

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	固形悪性腫瘍に対する新規 YAP1-TEAD シグナル阻害剤の創製
Title(English)	
著者(和文)	壁谷 亜弓
Author(English)	Ayumi Kabeya
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11804号, 授与年月日:2022年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:八波 利恵,福居 俊昭,蒲池 利章,平沢 敬,小倉 俊一郎,中村 聡
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11804号, Conferred date:2022/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 (工学) Doctor of
学生氏名： Student's Name	壁谷 亜弓		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	八波 利恵
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)	

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

【はじめに】

Hippo シグナル経路は、生体内での器官サイズ制御を担う重要なシグナル経路である。経路下流では、転写共役因子 YAP1 が活性化状態になると、核内に移行して転写因子 TEAD と転写複合体を形成し、増殖、生存に関わる遺伝子の発現が亢進する。正常細胞では、細胞同士の接触に反応して、経路上流分子 (NF2, MST, LATS) が YAP1 を不活性化するため、YAP1-TEAD 転写複合体の活性が抑制され、過剰な細胞増殖を止める仕組みがある。一方、一部の固形悪性腫瘍においては、経路上流分子に異常が生じることで、YAP1 が恒常的に活性化し、無制限に細胞が増殖し続ける状態となっている。したがって、Hippo 経路上流分子に異常を有する固形悪性腫瘍において、YAP1-TEAD 転写複合体の機能を阻害することは、強い抗腫瘍効果に結びつく可能性がある。

悪性胸膜中皮腫は、Hippo 経路上流分子の異常が高頻度に認められることが知られており、YAP1-TEAD シグナルへの依存性が高いと考えられる。悪性胸膜中皮腫は治療選択肢が乏しく、近年抗 PD-1 抗体、抗 CTLA4 抗体が承認されたものの治療効果は限定的であり、依然として高いアンメットメディカルニーズが残っている。

本研究では、Hippo 経路上流分子に異常を有する複数のがん細胞株を用いて、YAP1-TEAD 転写複合体の活性を阻害する低分子化合物のスクリーニングを実施した。また、得られたヒット化合物について、ヒト悪性胸膜中皮腫細胞株を用いた作用メカニズム解析および各種薬効薬理評価を行い、真に YAP1-TEAD シグナルを阻害する化合物であるか否か、そして固形悪性腫瘍に対する YAP1-TEAD シグナル阻害効果の検討を実施した。

【方法と結果】

(1) ランダムスクリーニングによる新規 YAP1-TEAD シグナル阻害剤の取得

Hippo 経路上流分子である NF2 を欠損したヒト悪性中皮腫細胞株および LATS1 を欠損したヒト非小細胞肺癌細胞株を用いて、YAP1-TEAD に直接発現制御を受ける分子である CTGF のレポーターアッセイ系を構築した。協和キリン株式会社保有の化合物ライブラリからのランダムスクリーニングを実施した結果、CTGF レポーター活性を強く阻害する化合物を見出した。得られたヒット化合物の誘導体展開から、高い選択性と強い薬効を有する K-975 の創製に成功した。

(2) K-975 の作用メカニズム解析

ヒト悪性中皮腫細胞株において、YAP1-TEAD1 および YAP1-TEAD4 転写複合体に対する K-975 の作用を検討したところ、K-975 は両方の複合体形成を強く阻害した。また、K-975 と TEAD1 の共結晶構造解析の結果、K-975 が TEAD1 のシステイン残基に直接共有結合していることが明らかとなった。

(3) ヒト悪性中皮腫細胞株における *in vitro* および *in vivo* 薬効薬理評価

In vitro において、K-975 は Hippo 経路上流分子に異常を有するヒト悪性中皮腫細胞株に対して、強い増殖阻害活性を示した。また、YAP1-TEAD 下流シグナルを強く抑制し、その作用は YAP siRNA および TEADs siRNA と類似傾向であった。続いて *in vivo* 評価を行った結果、これら細胞株を皮下移植したマウスモデルにおいて、K-975 の強い抗腫瘍効果が認められた。さらに、同所移植モデルである胸腔内移植マウスにおいて、K-975 は強い抗腫瘍効果と延命効果を示した。加えて、CDK4/6 阻害薬との併用により、単剤よりもさらに強い抗腫瘍効果が得られることも見出した。

【考察】

ランダムスクリーニングで得られたヒット化合物の誘導体展開により見出した新規 YAP1-TEAD シグナル阻害剤 K-975 は、TEAD のシステイン残基に直接共有結合することで YAP1 と TEAD のタンパク質間相互作用を強力に抑制できる化合物であった。K-975 が結合するシステイン残基が TEAD ファミリー分子間で保存されていること、そして K-975 の薬理作用が TEAD ファミリー分子全てをノックダウンした際と類似していたことから、K-975 は pan-TEAD 阻害剤であると考えられた。また、K-975 は Hippo 経路上流分子に異常を有する悪性中皮腫細胞に対して *in vitro* および *in vivo* で強い薬効を示したことから、YAP1-TEAD シグナルに依存する固形悪性腫瘍に対して画期的な治療薬となる可能性があると考えられる。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： 生命理工学 系
Department of Graduate major in 生命理工学 コース
学生氏名： 壁谷 亜弓
Student's Name

申請学位 (専攻分野)： 博士 (工学)
Academic Degree Requested Doctor of
指導教員 (主)： 八波 利恵
Academic Supervisor(main)
指導教員 (副)：
Academic Supervisor(sub)

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Introduction

Hippo signaling pathway is known to regulate organ development. In Hippo signaling pathway, TEAD which is a transcription factor is activated by forming a transcriptional complex with YAP1/TAZ, a transcriptional co-activator. In several cancers, upstream factors in Hippo pathway, such as NF2, MST and LATS, are inactivated by genetic alterations. When the upstream factors are inactivated, YAP1/TAZ is activated and forms a complex with TEAD resulting in enhancement of cell proliferation, survival and so on. Therefore, the YAP1-TEAD and TAZ-TEAD complex is considered a novel therapeutic target for cancer treatment.

In this study, a high-throughput screening was performed to discover an inhibitor against YAP1-TEAD signaling. Then, the mechanism of action and anti-tumor effect of a newly discovered compound was evaluated by several pharmacological assays.

Experimental methods and Results

CTGF, one of YAP1-TEAD downstream genes, reporter gene assay was used for the high-throughput screening. After screening and optimization, K-975 was successfully synthesized as a small molecule YAP1-TEAD signaling inhibitor. The three-dimensional structure of YAP1/TAZ-binding domain (YBD) of TEAD1 in complex with K-975 was determined by X-ray crystallography. The crystal structure revealed that K-975 directly bound to the cysteine residue in TEAD1-YBD. Also, the effect of K-975 on YAP1-TEAD and TAZ-TEAD protein-protein interaction (PPI) was evaluated in co-immunoprecipitation assay, and K-975 inhibited YAP1-TEAD1/4 and TAZ-TEAD1/4 PPI in NCI-H226 cells, a human malignant pleural mesothelioma (MPM) cell line. In vitro pharmacological assays, K-975 strongly inhibited the cell proliferation of NF2-non-expressing MPM cell lines, and induced a change of gene expressions similar to that induced by YAP1 knockdown and TEADs knockdown. Furthermore, in vivo experiments, K-975 potently suppressed the tumor growth in several human MPM s.c. xenograft mice models, and showed a significant survival benefit in a human MPM orthotopic xenograft mice model.

Conclusion

According to the results, K-975 is a novel YAP1-TEAD signaling inhibitor which directly binds to TEAD protein and inhibits YAP1-TEAD and TAZ-TEAD PPI. K-975 showed strong anti-tumor effect in pre-clinical MPM models. Therefore, K-975 has a possibility to become an effective drug candidate for some solid tumors.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).