

(平成 26 年度研究報告書)

26-A-10 臨床試験導出に至る工程に関して明確な構想を持つ新規革新的治療薬の開発
北林 一生

独立行政法人国立がん研究センター 研究所 造血器腫瘍研究分野

研究の分類・属性

発がん・がん生物学

研究の概要

本研究では、研究所・病院・早期探索臨床研究センターの各研究者の協力により、変異型 IDH 阻害剤及び EZH2 阻害剤の臨床試験への導出に必要な諸問題を解決し、新規革新的治療薬の開発を促進する。イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) をコードする IDH1 遺伝子及び IDH2 遺伝子は、脳腫瘍・急性骨髄性白血病・骨髄異形成症候群・胆管がん・軟骨肉腫・骨肉腫・骨巨細胞腫など様々ながんにおいて高頻度に機能獲得型変異が見られる。一方、ヒストンメチル化酵素をコードする EZH2 遺伝子はびまん性大細胞性 B 細胞性リンパ腫 (DLBCL)、濾胞性リンパ腫 (FL) において高頻度に活性化型変異が見られ、膵臓がん・肺がん・胃がん・悪性横紋筋肉腫様腫瘍(MRT)などにおいて EZH2 遺伝子の高い発現が見られる。これまでに研究所と第一三共との共同研究により開発した変異型 IDH1 特異的阻害剤及び第一三共が開発した EZH2 阻害剤を臨床試験に進めるため、動物モデルや移植モデルを作製してこれらの化合物の薬効を調べると共に、遺伝子変異・発現情報と臨床情報を統合して、治療対象となる患者の層別化を行うための診断法を確立する。

平成 26 年度研究経費

14,493 千円

研究班の組織

研究者名	所属研究機関名・職名	分担研究課題名
北林一生	国立がん研究センター研究所造血器腫瘍研究分野・分野長	研究統括、動物モデルの作製、感受性試験、薬効評価
飛内 賢正	国立がん研究センター中央病院・血液腫瘍科・科長	リンパ腫に対する新規治療法の開発
中馬 広一	国立がん研究センター中央病院・骨軟部腫瘍・リハビリテーション科・科長	軟骨肉腫・骨肉腫に対する新規治療法の開発
奥坂拓志	国立がん研究センター中央病院・肝胆膵内科長	胆管がんに対する新規治療法の開発

成田善孝	国立がん研究センター中央病院 脳脊髄腫瘍科・副科長	脳腫瘍に対する新規治療法の開発
小林幸夫	国立がん研究センター中央病院 血液腫瘍科・外来医長	白血病に対する新規治療法の開発
小川 千登世	国立がん研究センター中央病院 小児腫瘍科・医長	小児白血病に対する新規治療法の開発
山本昇	国立がん研究センター早期・探索 臨床研究センター先端医療科先端 医療科長	肺がんに対する新規治療法の開発
細野亜古	国立がん研究センター東病院小 児腫瘍科・医長	横紋筋肉腫様腫瘍に対する新規治療法の開発
上野秀樹	国立がん研究センター中央病院 肝胆膵内科・医長	膵がんに対する新規治療法の開発
岩佐 悟	国立がん研究センター早期・探索 臨床研究センター先端医療科・医 員	胃がんに対する新規治療法の開発
市村 幸一	国立がん研究センター研究所・脳 腫瘍連携研究分野・分野長	脳腫瘍細胞株及び患者試料の変異解析
河野 隆志	国立がん研究センター研究所ゲ ノム生物学研究分野・分野長	肺がん細胞株及び患者試料の変異解析及び感 受性試験
市川 仁	国立がん研究センター研究所臨 床ゲノム解析部門長/EPOCTR分 野・ユニット長	ゲノム診断プラットフォームの確立

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標)

イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) をコードする *IDH1* 遺伝子は、急性骨髄性白血病・グリオーマ・胆管がん・軟骨肉腫など様々ながんにおいて高頻度に変異が見られる。主任研究者らは、IDH 遺伝子変異を有す

る急性骨髄性白血病モデルマウスを独自に作製し、このモデルマウスを用いて IDH 遺伝子変異を欠損させると白血病の発症が抑制されることを証明した（職務発明 2013-18、特願 2013- 230472）。この結果は変異型 IDH の発現が白血病の維持に必須であり、変異型 IDH が有望な治療標的であることを示している。

ポリコーム抑制複合体 PRC1 及び PRC2 は、HOX 遺伝子群などの転写抑制に関わる因子である。PRC2 の活性サブユニットである EZH2 は、ヒストンメチル化酵素でヒストン H3K27 のトリメチル化を誘導する。EZH2 遺伝子は、びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫（DLBCL）、濾胞性リンパ腫において活性化型変異が見られる。一方、膵臓がん・肺がん・胃がん・悪性横紋筋肉腫様腫瘍などにおいては EZH2 遺伝子の高い発現が見られる。申請者らは、急性骨髄性白血病モデルマウスを用いて PRC1 の活性サブユニットである Ring1 の欠損により白血病の発症が抑制されることを証明した。また、PRC2 のサブユニットである EED の欠損により白血病の発症が抑制されることが最近報告されている。これらの結果は PRC が白血病の維持に必須であり、PRC が有望な治療標的であることを示している。

新規革新的治療薬を開発するため、変異型 IDH1 阻害剤と EZH2 阻害剤の臨床試験へ導出に必要な研究を行う。このため、疾患モデルを用いた変異型 IDH1 阻害剤と EZH2 阻害剤の薬効の検証、臨床的重要性及び妥当性の検討、診断法の確立、前臨床試験及び臨床試験の準備を行う。なお、本研究の関連研究は第一三共（株）との共同研究として実施する。

第1年次

（到達目標）

1. 変異型 IDH1 阻害剤の臨床開発
 - (1) 患者由来の腫瘍組織片試料を免疫不全マウス (NOG) に移植し、IDH1 変異をもつ患者由来組織片移植 (PDX) モデルを確立する。
 - (2) 急性骨髄性白血病モデル及び PDX モデルを用いて *in vivo* で抗腫瘍効果を示す変異型 IDH1 阻害剤の最適化をすすめ、臨床試験候補化合物を確定する。
2. EZH 阻害剤の臨床開発
 - (1) EZH1 及び EZH2 の条件的遺伝子欠損マウスを用いた急性骨髄性白血病モデルを作製し、EZH1 及び EZH2 が白血病の維持に必要なかどうかを調べ、治療標的としての妥当性を検証する。

（年次評価時点の実績要点）

1. 変異型 IDH1 阻害剤の臨床開発
 - (1) IDH1 変異を持つグリオーマ患者由来の腫瘍組織片試料を免疫不全マウス (NOG) の皮下に移植し、IDH1 変異をもつ患者由来組織片移植 (PDX) モデルを確立した。繰り返し移植可能な 1 株の樹立に成功した。
 - (2) 強い変異型 IDH1 阻害活性を示す化合物を急性骨髄性白血病モデルに投与し、白血病細胞内の 2HG の産生が減少することを確認した。このうち最も 2HG 産生を抑制する化合物は顕著に白血病細胞を減少させることを明らかにした。また、グリオーマ移植モデルに投与したところ、顕著に抗腫瘍効果があることを見出した。
2. EZH 阻害剤の臨床開発
 - (1) EZH1 及び EZH2 の条件的遺伝子欠損マウスの骨髄に白血病関連融合遺伝子を MLL-AF10, MLL-ENL, MOZ-TIF2, AML1-ETO, CALM-AF10, NUP98-HOXA9, PNL-RARA を導入し、コロニー形成能に EZH1 及び EZH2 が必要かどうかを検討したところ、試した全ての融合遺伝子による白血病細胞の維持に EZH1 及び EZH2 のどちらかが必要であることが明らかになった。

研究成果と考察

第1年次評価時点

1. 変異型 IDH1 阻害剤の臨床開発

IDH1 遺伝子変異を有する急性骨髄性白血病モデルマウスに 3 種類の変異型 IDH1 阻害剤を投与すると、速やかに 2HG レベルが低下し、白血病細胞が減少し、白血病細胞の減少は 2HG 産生の阻害と明確に相関した。野生型 IDH はイソクエン酸を α ケトグルタル酸 (\square KG) に変換するが、変異型 IDH は野生型と異

なり、□KGを2ハイドロキシグルタル酸(2HG)に変換する活性を持つ。この変異型IDH1の阻害剤は、変異型IDH1を非常に強く阻害するが、野生型IDH1は阻害しないため、がん特異的に作用する。したがって、今回開発したIDH1阻害剤は副作用が極めて少ないことが期待される。

2. EZH阻害剤の臨床開発

EZH1及びEZH2の条件的遺伝子欠損マウスを用いて、急性骨髄性白血病細胞の維持にはEZH1とEZH2のどちらかが必要であることを明らかにした。この結果は、EZH1及びEZH2の両方を阻害することが白血病治療には必要であることを示唆している。

倫理面への配慮

ヒト試料を用いた研究は、「疫学研究に関する倫理指針」に従い、施設内倫理委員会の承認を受けて実施する。研究の実施にあたっては個人情報厳密に守られること、研究への承諾が得られなかったとしても患者に診療上の不利益がないことを説明し、自由意志により提供者の承諾を得た上で、検体の採取を行う。動物実験は、「厚生労働省における動物実験等の実施に関する基本指針」及び「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」に従い、施設内動物倫理委員会の承認を受けて、生命の尊重と苦痛をともなう実験への十分な配慮のもとに実施する。遺伝子組換え実験は、施設内組換え実験安全委員会の承認を受け、遺伝子組換え実験安全管理規定に従って行う。本研究では、生殖細胞系列の遺伝子解析は行わない。また、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する倫理指針」の対象とする『人の体内に移植又は投与する臨床研究』は行わない。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

第1年次

(雑誌論文)

Yoko Ogawara, Takuo Katsumoto, Yukiko Aikawa, Yutaka Shima, Yuki Kagiya, Tomoyoshi Soga, Hironori Matsunaga, Takahiko Seki, Kazushi Araki, Issay Kitabayashi The IDH2 mutation cooperates with the NPM1 mutation to activate Hoxa9/Meis1 and hypoxia pathways in acute myeloid leukemia. *Cancer Res.* 75:2005-2016, 2015.

(学会発表)

Critical pathways for stem cell maintenance and therapeutic strategy in acute myeloid leukemia Issay Kitabayashi、日本癌治療学会シンポジウム、2014年8月

Clonal evolution of stem cells and therapeutic strategy in acute myeloid leukemia, Issay Kitabayashi、日本癌学会シンポジウム、2014年10月

がん幹細胞成立と維持における変異型IDHの役割と治療、北林一生、日本生化学会シンポジウム、2014年11月

IDH mutant regulates metabolism and hypoxia pathway in AML, Yoko Ogawara, Takuo Katsumoto, Yukiko Aikawa, Yutaka Shima, Yuki Kagiya, Tomoyoshi Soga, Hironori Matsunaga, Takahiko Seki, Kazushi Araki, Issay Kitabayashi、日本血液学会シンポジウム、2014年11月

Epigenetic regulation of stem cells in acute myeloid leukemia, Issay Kitabayashi、日本分子生物学会シンポジウム、2014年11月

(書籍)

なし

(知的財産権)

特許出願

非公開

(政策提言(寄与した指針等))

なし

(その他)
なし