

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	阿賀 康弘
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目			
<p>Novel Oral Derivative UD-017, a Highly Selective CDK7 Inhibitor, Exhibits Anticancer Activity by Inducing Cell-Cycle Arrest and Apoptosis in Human Colorectal Cancer</p> <p>（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）</p>			
論文審査担当者			
主査	教授	稲葉 俊哉	印
審査委員	教授	田中 信治	
審査委員	准教授	岡本 渉	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>近年、Cyclin-dependent kinases (CDK)4/6 を阻害し細胞周期の進行を阻害する 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、新規選択的経口 CDK7 阻害剤 UD-017 について、その抗がん作用およびメカニズムについてヒト由来がん細胞株を用いて明らかにすることを目的として研究を行った。</p> <p>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 種類のキナーゼに対する UD-017 の酵素阻害試験を実施した。その結果、UD-017 は、CDK7 を IC50 値=16nM で阻害したのに対し、IC50=1000nM 以下で阻害したのは MPKα2/β1/γ1 (IC50 = 370nM) 、AMPKα1/β1/γ1 (420nM) 、Haspin (600nM) 、GSK3β (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。ヒト由来がん細胞株増殖抑制試験を実施したところ、特に大腸がん細胞株 HCT-116 で強い細胞増殖抑制効果 (GI50=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 のリン酸化および CDK4/6 下流の Rb のリン酸化を抑制し、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。更に 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、FITC-Annexin V 染色を用いて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。</p> <p>UD-017 の in vivo における抗腫瘍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</p>			

抗腫瘍作用を示し、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 をマウス 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 による体重減少を悪化させることなく薬効を増強させた。

以上の結果から、本論文は選択的 CDK7 阻害剤 UD-017 が、ヒト大腸癌において細胞周期停止およびアポトーシスを介して抗癌活性を示すことを強く示唆した。UD-017 は、臨床でまだターゲットにされていない CDK7 を特異的に阻害する化合物であり、大腸がんに対して治療効果を示す新たながん治療薬となる可能性がある。

よって審査委員会委員全員は、本論文が阿賀康弘に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。