

論 文 内 容 要 旨

Novel Oral Derivative UD-017, a Highly Selective
CDK7 Inhibitor, Exhibits Anticancer Activity by
Inducing Cell-Cycle Arrest and Apoptosis in
Human Colorectal Cancer

(選択的新規経口 CDK7 阻害剤 UD-017 は、ヒト大腸癌において細胞周期停止およびアポトーシス誘導を介して抗癌活性を示す)

Hiroshima Journal of Medical Sciences, in press.

主指導教員：吉栖 正生教授
(医系科学研究科 心臓血管生理医学)

副指導教員：浅野 知一郎教授
(医系科学研究科 医化学)

副指導教員：小久保 博樹講師
(医系科学研究科 心臓血管生理医学)

阿賀 康弘

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景と目的】

近年、Cyclin-dependent kinases (CDK)4/6 阻害し細胞周期を阻害する IBRANCE (Palbociclib) や Verzenio (Abemaciclib)、Kisqali (Ribociclib) が臨床で大きな効果を示し、注目されている。CDK は、細胞周期や転写など細胞の重要な機能に関与するタンパク質キナーゼで、少なくとも 20 個のサブタイプが知られている。中でも CDK7 は、cyclin H および MAT1 と共に CDK 活性化キナーゼ (CAK : CDK Activating Kinase) を形成し、細胞周期の制御、および、RNA ポリメラーゼ II (RNAPII) による転写開始と伸長を制御する機能があることが知られ、抗がん剤の新たなターゲットとして注目されている。今回我々は、新規選択的経口 CDK7 阻害剤 UD-017 を見出し、その抗がん作用およびそのメカニズムについて大腸がん株 HCT-116 を用いて明らかにすることを目的として研究を行った。

【結果】

UD-017 の各種キナーゼに対する選択性を検討するために、313 キナーゼに対する UD-017 の酵素阻害試験を実施した。その結果、UD-017 は、CDK7 を IC_{50} 値 = 16nM で阻害したのに対し、 IC_{50} = 1000nM 以下で阻害したのは MPK α 2/ β 1/ γ 1 (IC_{50} = 370nM)、AMPK α 1/ β 1/ γ 1 (420nM)、Haspin (600nM)、GSK3 β (780nM) の 4 キナーゼのみであった。以上より UD-017 は、キナーゼ阻害選択性に優れており、ほぼ CDK7 のみを選択的に阻害する化合物であることが判明した。さらに大腸がん細胞株増殖抑制試験を実施したところ、特に HCT-116 で強い細胞増殖抑制効果 (GI_{50} = 19nM) を示したことから、HCT-116 を用いて増殖抑制メカニズムについて検討した。UD-017 は、CDK7 の下流シグナルである CDK1,2 および CDK4 下流の Retinoblastoma (Rb) を抑制し、その結果細胞周期を停止させ G1 期および G2/M 期の細胞を増加させる事が明らかとなった。同様に UD-017 は、RNAPII のリン酸化も抑制し、がん遺伝子の一つである MYC の発現を低下させた。また、アポトーシス阻害因子の XIAP の発現を低下させ Cleaved PARP を増加させたことからアポトーシスについて検討したところ、UD-017 の処理濃度の増加と相関してアポトーシスを誘導していた。

UD-017 の *in vivo* における抗がん作用を検討するために HCT-116 マウス xenograft モデルを作成し、UD-017 を経口で 14 日間一日一回投与した。UD-017 は、投与量依存的に抗がん作用を示し、その効果は 25、50、100mg/kg の投与で、マウスの体重に影響せずに腫瘍の増殖をそれぞれ 33、64、88%抑制した。生体内での薬効メカニズムを検討するために UD-017 を xenograft モデルに投与後、腫瘍を回収して解析した。その結果、*in vitro* での検討と同様に、腫瘍中の Rb のリン酸化抑制、RNAPII のリン酸化抑制、MYC の発現抑制および Cleaved PARP を検出した。これらより UD-017 は、*in vivo* においても *in vitro* 同様に細胞周期の停止とアポトーシスを誘導していることが予想された。更に大腸がんで標準的に使用される化学療法剤 5-Fluorouracil (5-FU) と UD-017 の併用効果を検証したところ、UD-017 は 5-FU の体重減少を更に悪化させることなく薬効を増強させた。

【考察】

今回我々は、高度に選択的な CDK-7 阻害剤 UD-017 が、大腸がん細胞株 HCT-116 の細胞周期

を抑制し、さらにアポトーシスを誘導することにより、増殖を強く抑制する事を *in vitro*、*in vivo* で明らかにした。近年 CDK4/6 阻害剤に対し、cyclin E1 の増幅や CDK6 の増幅等により耐性を持つがんが出現することが報告されている。今回の検討より UD-017 は、CDK4/6 のみでなく CDK1 および CDK2 も阻害して、細胞周期全体を停止させていることから、これらの耐性がんにも効果を示す可能性がある。また CDK7 阻害剤 THZ1 のがん細胞増殖抑制作用は、細胞での MYC 発現レベルに相関していることが報告されている。UD-017 についても、MYC の発現を抑制し抗がん作用を示すことから、MYC 発現レベルがバイオマーカー候補のひとつとして考えられる。今後、UD-017 の抗がん作用のメカニズムやバイオマーカーなどの更なる検討と共に、UD-017 の臨床での抗がん作用が期待される。