

ピロール・イミダゾール(PI)ポリアミドを用いた前立腺癌新規治療薬の開発

Development of pyrrole-imidazole polyamides targeting for prostate cancer

日本大学医学部 大日方 大亮、藤原恭子、高橋 悟 東京大学医学部 高山賢一、井上聰

目的・背景(Purpose and Background)

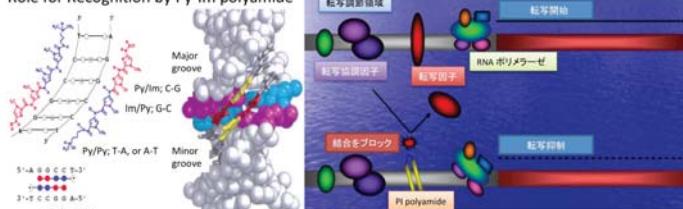
食生活の欧米化、超高齢社会の到来に伴い、我が国でも前立腺癌による死者数が近年増加しております。前立腺癌はアンドロゲン受容体(Androgen Receptor: AR)により、増殖、進行することを特徴としており、臨床的に汎用される前立腺癌治療法の一つにアンドロゲン除去療法があります。

しかし、治療経過とともに癌細胞の形質が変化し、アンドロゲン除去療法が無効になり、その後の治療に難渋するケースが多く見られます。

この治療抵抗性変化の原因の一つに、低濃度のアンドロゲンにおいても腫瘍増殖を亢進させるアンドロゲン応答遺伝子の活性化が挙げられます。そこで我々は、遺伝子制御薬PIポリアミドを用い、特定のアンドロゲン応答遺伝子の発現を抑制させる治療薬を開発しております。

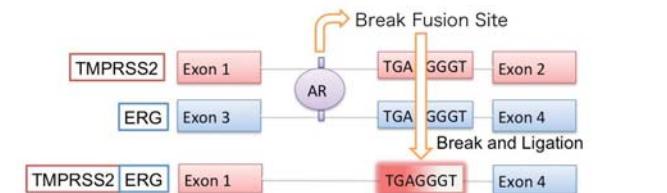
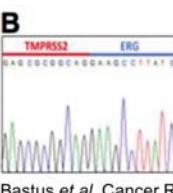
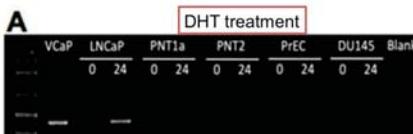
PIポリアミドの特徴

Role for Recognition by Py-Im polyamide



PIポリアミドはピロールおよびイミダゾールの組み合わせにより、配列特異的にDNAに共有結合し、転写因子の結合を阻害し、標的とする遺伝子の発現を抑制させます。ベクターやデリバリー試薬なしに細胞に取り込まれ、様々な遺伝子をターゲットに自由に分子設計ができます。

TMPRSS2-ERG融合遺伝子の発生原理



前立腺細胞ならびに前立腺癌細胞にアンドロゲンを投与すると、アンドロゲン受容体(AR)が細胞核内に移行し、アンドロゲン応答遺伝子 TMPRSS2およびETS family内にある特定の配列(Break fusion sites)を切断し、遺伝子転座ならびに融合遺伝子を発生させることができます(Lin C et al, Cell 139:1047-1049, 2009)。アンドロゲン応答遺伝子との融合により、ETS family遺伝子群がアンドロゲン依存的に発現を亢進させ、細胞癌化、進行に影響を与えます(Tomlins SA et al, Science 310:644-648, 2005)。

TMPRSS2-ERG融合遺伝子抑制ポリアミドの設計

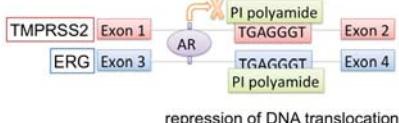
Fusion PI polyamide target sequence

TMPRSS2
5' -TAAGCTGAGGGTTGGGAGAGT-3'
3' -ATTCGACTCCAACACCCCTCA-5'

ERG
5' -GTAATACTGTCCCATCTGGGAAG-3'
3' -CATGATTGACAGGGTAGACCCTTC-5'

○: N-methylpyrrole (Py), ●: N-methylimidazole (Im), β: Beta-alanine

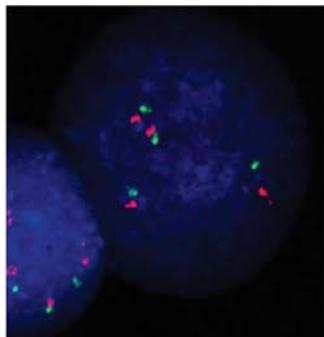
Break fusion sitesの特異的に結合するポリアミドを設計致しました。



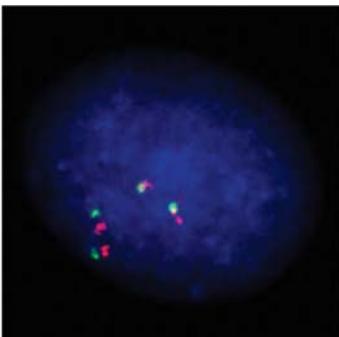
repression of DNA translocation

TMPRSS2-ERG融合遺伝子抑制ポリアミドは染色体転座を抑制させる

TMPRSS2-ERG融合遺伝子抑制ポリアミド

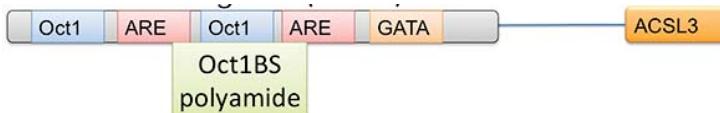


ネガティブコントロールポリアミド



PIポリアミドを投与したヒト前立腺癌細胞株LNCaP細胞にアンドロゲン刺激を行い、24時間後FISHにて染色体転座を評価致しました。TMPRSS2-ERG融合遺伝子抑制ポリアミドを投与したLNCaPIはTMPRSS2とERG領域の染色体転座が抑制されております(赤: TMPRSS2, 緑: ERG)。

AR応答遺伝子ACSL3遺伝子抑制ポリアミドの開発



網羅解析の結果、前立腺癌の進行および増殖に関わるアンドロゲン応答性のある脂質代謝遺伝子ACSL3の転写調節領域を見出し、機能解析した結果、アンドロゲン受容体転写協調因子Oct1が転写調節に重要な役割を担っていることが判明しました。そこで、同部位に特異的に結合するPIポリアミドを作製致しました。



00 nM



(左図)LNCaP細胞にアンドロゲン投与と、設計したポリアミドを投与させ、ACSL3の発現をRT-qPCRにて解析致しました。アンドロゲン依存性に設計したポリアミドはACSL3の発現を抑制させております。

(右図)免疫不全マウスの肩部にLNCaP細胞を接種し、一定のサイズまで増大した後、それぞれPIポリアミドを週一回静脈投与を行いました。写真は4週間後の代表的な腫瘍サイズです。ACSL3融合遺伝子抑制ポリアミドによる前立腺癌細胞増殖能の有意な抑制効果が認められました。

応用分野・用途(Aplications)

●前立腺癌の予防、治療に有用かつ安全で安定した薬剤の提供

日本大学産官学連携知財センター (NUBIC)

〒102-8275 東京都千代田区九段南4-8-24 日本大学会館
Tel: 03-5275-8139 Fax: 03-5275-8328 E-mail: nubic@nihon-u.ac.jp http://www.nubic.jp

Nubic