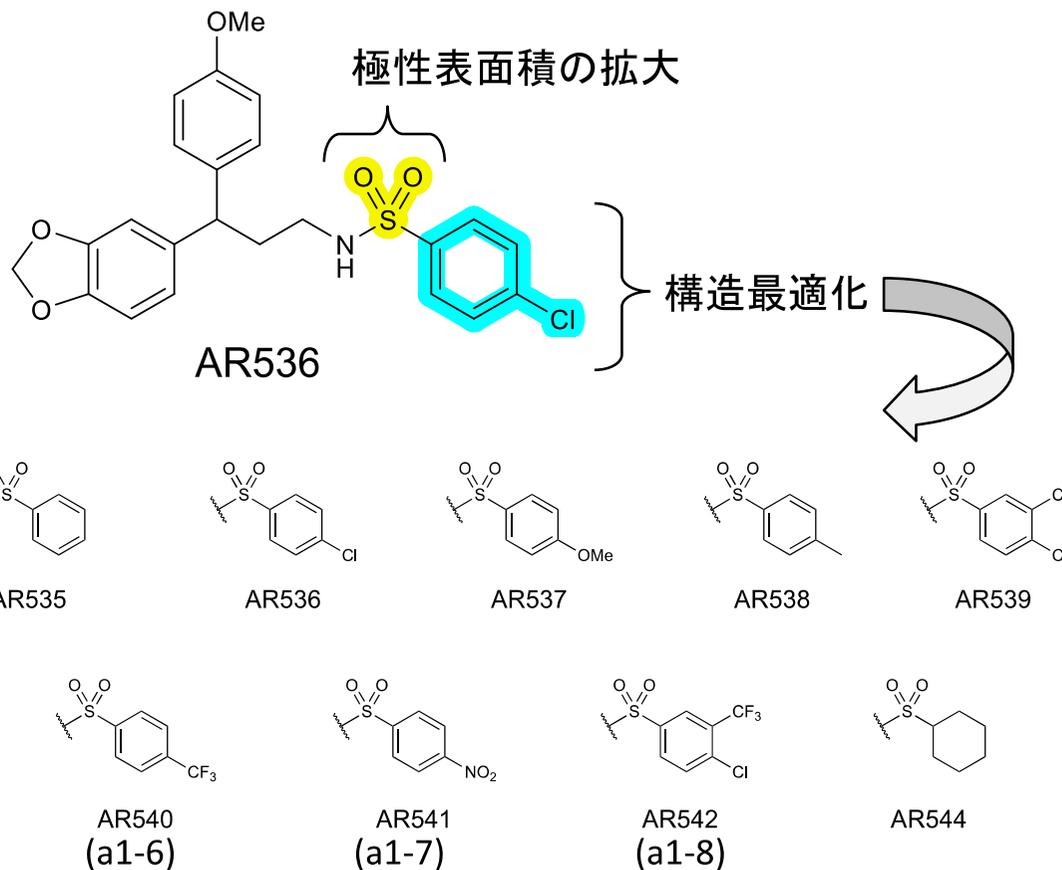
毒性低減前の阻害剤構造



Bioorg Med Chem 2020

- ✓ 高いGM阻害活性の維持
- ✓ 低い細胞毒性の達成
- ✓ GM特異的阻害剤
- ✓ 非特異的生物作用の排除

毒性低減後の阻害剤構造



医薬品に適した構造と生物活性を兼ね備えている

GM阻害剤の安全性

細胞生存率(%)

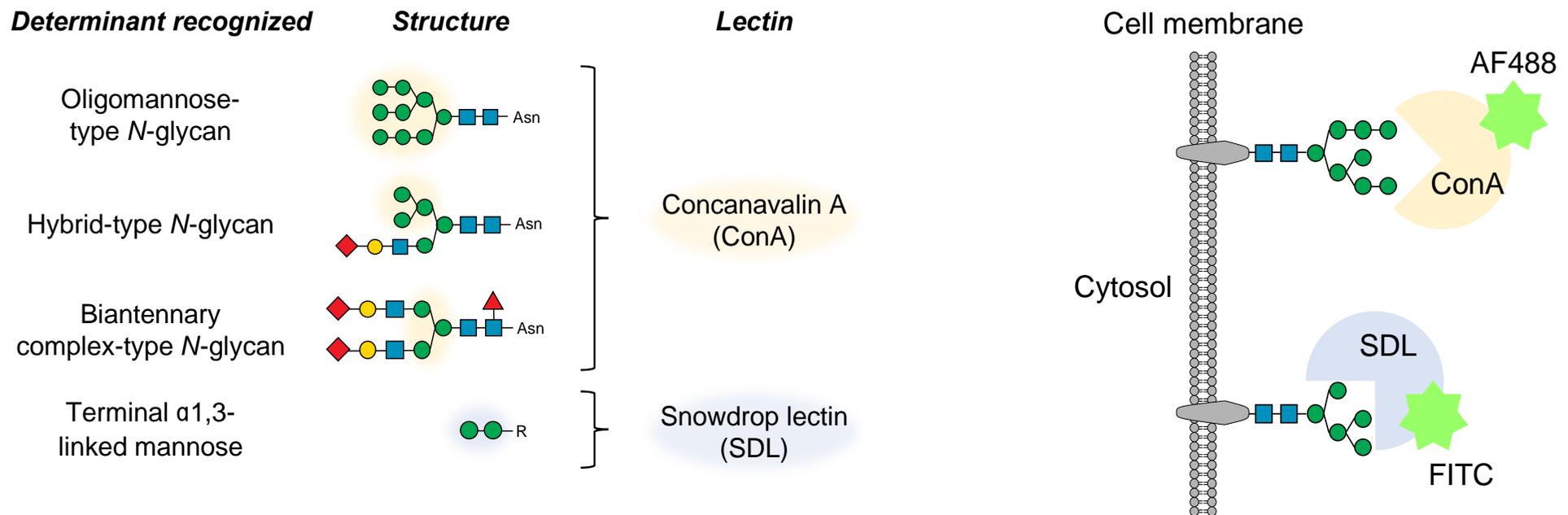
AR525	(50 μ M, 24h)	1.2	(50 μ M, 24h)	1.2
AR535	(50 μ M, 24h)	98	(25 μ M, 72h)	94
AR536	(50 μ M, 24h)	69	(25 μ M, 72h)	88
AR537	(50 μ M, 24h)	100	(25 μ M, 72h)	94
AR538	(50 μ M, 24h)	99	(25 μ M, 72h)	90
AR539	(50 μ M, 24h)	52	(25 μ M, 72h)	96
AR540	(50 μ M, 24h)	74	(25 μ M, 72h)	>100
AR541	(50 μ M, 24h)	98	(25 μ M, 72h)	86
AR542	(50 μ M, 24h)	87	(25 μ M, 72h)	88
KIF	(10 μ M, 24h)	> 100	(10 μ M, 72h)	>100

高濃度・長時間暴露でも細胞毒性を示さない

未成熟糖鎖の細胞表面への蓄積

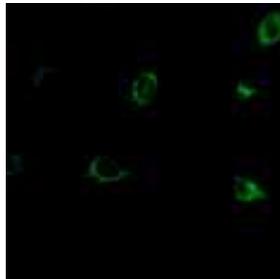
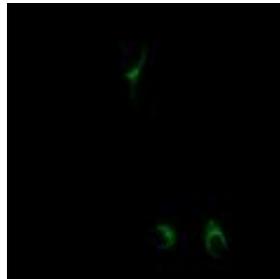
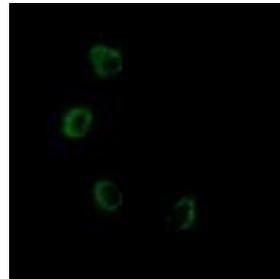
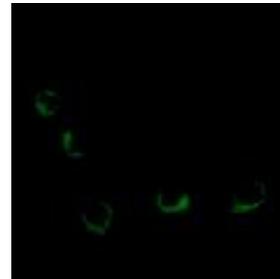
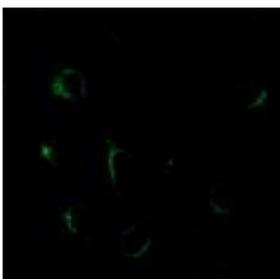
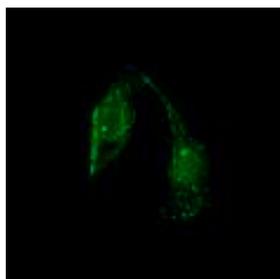
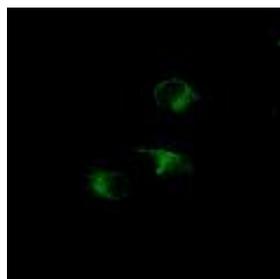
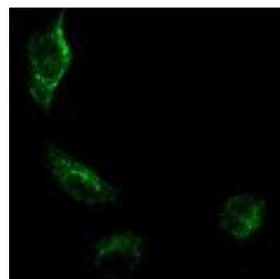
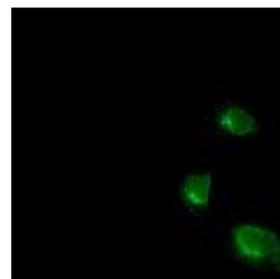
レクチンが認識する糖鎖
(阻害で蓄積するもの)

レクチンの
未成熟糖鎖への結合



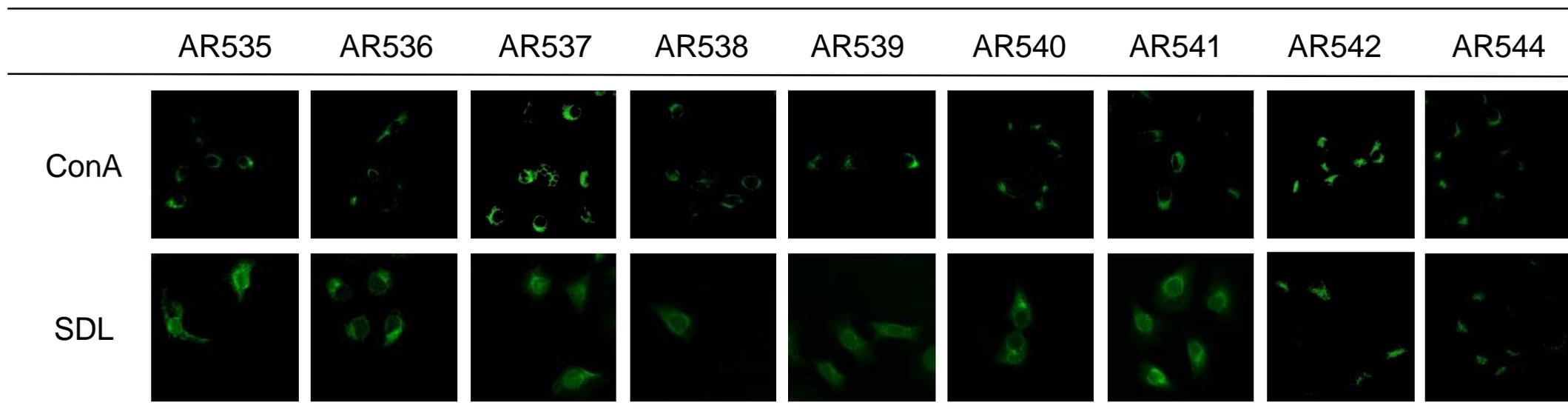
**GM阻害により未成熟糖鎖が細胞表面に蓄積
→細胞表面が蛍光染色される**

未成熟糖鎖の細胞表面への蓄積 (既知GM阻害剤)

	DMSO	GMI inhibitor		GMII inhibitor	
		KIF	DMJ	SWA	ManA
ConA					
SDL					

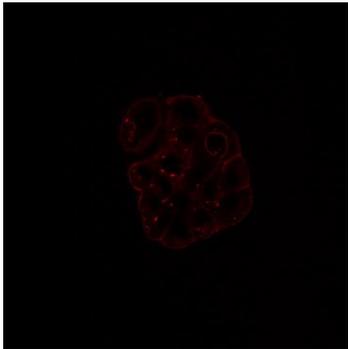
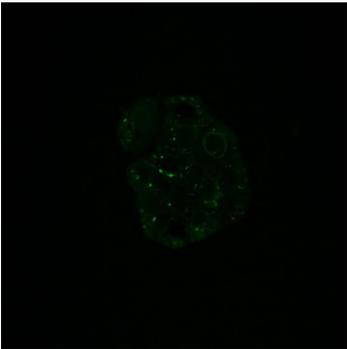
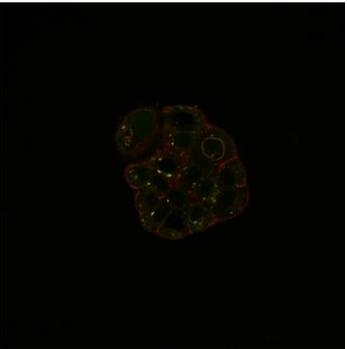
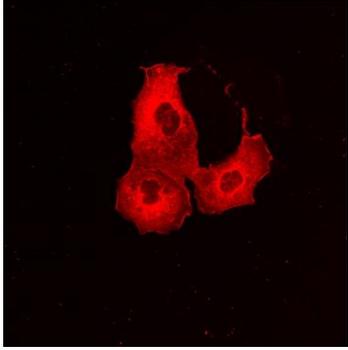
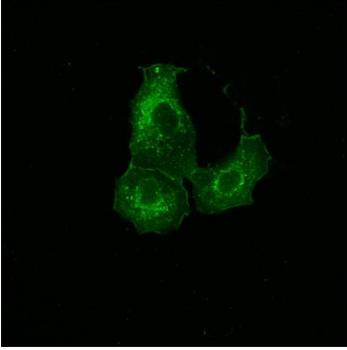
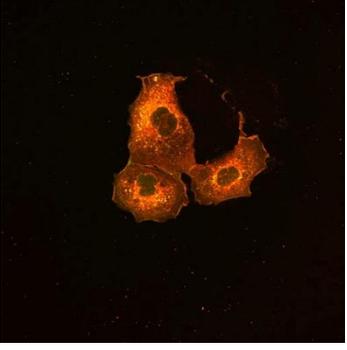
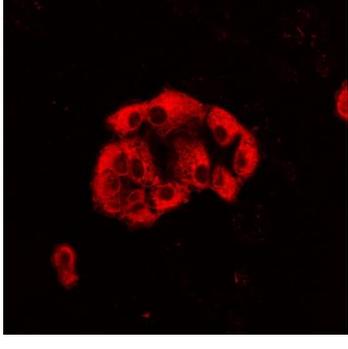
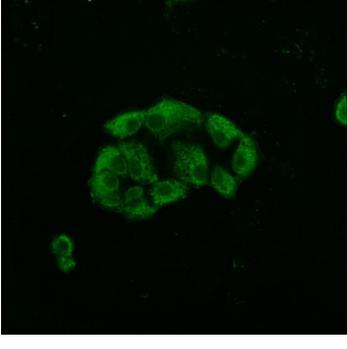
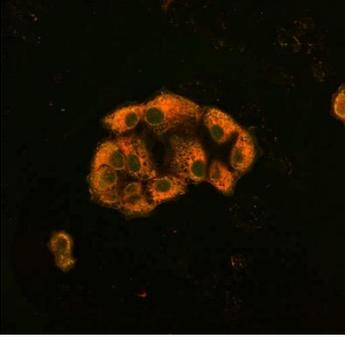
細胞表面が蛍光染色されている

未成熟糖鎖の細胞表面への蓄積 (発明したGM阻害剤)



- ✓ 蓄積量に違いはあるが、細胞表面が蛍光染色されている
- ✓ 既知GM阻害剤と同様の染色パターンであり、GM阻害を確認した

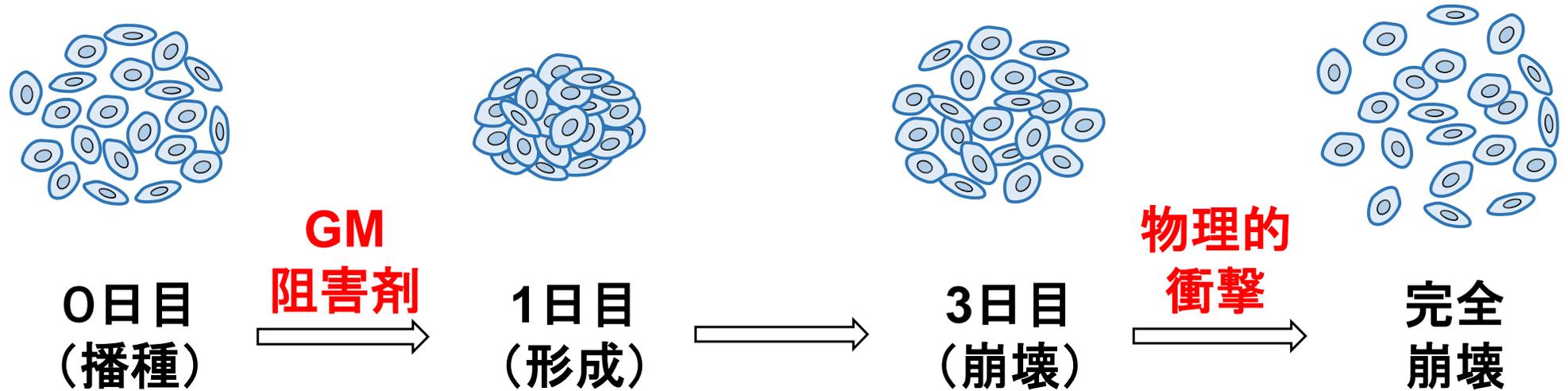
未成熟糖鎖の細胞表面への蓄積

	ConA	SDL	Overlaid
DMSO ✓ 陰性コントロール ✓ 阻害剤非存在下 ✓ 正常の状態			
キフネンシン ✓ 既知GM阻害剤 ✓ 陽性コントロール ✓ 阻害剤存在下 ✓ HM糖鎖蓄積状態			
AR535 ✓ 合成GM阻害剤 ✓ HM糖鎖蓄積 ✓ GM阻害剤の証拠			

細胞接着不全活性①

スフェロイド（腫瘍モデル）の崩壊活性

上から見た図



横から見た図



**GM阻害により未成熟糖鎖が細胞表面に蓄積
→細胞接着が不全となり腫瘍モデルが崩壊する**

細胞接着不全活性①

スフェロイド（腫瘍モデル）の崩壊活性

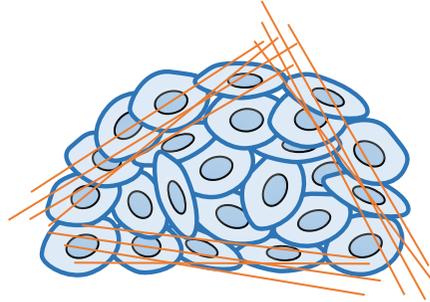
	Day 1	Day 3	PT後	崩壊度		Day 1	Day 3	PT後	崩壊度
DMSO				none	AR537 (25 μM)				++
KIF (10 μM)				+	AR538 (25 μM)				++
DMJ (100 μM)				+	AR539 (25 μM)				+++
SWA (100 μM)				none	AR540 (25 μM)				++
ManA (100 μM)				none	AR541 (25 μM)				++
AR535 (25 μM)				++	AR542 (25 μM)				+
AR536 (25 μM)				++	AR544 (25 μM)				none

細胞接着不全によるスフェロイド崩壊が観察された

細胞接着不全活性②

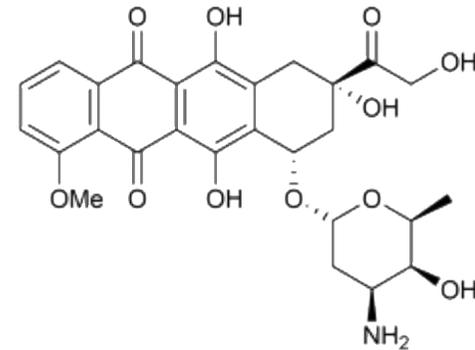
オルガノイド（腫瘍モデル）を用いた薬剤耐性回避

オルガノイド



スフェロイドよりも
精緻な腫瘍モデル

上市されている抗がん剤



ドキシソルビシン
(DNA複製阻害剤)

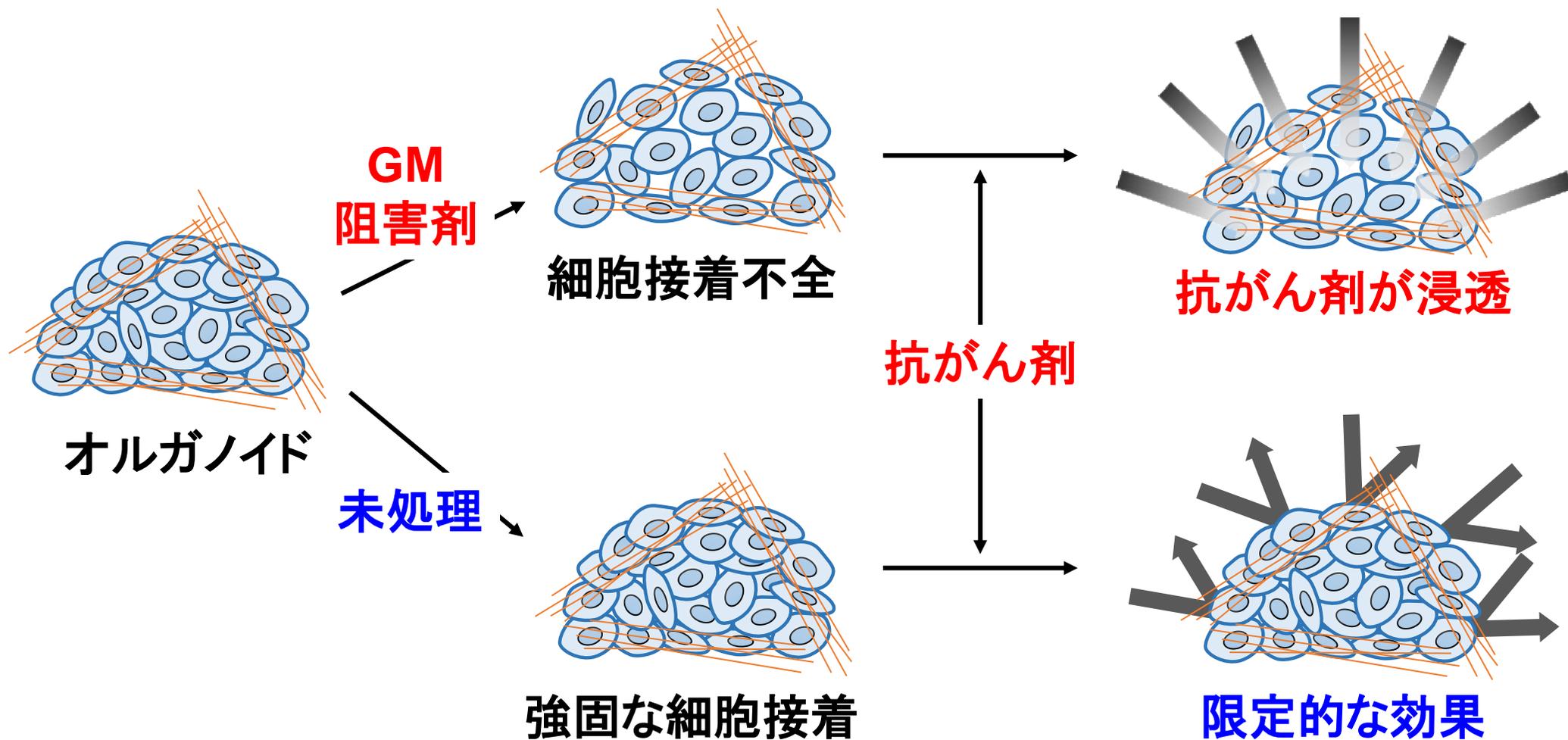
	CC ₅₀ (μM)	
単層培養細胞	0.33	14 倍
オルガノイド	4.53	

細胞種：OVCAR-3 細胞
曝露時間：72時間

- ✓ オルガノイドが薬剤耐性を獲得していることを確認
- ✓ オルガノイドにすることで、抗がん剤が14倍必要になった
- ✓ 薬剤耐性回避モデルとして使用可能

細胞接着不全活性②

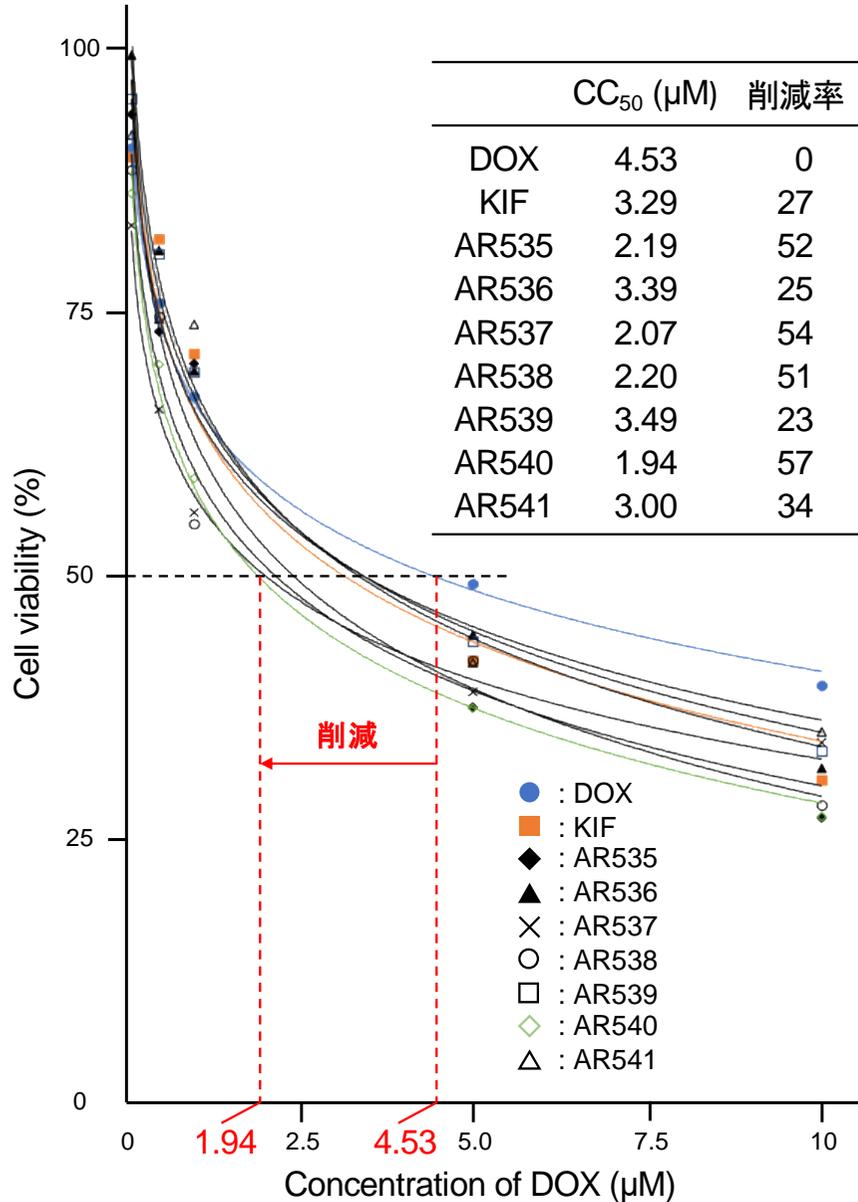
オルガノイド（腫瘍モデル）を用いた薬剤耐性回避



固形がんの薬剤耐性回避を評価可能

細胞接着不全活性②

オルガノイド（腫瘍モデル）を用いた薬剤耐性回避



- ✓ 細胞接着不全薬と抗がん剤を同時に投与することで、抗がん剤の使用量を**最大57%削減**
- ✓ 投与量削減による副作用の軽減が見込める
- ✓ 既存の抗がん剤療法に追加することで使用可能
- ✓ これまでの抗がん剤資産を有効活用

従来技術とその問題点

がんの化学療法における薬剤耐性(=抗がん剤感受性低下)に対して、既に実用化されている薬剤ポンプ阻害剤や薬剤代謝酵素阻害剤などがあるが、

既存の抗がん剤との併用に課題がある

抗がん剤投与量の削減を目指していない

等の問題があり、広く適用することが見込まれず、副作用軽減にも至っていない。

新技術の特徴・従来技術との比較

- ・ 従来技術では、固形がんを**物理的に脆弱(=感受性の向上)**にすることができなかった。
- ・ 固形がんを脆弱にすることにより、抗がん剤をがんの中心部まで作用させることを可能にした。
- ・ 本薬を化学療法に適用することにより、抗がん剤投与量の削減が見込まれ、抗がん剤の投与回数および投与量の削減により副作用の軽減が期待される。

想定される用途

- ・ がん化学療法への適用。**既存の抗がん剤療法との併用**を想定。抗体医薬品とは異なり、化学合成で製造が可能のため安価である。
- ・ 細胞接着を不全とするため、ヒト細胞を用いて製造される「ワクチン」等の製造過程で、**細胞分散剤**としての用途が考えられる。
- ・ 三次元培養細胞の細胞を分散させる生理活性を評価する「**試薬**」としての用途が考えられる。

実用化に向けた課題

- ・ 現在、三次元培養細胞での細胞接着不全について評価済み。しかし、実際のがんに対して効果を示すか、未解決である。
- ・ いくつかのがん細胞を用いて評価しているが、がんの種類と効果については未検討である。
- ・ 実用化に向け、さらに阻害能を高めことで、実際のがんおよび多くの細胞種に対して効果を示す可能性が高まると想定している。

企業への期待

- ・ 未解決である実際のがんに対する効果については、**製薬企業または生物試験受託業者との協働**を希望している。
- ・ 細胞を用いて様々な有用物質（ワクチン等）を製造している企業で課題となっている「**細胞塊形成問題（生産性低下）**」を解決できる可能性がある。
- ・ 試験研究用の試薬の開発企業、バイオ分野への展開を考えている企業には、**細胞接着阻害剤**として本技術の導入が可能。

本技術に関する知的財産権

- ・ 発明の名称：化合物、腫瘍崩壊剤及び
医薬組成物
- ・ 出願番号 : 2023-073745
- ・ 出願人 : 学校法人日本大学
- ・ 発明者 : 袴田 航

お問い合わせ先

日本大学産官学連携知財センター

TEL 03-5275-8139

FAX 03-5275-8328

e-mail nubic@nihon-u.ac.jp