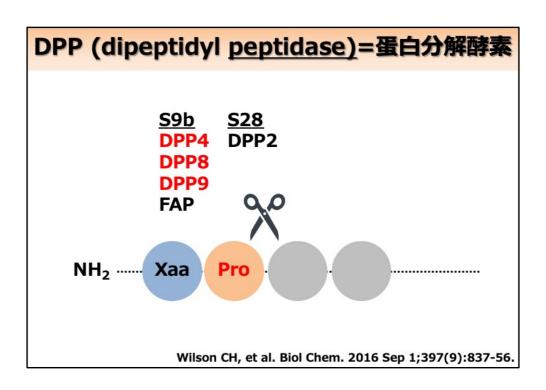
研究成果報告書

抗血液悪性腫瘍薬としての 新規DPP8阻害剤の創出

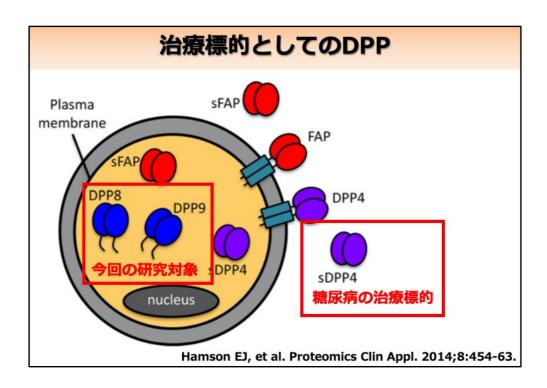
富山大学附属病院 血液内科

佐藤 勉

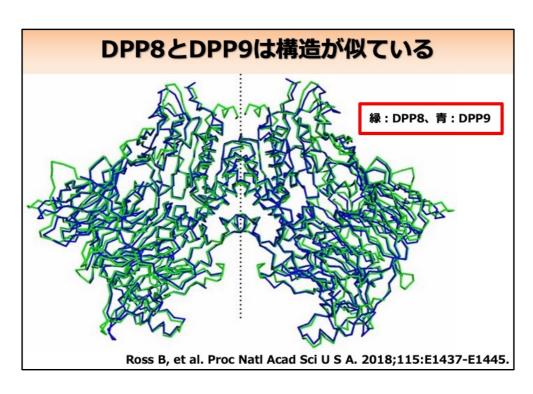
日本産業科学研究所 令和2年度研究助成事業



DPPとはdipeptidyl peptidaseというタンパク分解酵素のことです。N末端から2番目のプロリンを目印としてペプチドを切断します。DPPには4、8、9などいくつかのアイソザイムがあります。



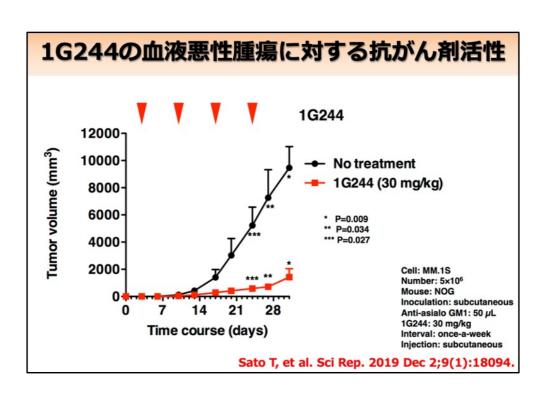
DPPには高い基質特異性があるため、治療の標的として適しています。細胞外に遊離するDPP4は糖尿病の治療標的として有名です。今回の研究対象は細胞内に存在するDPP8とDPP9です。



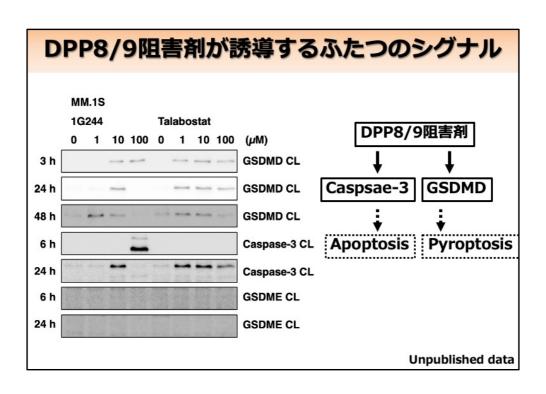
DPP8とDPP9は構造が似ているため、どちらかを特異的に阻害する阻害剤はありません。

1G244はDPP8と9の両者を阻害する										
Compound	IC50 (μM)									
_	DPP4	DPP8	DPP9							
IG244	>100	0.014	0.053							
F N N N N N N N N N N N N N N N N N N N	fluoroph dihydro- MDL Nu MF: C29	2-Amino-4-{4-[bis(4- fluorophenyl)methyl]piperazin-1-yl}-1-(2,3- dihydro-1H-isoindol-2-yl)butane-1,4-dione MDL Number: MFCD28167087 MF: C29H30N4O2F2 MW: 504.571								
	Wu JJ, et a	l. Biochem Pharmaco	ol. 2009;78:203-10.							

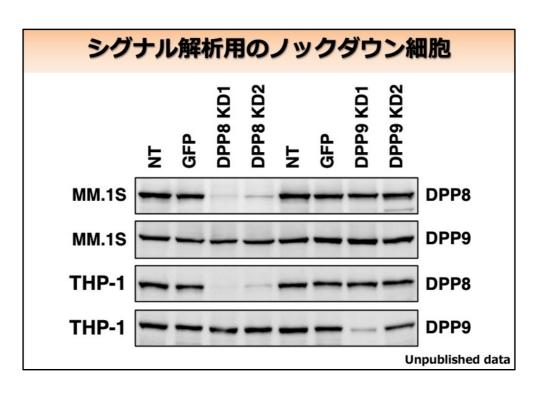
代表的な阻害剤は1G244ですが、これもDPP8とDPP9の両者を阻害します。



私はこれまでの研究で、この1G244が血液悪性腫瘍に対する抗がん剤活性を有することを見出しました。そして現在は、DPP8/9の阻害を機序とする血液悪性腫瘍の治療薬開発を目指しています。



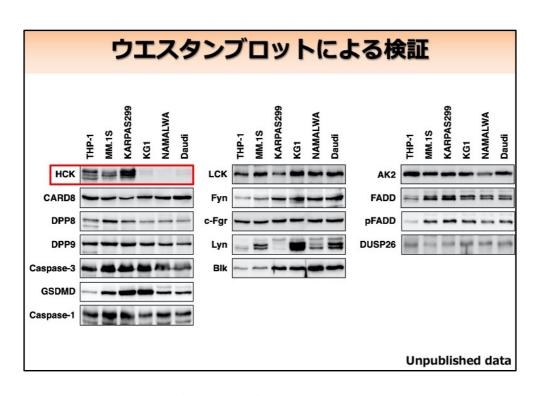
その後の検討で、DPP8/9阻害剤はふたつの細胞死シグナルを同時に活性化するという興味深い現象を見出しました。ひとつはアポトーシスに至るカスパーゼ3の活性化、もうひとつはパイロトーシスに至るGSDMDの活性化です。



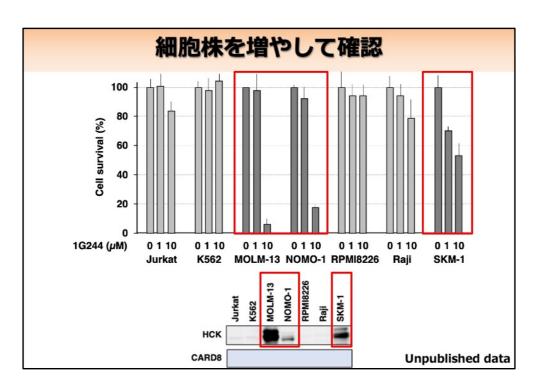
更なるシグナル解析のため、DPP8/9のノックダウン細胞を作成しました。現在、これらの細胞を用いた検討を行なっています。

感受性規定因子の網羅的な探索											
Sensitive			Resistant			Relative mRNA expression					
표	MM.1S	KARPAS299	KG1	NAMALWA	Daudi	Row	10.00 max.	8.00	6.00 4.	00 2.00	0.00 Row min.
8.93		10.16	3.20	1.89		нск					
8.15	7.01	10.83	1.72	1.86		CTSL					
8.37	8.21	7.84	4.09	1.54	2.12	FUCA2					
8.08	8.23	7.28	0.31	4.21	3.97	NDFIP2					
8.39	6.94	8.11	0.00	0.00	0.13	GOLM1					
6.21	8.18	6.29	0.00	0.00	0.00	CD4					
7.45	7.15	8.56	2.11	2.33	2.62	ZIC2					
6.81	6.88	6.63	2.05	1.95	2.56	CD163L1					
6.87	6.08	8.84	0.00	2.88	2.02	POPDC3					
7.47	6.94	6.39	2.80	0.00	0.00	LTBR					
8.43	7.36	8.74	4.00	0.00	0.64	CAPN2					
6.78	7.36	6.21	2.73	0.00	1.09	ECHDC2					Unpublished da

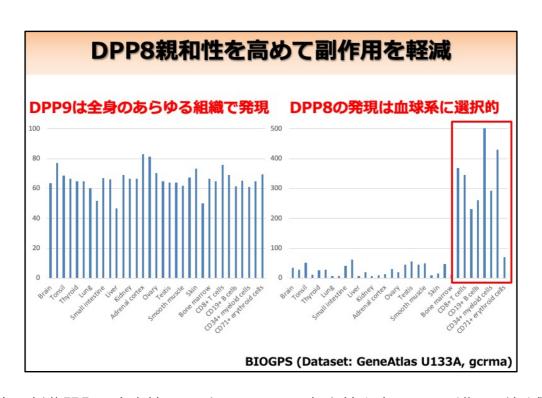
一方、治療効果を予測するバイオマーカーとして、感受性規定因子の網羅的な探索を行いました。その結果から、HCKという血液細胞に特異的なリン酸化酵素に着目しています。



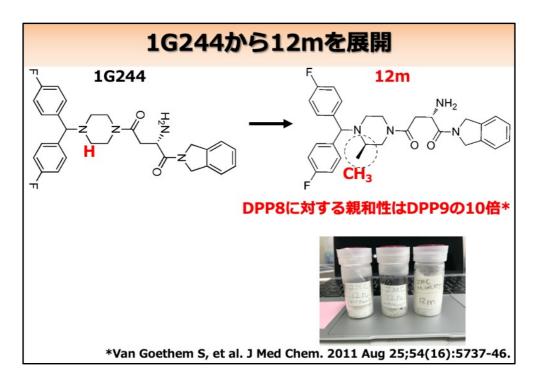
スライドにはウエスタンブロットで検証した結果をお示しします。



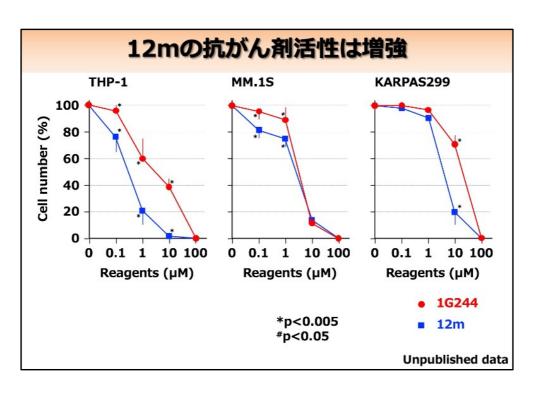
また、細胞株を増やして確認した結果をお示しします。今後、更にHCKの ノックダウン細胞を作成して最終的な証明にしたいと計画しています。



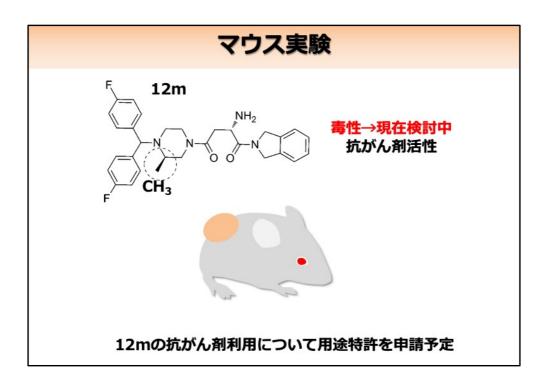
一方、新薬開発の方向性ですが、DPP8への親和性を高めると副作用が軽減できるのではないかと考えています。なぜなら、DPP9は全身のあらゆる組織で発現するのに対し、DPP8の発現は血球系に選択的だからです。



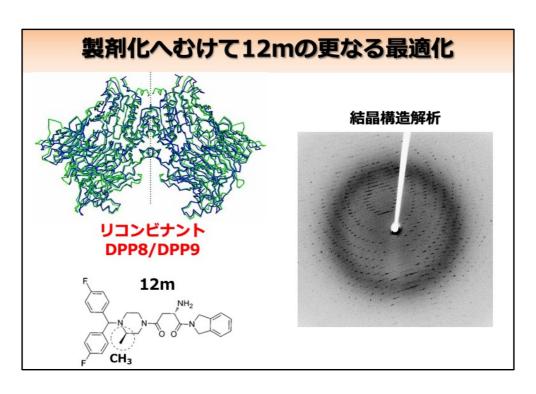
そのような方針のもと、1G244から構造展開して12mを合成しました。12mのDPP8に対する親和性はDPP9の10倍です。



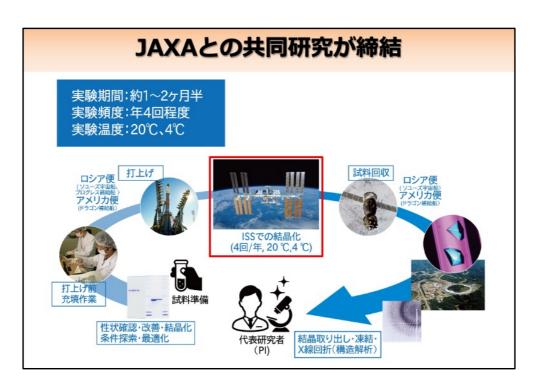
この12mを用いて検討したところ、その抗がん剤活性はオリジナルの1G244より増強していました。



現在、マウスを用いて12mの毒性を検討しています。これに続けて抗がん剤活性を検討します。その後、12mの抗がん剤利用について用途特許を申請する予定です。



なお、製剤化を目指し12mの更なる最適化を段取りしています。リコンビナントのDPP8/9を作成、12mとの結合状態を結晶構造解析法で分析します。



この実験はJAXAとの共同研究が既に締結され、今年度中に宇宙船きぼうで結晶化が行われます。

まとめ

- ・1G244から展開したDPP8高親和性の 12mは、抗がん剤活性に優れ、毒性は軽減 された、新たな抗血液悪性腫瘍薬となる可 能性があります。
- ・治療効果予測因子としてHCKを検討中です。
- ・12mの更なる最適化を行うため、JAXA との共同研究を進めています。

