

クッシング病に対する新たな治療薬候補の発見

概要

伯田琢郎 医学部附属病院医員、山内一郎 医学研究科助教、稲垣暢也 同教授（現 田附興風会理事長）らの研究グループは、化合物スクリーニングからクッシング病に対する新たな治療薬候補を発見しました。

クッシング病（※1）は、ACTH というホルモンを産生する下垂体腫瘍により、刺激された副腎からステロイドホルモンが過剰に分泌され、様々な合併症を引き起こす疾患です。現在使用できる薬剤では腫瘍の増大を抑えたり、ACTH の産生を減らしたりすることが困難なことがあり、新たな治療薬が望まれていました。研究グループは ACTH を迅速かつ簡便に評価できる新しい測定系を開発し、これを用いた化合物スクリーニングを実施した結果、治療薬候補となる化合物を多数同定しました。特にその一つであるチオストレプトンに注目して解析を進め、細胞周期（※2）の制御を介して治療効果を示すことを明らかとしました。

今回の発見により、クッシング病に対する新たな治療薬としてチオストレプトンの開発が進むことに加え、スクリーニングで同定した他の候補化合物も治療薬につながることを期待されます。

本研究成果は、2024年7月26日に、国際学術誌「*Endocrinology*」にオンライン掲載されました。



図 本研究の概要。クッシング病モデル細胞株 AtT-20 を用いて化合物スクリーニングを行いました。候補化合物の中からチオストレプトンに注目し、治療効果の実証と作用機序の解明を行いました。

1. 背景

下垂体腫瘍は脳腫瘍の中でも比較的頻度が高い疾患です。その中で ACTH というホルモンを産生する下垂体腫瘍があり、クッシング病の原因となります。クッシング病では、腫瘍から産生された ACTH が副腎からステロイドホルモンを過剰に分泌させ、肥満、高血圧症、糖尿病など様々な合併症を引き起こします。クッシング病の治療は、原因である下垂体腫瘍に対する手術療法が基本ですが、比較的よく再発してしまいます。手術ができないなど、治療に難渋する場合には薬物療法が必要となりますが、現在使用できる薬剤では腫瘍の増大や ACTH の産生を十分に抑制できないことが多く、新たな治療薬が望まれています。本研究では、クッシング病に対する新たな治療薬の開発を目指して、化合物スクリーニングを用いて探索を行いました。

2. 研究手法・成果

化合物スクリーニングを実施するにあたり、抗原抗体反応を用いた従来の ACTH 測定系では作業工程が多く、高速かつ大量に評価することが困難でした。そこで、ACTH のセカンドメッセンジャー(※3)である cAMP を蛍光バイオセンサにより評価する、「ACTH レポーターアッセイ」を新たに開発しました。この測定系を用いることにより、10 分間に約 100 検体の ACTH 濃度を評価することが可能となりました。

この測定系を用いて、医学研究科ドラッグディスカバリーセンターの支援のもと、2480 種類もの化合物に対してスクリーニングを行いました。クッシング病のモデル細胞株である AtT-20 細胞が分泌する ACTH が化合物の投与により変化するか、ACTH レポーターアッセイにより評価しました。再現実験を経て、84 種類の化合物を治療薬候補として同定しました。

その中からチオストレプトンに注目してさらに解析を進めました。チオストレプトンは抗菌薬として開発された一方で、様々ながんに対して効果を示すことが近年明らかになっていましたが、これまで下垂体腫瘍に関する報告はありませんでした。チオストレプトンを AtT-20 細胞へ投与したところ、分泌される ACTH 量が低下しただけでなく、細胞の数や生存率も減少しました。また AtT-20 細胞を移植したマウスに対してもチオストレプトンを投与し、形成される腫瘍の縮小と、血液中の ACTH、副腎皮質ステロイドの減少を確認しました。最後に、チオストレプトン投与がもたらす遺伝子発現の変化を調べることにより、サイクリンを中心とした細胞周期に関連する遺伝子を変化させ、細胞周期の停止と細胞死を誘導することを明らかとしました。

以上のようにして、これまでで最多の化合物を用いたクッシング病を標的とするスクリーニングを実施し、クッシング病の治療薬となりうる候補化合物を多数同定しました。さらに候補化合物の一つであるチオストレプトンが、クッシング病モデルにおいて細胞周期の制御を介した抗腫瘍効果を示すことを明らかとしました。

3. 波及効果、今後の予定

チオストレプトンと同じ作用点において細胞周期を制御するサイクリン依存性キナーゼ阻害薬は、クッシング病に対する臨床試験が海外で行われており、チオストレプトンも治療薬として有望であると考えられます。また多数の候補化合物を同定しましたが、さらなる治療薬の開発につながることを期待し、一覧として公開しています。

本研究成果を足掛かりに、チオストレプトン以外の候補化合物についてもクッシング病に対する効果を検証しています。今回開発した ACTH の新規測定系については、より高精度、高効率とする改良を現在進めており、他のホルモンの測定への応用も検討しています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、公益財団法人「日本応用酵素協会」の支援を受けて実施しました。

<用語解説>

(※1) クッシング病

下垂体は脳基底部のトルコ鞍という部位にある臓器で、様々なホルモンを分泌し、副腎や甲状腺といった多くの内分泌腺の働きを制御しています。ACTHは副腎を刺激する下垂体ホルモンであり、クッシング病は下垂体に発生した腫瘍がACTHを産生し、結果として副腎からステロイドホルモンの分泌過剰をきたす疾患です。肥満や糖尿病・高血圧症・脂質異常症など様々な合併症をきたし、治療されなかった場合には高率に死に至ります。

(※2) 細胞周期

細胞はある一定の大きさになると、細胞分裂を行います。この一連の過程を細胞周期といいます。分裂中の遺伝子損傷を避けるために、複数のチェックポイントで制御を受けた上で細胞周期が進行します。細胞周期の進行に関わる分子は多数あり、サイクリン、サイクリン依存性キナーゼもその一部です。

(※3) セカンドメッセンジャー

ACTHを含むホルモンなどの細胞活性化分子はそれぞれの受容体に結合して効果を示します。受容体により変化を受け、細胞内に刺激を伝える分子をセカンドメッセンジャーと呼びます。ACTHが受容体に結合した場合には、セカンドメッセンジャーであるサイクリックAMPが増加します。セカンドメッセンジャーの濃度は速やかな動態で制御されているため、その濃度が上昇し効果が出るまでの時間は非常に短時間です。

<研究者のコメント>

臨床の現場でクッシング病の診療にあたった際に、現在の治療法では限界があり、その問題を解決したいという思いから研究に着手しました。実験を進める中では、思うような結果が得られず苦しい時期もありましたが、化合物スクリーニングを経て、当初は思いもよらなかった薬剤に注目し、成果を生むことができました。クッシング病の治療の発展に向けて、さらなる研究に繋がりたいと考えています。(伯田琢郎)

<論文タイトルと著者>

タイトル：High-throughput screening for Cushing's disease: therapeutic potential of thiostrepton via cell cycle regulation (クッシング病に対するハイスループットスクリーニング：チオストレプトンによる細胞周期制御を介した治療可能性)

著者：Takuro Hakata, Ichiro Yamauchi, Daisuke Kosugi, Taku Sugawa, Haruka Fujita, Kentaro Okamoto, Yohei Ueda, Toshihito Fujii, Daisuke Taura, Nobuya Inagaki

掲載誌：Endocrinology DOI：<https://doi.org/10.1210/endocr/bqae089>