

Chemical biological studies for the compounds
exerting synthetic lethal effect in human tumor cells

March 2017

Yuki Shikata

主 論 文 要 旨

| | | | | |
|--|---------|---|-----|-------|
| 報告番号 | ○ 甲 乙 第 | 号 | 氏 名 | 四方 雄貴 |
| 主 論 文 題 目： Chemical biological studies for the compounds exerting synthetic lethal effect in human tumor cells (合成致死活性を有するがん治療薬シードの化学生物学的解析) | | | | |
| (内容の要旨) 2012 年現在、全世界で年間 820 万人が悪性腫瘍により命を落としており、その数は今後 20 年以内で年間 1400 万人にまで達すると推定されている。この悪性腫瘍に打ち勝つべく、これまでに多くの科学者によりがん治療薬の研究・開発がなされてきた。しかしながら、副作用や薬剤抵抗性、再発などといった多くの課題が未だに残されている。そこで本研究では『合成致死活性』に着目した。これは、がん遺伝子そのものをターゲットせず、がん細胞に対して強力かつ選択的に細胞死を誘導する活性であり、効果的ながん治療戦略になり得ると期待される。本論では、合成致死スクリーニングで取得した nonactin および抗がん活性報告のある xanthohumol を用いて、合成致死活性の観点からがん治療薬シードとしての有用性について検討を行った。 (1). VCP 阻害剤 xanthohumol のヒト腫瘍細胞に対する合成致死活性 これまでに我々は、ホップ抽出物由来 xanthohumol (XN)が valosin-containing protein (VCP) をターゲットとしてその機能を阻害することを見出していた。VCP はがん細胞の生存や予後不良に寄与することが報告されており、また XN についても多くの論文にてその抗がん活性が報告されていることから、我々は XN が VCP をターゲットとすることで抗がん活性を発揮すると仮説を立て、XN の誘導する細胞死に関与する pathway を検証した。shRNA スクリーニングを利用し、阻害することで XN の抗がん活性を増強する遺伝子を探したところ、adenylate cyclase (AC) pathway に関する遺伝子群がヒットした。実際に AC pathway の構成因子の 1 つである PKA の阻害剤 (H-89 および KT5720)を XN と共処理すると、相乗効果を示し、XN の細胞死誘導活性が増強した。以上の結果より、AC/PKA pathway と VCP の機能との間にクロストークが存在し、VCP 阻害剤の合成致死活性に AC/PKA pathway が関与することが示唆された。 (2). β -Catenin 変異がんに対する治療薬シードの探索 様々なヒト腫瘍において、 β -catenin に活性型変異が認められており、有用ながん治療のターゲットとして考えられている。しかしながら、 β -catenin 変異がんに対する治療薬は未だ開発されていない。そこで我々は β -catenin 変異がんに対して合成致死を誘導するがん治療薬シードを、放線菌ライブラリーから探索した。そして、活性本体を単離および精製したところ、ミトコンドリア膜脱共役剤として知られる nonactin を同定した。Nonactin およびその他の脱共役剤である valinomycin や CCCP は、 <i>in vitro</i> で β -catenin 変異がんに対して選択的に細胞死を誘導し、nonactin は <i>in vivo</i> で腫瘍退縮を誘導した。さらに活性型変異 β -catenin が解糖系を抑制することが見出された。脱共役剤はミトコンドリアを阻害することから、我々は、 β -catenin 変異がんは解糖系が抑制されることでミトコンドリアの酸化的リン酸化に依存して生存し、したがって脱共役剤で細胞死が誘導されたのではないかと推測した。以上の結果より、 β -catenin 変異がんに対してミトコンドリアをターゲットすることで合成致死が誘導されたことが示唆された。 | | | | |

SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

| | | |
|--|-------------------------------|--------------------------------------|
| School Science and Technology | Student Identification Number | SURNAME, First name SHIKATA, Yuki |
| Title Chemical biological studies for the compounds exerting synthetic lethal effect in human tumor cells | | |
| Abstract <p>Cancer is one of the life-threatening diseases caused by uncontrolled cell growth and the potential to metastasize anywhere in the body. A large number of cancer researchers have worked on a cure for cancer so far, and a wide variety of anticancer agents have ever been developed and clinically approved. However, they have been confronted with serious side effect and tolerance problems. To circumvent above problems, another idea was spotlighted that “synthetic lethality” might be useful for discovering more effective and selective anticancer agents. In this thesis, the author documented synthetic lethal activities exerted by a mitochondrial uncoupler, nonactin, and a valosin-containing protein inhibitor, xanthohumol in human tumor cells.</p> <p>(1). PKA inhibition facilitates the antitumor activity of xanthohumol, a VCP inhibitor</p> <p>We previously identified valosin-containing protein (VCP) as a target of xanthohumol (XN); VCP can also play crucial roles in cancer progression and prognosis. We investigated the molecular mechanisms governing the contribution of VCP to the antitumor activity of XN. Several human tumor cell lines exhibited high sensitivity to XN both <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i>. Further, shRNA screening identified that the inhibition of the adenylate cyclase (AC) pathway synergistically facilitated apoptosis induced by VCP inhibition. These results suggest there is crosstalk between the AC pathway and VCP function, and targeting both VCP and the AC pathway is a potential chemotherapeutic strategy for a subset of tumor cells.</p> <p>(2). Mitochondrial uncoupler, nonactin, exhibits synthetic lethality with β-catenin mutation</p> <p>β-Catenin, a component of the Wnt pathway, is actively mutated in a wide variety of tumors, therefore, it has been considered as a promising target for therapeutic intervention. We screened for the compound that exhibit synthetic lethality with β-catenin mutation from an in-house natural product library, and isolated nonactin, an antibiotic mitochondrial uncoupler, as a hit compound. Furthermore, we found that expression of active mutant β-catenin induced the decrease in glycolysis rate. Taken together, our results demonstrated that β-catenin mutated tumor cells depend on mitochondrial oxidative phosphorylation for survival, therefore, they undergo apoptosis by the dysfunction of mitochondria following mitochondrial uncouplers such as nonactin.</p> | | |