

氏名(本籍)	小 ^お 澤 ^{ざわ} 陽 ^{よう} 一 ^{いち} (東京都)
学位の種類	博士(生物工学)
学位記番号	博甲第6138号
学位授与年月日	平成24年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	Discovery of Indisulam (E7070), G1 Phase Cell Cycle Modulator, as an Anticancer Drug and its Developmental Strategy (G1細胞周期阻害型抗がん剤 Indisulam (E7070) の発見と開発戦略)
主査	筑波大学教授 農学博士 深水昭吉
副査	筑波大学教授 博士(薬学) 柳澤純
副査	筑波大学教授 博士(農学) 谷本啓司
副査	筑波大学講師 博士(学術) 加香孝一郎

論文の内容の要旨

細胞周期の中でG1期は、細胞周期全体を正常に制御する上で重要な時期であり、癌細胞ではこの制御機構に多くの欠陥が見つかっている。著者は、スルホンアミド化合物ライブラリーの中から、tubulin 重合阻害剤 E7010 をスクリーニングする過程で、類縁化合物の中にG1期に細胞周期を停止させる化合物群を見出した。そこで、これらの化合物をもとに細胞周期に対する影響、および抗腫瘍スペクトラムを指標にG1ターゲットスルホンアミド化合物のSARを取得し、最終的に Indisulam (E7070) を見出した。

著者は、Indisulam の抗癌剤としての特徴を精査するために、*in vitro*、*in vivo* 薬効薬理試験を行い、以下のような特徴を見出した。1) P388 マウス白血病細胞の細胞周期をG1期に停止させることにより、薬剤濃度依存的、暴露時間依存的にG1 population の増加が認められた。2) COMPARE analysis を行ったところ、既存抗癌剤と全く異なった抗腫瘍スペクトラムを示したことから、Indisulam のMOAは、新規であることが示唆された。3) ヒト腫瘍ヌードマウス皮下移植モデルにおける薬効は、腫瘍増殖抑制のみならず腫瘍縮小を示し、高感受性株においては、腫瘍の完全退縮が確認された。

次に著者は、Indisulam の作用機序解析と臨床開発に用いるためのレスポンスマーカー遺伝子を探索するため、Affimetrix GeneChip を用いて遺伝子発現解析を行った。その結果、Indisulam 感受性細胞株2株において、Indisulam 処理時に処理時間依存的に共通に変動する18遺伝子が見出された。さらに、RT-PCRにより、これら18遺伝子のIndisulam 処理時の発現変動を36種類のヒト癌細胞株で測定し、発現変動の程度と、Indisulam への感受性との相関を調べた。その結果、13遺伝子でその発現減少と、感受性の間で高い相関が認められたため、これら13遺伝子をIndisulam のレスポンスマーカー遺伝子とした。この内の8遺伝子は、エネルギー代謝にかかわる遺伝子であり、Indisulam の作用機序の少なくとも一部は、癌細胞においてエネルギー代謝を阻害し、エネルギー枯渇を誘導している可能性が示唆された。

著者は、特に Indisulam が Top2a の発現を濃度依存的に抑制したことに注目し、Indisulam の最適な併用についての研究に着手するにあたり「Top1 阻害剤による Top2a の上昇は、Top1 の機能障害から逃れるための代償機構であり、Indisulam 処理によりこの Top2a の上昇を抑制することで、Top1 阻害剤の効果を増強でき

るのではないか」という仮説を立て、検証を行った。Top1 阻害剤 CPT-11 (in vitro では活性代謝物 SN38 を使用) と Indisulam の併用は、SN38 単剤による Top2a の上昇を Indisulam が抑制した条件でのみで相乗効果を示した。さらに、in vivo 皮下腫瘍移植モデルにおいても、CPT-11 単剤による Top2a の上昇を Indisulam が抑制し、かつ、相乗効果を示した。また、Indisulam による Top1 阻害剤誘導性の Top2a 発現上昇阻害作用は、Indisulam 単剤による Top2a 発現抑制効果が認められる濃度より低い濃度から認められることから、Top1 阻害による代償機構が Indisulam 高感受性 pathway であることが示唆された。これらの併用機序データおよび高い併用効果に基づき、現在 Indisulam/CPT-11 併用の臨床試験が行われている。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は新規 sulfonamide 系化合物 Indisulam の発見と、前臨床における特徴把握、それに基づく開発戦略の策定という一貫した前臨床研究の集大成である。多様な薬理活性を有する sulfonamide 系化合物群の中に、新たな G1 targetting anticancer drug という新たなカテゴリーを見出し、その薬理学的特徴から臨床応用への rationale を提案している。さらに、まだ未解明である作用メカニズムについて、多方面から示唆的なデータおよび、考察が出されており、今後の研究の展開に期待が持たれる。特に、筆者の提案した併用機序は、Indisulam が Top1 阻害剤の効果を増強するものであったが、Indisulam /CPT-11 併用による相乗効果が投与スケジュール非依存的であったこと、Top1 阻害剤代償機構が Indisulam 高感受性 pathway であることから考えて、CPT-11 処理も Indisulam の効果を増強していることが示唆され、Indisulam の感受性規定因子同定、作用メカニズム解明につながる研究になりうると考えられる。

平成 24 年 2 月 2 日、学位論文審査委員会において、審査員全員の出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (生物工学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。