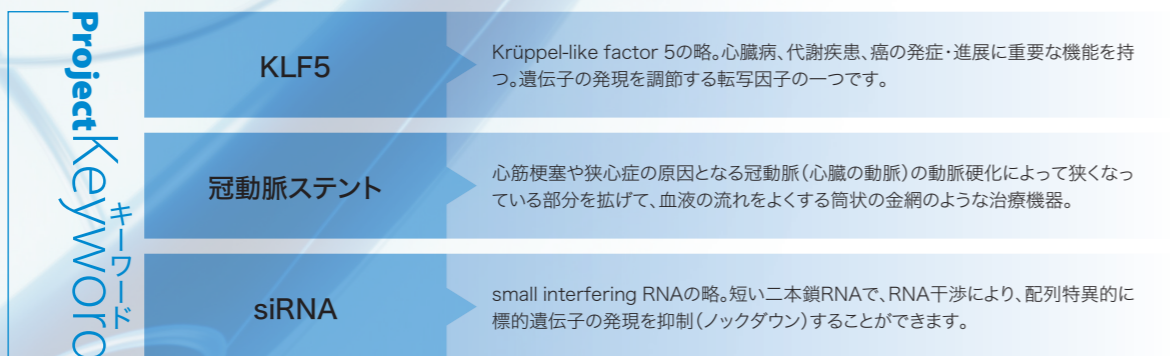


# 循環器疾患・癌の分子ネットワークを標的とする創薬と新規治療法の開発

研究期間 平成17年度～平成21年度(予定)



## 循環器疾患と癌の革新的治療法開発



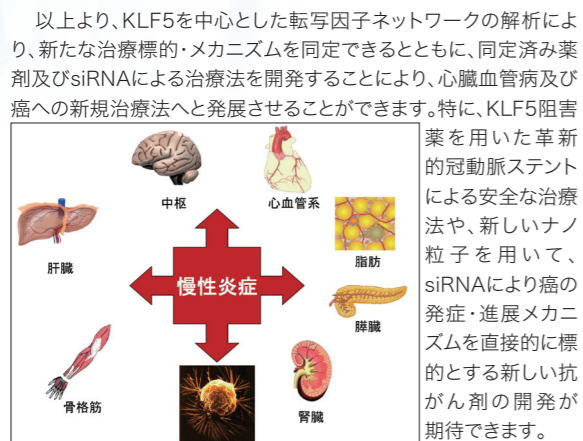
### 1 研究の背景・意義

#### 生活習慣病と癌に共通する慢性炎症

心臓血管病や代謝疾患、慢性腎臓病などの生活習慣病や、癌の発症・進展に共通して慢性炎症が重要です。慢性炎症では、組織の三次元的構築が改変(リモデリング)され不可逆的な臓器機能障害がもたらされます。従って、慢性炎症による組織リモデリングの治療・予防法の開発は喫緊の課題です。

我々は、転写因子KLF5が心血管系の組織リモデリングに重要なことが明らかとなりました。さらに、KLF5に対して作用する薬剤を探索し、合成レチノイドであるAm80がKLF5を阻害することを見いだしました。

また、一方でKLF5が血管新生に重要であり、癌においてはKLF5を阻害することにより、腫瘍血管新生の抑制による抗癌作用を得られることを見いだしました。



▲生活習慣病と癌の発症・進展には共通して炎症のメカニズムが重要な役割を果たします。また、長期に続く炎症は臓器構築の改変をもたらす臓器機能を障害します。

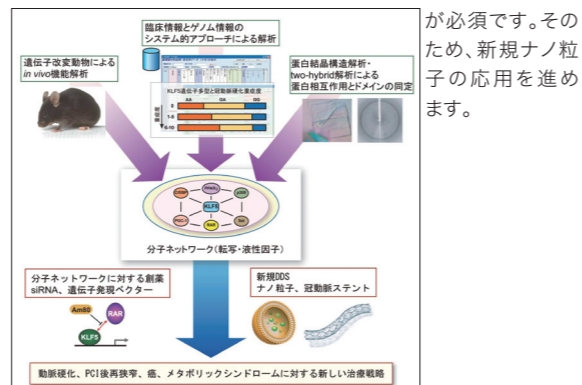
### 2 研究プロジェクトの目標

#### KLF5を標的とする革新的治療法開発

生活習慣病や癌における転写因子KLF5を中心とした分子ネットワークの機能を解析し、新たな治療標的を同定するとともに、同定済みの薬剤の応用と、siRNAによる治療法の開発を進めます。転写因子KLF5については、心臓血管病に重要であることを明らかにしていますが、その他の疾患における役割は不明でした。遺伝子改変動物やゲノム情報などを活用し、生活習慣病と癌における役割を明確にします。この情報を基に、新たな治療薬・siRNAの開発を行います。

同時に、既に同定済みのKLF5阻害薬及び活性化薬の開発を進めます。KLF5阻害薬Am80については、Am80を徐放する冠動脈ステントを開発します。このステントについては、生体適合性の高い材料を使用することにより、安全性の高い革新的ステントを開発することを目的とします。また、虚血性疾患への応用も進めます。

siRNAについては、適応疾患を拡大するためには全身投与で目的臓器に効率よくsiRNAを搬送できるデリバリーシステムの開発

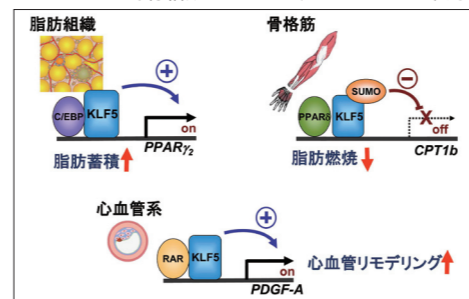


▲転写因子KLF5を中心とした転写ネットワークへの多方面からの解析による新規治療法の開発。

### 3 研究プロジェクトの成果

#### 転写因子KLF5は生活習慣病と癌の鍵分子

転写因子KLF5の機能解析を進め、この転写因子が心臓血管病だけでなく、メタボリックシンドロームと代謝疾患にも重要であることを見いだしました。高脂肪食を与えてもKLF5ノックアウトマウスは太りにくく、メタボリックシンドロームを呈しにくい。この理由として、KLF5が脂肪細胞分化に必須であること、また骨格筋において脂肪燃焼を制御していることを明らかにしました。骨格筋においては、PPAR $\delta$ という転写因子と結合しており、この転写因子を活性化

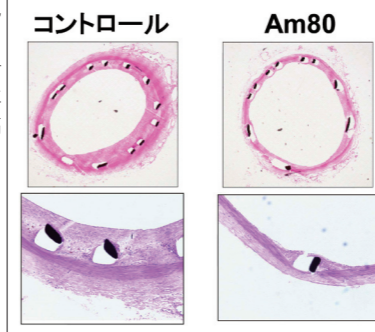


▲KLF5は多様な転写因子やコファクターと結合し、心臓血管病・代謝疾患・癌に重要です。

#### Am80は再狭窄を抑制する

Am80が転写因子KLF5を阻害するメカニズムの詳細を検査し、KLF5とレチノイン酸受容体RARが複合体を形成していること、Am80がこの複合体を解離させてKLF5機能を抑制することを明らかにしました。また、Am80に平滑筋細胞分化・増殖抑制作用に加えて、抗動脈硬化作用があることを見いだしました。

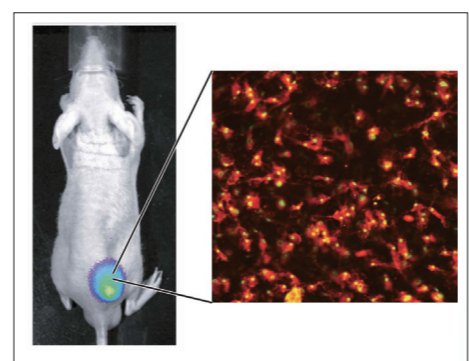
Am80を冠動脈ステントから徐放する方法について、生体適合性の高い方法を開発しました。



▶Am80を経口投与するとウサギステント留置モデルにおいて、再狭窄が抑制されます。

#### ナノ粒子によるsiRNA治療法

siRNAを全身投与で目標臓器(癌)に搬送する方法として新規ナノ粒子の応用を進めました。このナノ粒子は、siRNAの血中安定性を飛躍的に高め、非常に効率よくsiRNAを皮下に植えた癌に集めることができ



▲ナノ粒子はsiRNAを効率よく腫瘍細胞に運びます。

ます。実際にKLF5に対するsiRNAをこのナノ粒子で投与することにより、皮下に植えた癌におけるKLF5発現を抑制し、癌の増殖と血管新生の抑制が得られました。

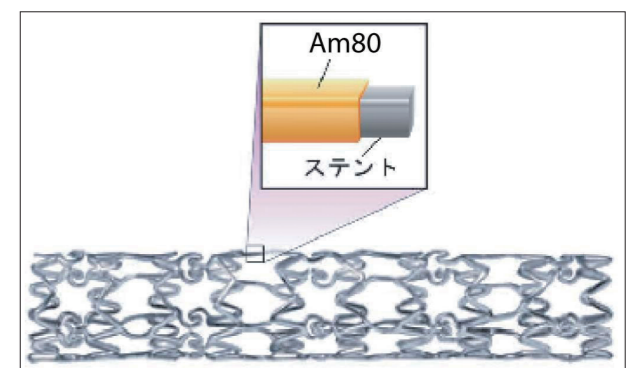
### 4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

#### 安全性と薬効の評価

本研究によって、Am80を徐放する冠動脈ステントの技術的フィージビリティが検討できました。Am80を生体適合性が高く、血管細胞への障害が少ない方法で、必要な時間徐放することが出来ました。プタを用いた動物実験による評価も行っています。

また、ナノ粒子によるsiRNA治療についてもマウスでの有効性が確認できています。

今後は、さらに技術を最適化するとともに、臨床現場への導入を目指して試験品を作製し、有効性についてさらに詳細な検討を行うことが必要となります。また、より重要な試験として、様々な手法による十分な安全性の評価が必須です。動物実験を含む様々な方法で安全性と有効性が十分に確認できた後に、臨床試験へ進むことになります。



▲Am80を溶出する冠動脈ステント。生体適合性の高い方法でAm80をステント表面から徐放します。

#### さらなるメカニズムの解明と創薬へ

本研究によってKLF5の多彩な機能が明らかとなりました。特に、メタボリックシンドロームに必須の機能を持つことは、新たな治療対象として代謝疾患が加わることを意味します。KLF5ノックアウトマウスは過食にもかかわらず、太りにくいという性質を示します。これは、骨格筋において脂肪の燃焼が亢進していることが大きいと考えられます。その詳細なメカニズムを解析したところ、骨格筋においては、PPAR $\delta$ アゴニストがKLF5のSUMO化と呼ばれる蛋白修飾を制御することが明確になっています。KLF5のSUMO化を変化させるような化合物の開発が考えられます。本研究計画で開発している創薬法などの手法を用いた化合物の同定や治療法開発への展開が考えられます。KLF5については、心臓、血管、骨格筋以外でも、生活習慣病や癌で様々な機能を持つことが徐々に分かってきています。その詳細な分子メカニズムを解明することによって、その機能をピンポイントで調節する薬の開発が可能になると考えられます。



▲KLF5のSUMO化は脂肪酸燃焼の分子スイッチです。

#### 参考文献

Oishi Y, Manabe I, Tobe K, Ohsugi M, Kubota T, Fujii K, Maemura K, Kubota N, Kadowaki T, Nagai R. SUMOylation of Kruppel-like transcription factor 5 acts as a molecular switch in transcriptional programs of lipid metabolism involving PPAR- $\delta$ . Nat Med 14:656-666, 2008.

Fujii K, Manabe I, Ishihara A, Oishi Y, Iwata H, Nishimura G, Shindo T, Maemura K, Kagechika H, Shudo K, Nagai R. Synthetic retinoid Am80 suppresses smooth muscle phenotypic modulation and in-stent neointima formation by inhibiting KLF5. Circ Res 97:1132-1141, 2005.

Yagi N, Manabe I, Tottori T, Ishihara A, Ogata F, Kim JH, Nishimura S, Fujii K, Oishi Y, Itaka K, Kato Y, Yamauchi M, Nagai R. A Nanoparticle System Specifically Designed to Deliver Short Interfering RNA Inhibits Tumor Growth In vivo. Cancer Res 69:6531-6538, 2009.