

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
国立がん研究センター 研究所

研究の分類・属性

発がん・がん生物学分野

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型 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 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 27 年度研究経費

7,499 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
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

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。

第2年次

(到達目標)

1. 変異型 IDH1 阻害剤の臨床開発

IDH1 変異をもつグリオブラウストーマ皮下移植モデルに、開発中の変異型 IDH1 阻害剤を投与し、薬理効果を調べる。IDH1 変異をもつ軟骨肉腫細胞を皮下に移植したモデルを作製し、これらのモデルに変異型 IDH1 阻害剤を投与し、薬効を調べる。

2. EZH 阻害剤の臨床開発

- (1) リンパ腫、多発性骨髄腫、白血病の患者の腫瘍組織を免疫不全マウス (NOG) に移植し、移植モデルを確立する。
- (2) 急性骨髄性白血病モデルを用いて EZH 阻害剤の抗腫瘍効果を検討する。
- (3) リンパ腫、多発性骨髄腫、白血病の患者の骨髄細胞を用いて EZH 阻害剤の抗腫瘍効果を検討する。

(年次評価時点の実績要点)

1. 変異型 IDH1 阻害剤の臨床開発

IDH1 変異をもつグリオブラストーマ皮下移植モデルに、開発中の変異型 IDH1 阻害剤を投与したところ、2HG の産生と腫瘍の増殖が顕著に抑制され、アストロサイトの分化マーカーである GFP の発現が上昇することが明らかとなった。増殖抑制効果は化合物の血中レベルと正に相関し、2HG の減少効果と一致した。また、軟骨肉腫皮下移植モデルに、開発中の変異型 IDH1 阻害剤を投与したところ、2HG の産生と腫瘍の増殖が顕著に抑制された。

2. EZH 阻害剤の臨床開発

- (1) 中央病院血液腫瘍科及び幹細胞移植科を受診し同意の得られた 40 例のリンパ腫、多発性骨髄腫、白血病の患者の骨髄を免疫不全マウス (NOG) に移植を完了した。
- (2) MOZ-TIF2 融合遺伝子及び MLL-AF10 を導入した急性骨髄性白血病モデルに EZH 阻害剤を経口投与したところ、AML の幹細胞が減少し、顕著な延命効果があることを確認した。また、EZH 阻害剤は上述の 7 種類の融合遺伝子を導入した AML 細胞のうち 6 種類の増殖を抑制した。これらの結果を受けて、臨床試験を行うための準備を進めている。
- (3) びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫及びマンツル細胞リンパ腫の移植モデルに EZH 阻害剤を経口投与したところ、腫瘍が顕著に縮小することが明らかとなった。

研究成果と考察

第 2 年次評価時点

1. 変異型 IDH1 阻害剤の臨床開発

IDH1 変異をもつグリオブラストーマ皮下移植モデルで、腫瘍の増殖が顕著に抑制されることが明らかとなった。原発組織に移植したモデルを用いて薬効を調べることである。特に脳内への物質の移動は血液脳関門で制限されるため、原発組織での薬理効果を確認することは重要である。そのため、グリオブラストーマを原発組織である脳内に移植したモデル (グリオブラストーマ脳内移植モデル) と軟骨肉腫を原発組織である骨髄内に移植したモデル (軟骨肉腫骨髄内移植モデル) を作製し、このモデルに変異型 IDH1 阻害剤を投与し、薬効を調べることを計画している。

2. EZH 阻害剤の臨床開発

- (1) リンパ腫、多発性骨髄腫、白血病の移植モデルは、40 例の移植を完了した。これらは、本研究のみに用いるのではなく、広く利用可能な研究資源として整備していく予定である。
- (2) EZH 阻害剤は、マウス急性骨髄性白血病モデルで明確な顕著な延命効果があることが確認され、試した多くのタイプの AML 細胞の増殖を抑制した。これらの結果は、EZH 阻害剤が多くのタイプの AML に有効であることを示唆している。一方で、EZH 阻害剤の効果が見られるまでには少なくとも 2 週間以上の連続投与が必要であった。これは EZH 阻害剤が AML 幹細胞及び前駆細胞の分化を誘導するため、全体の腫瘍細胞が減少するには時間を要するためと考えられる。より治療効果を高めるため、化学療法との併用についても検討を行いたい。
- (3) びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫及びマンツル細胞リンパ腫の移植モデルに EZH 阻害剤を経口投与したところ、腫瘍が顕著に縮小することが明らかとなった。

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管理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論文・学会発表等

第2年次

(雑誌論文)

- ・ 国立がん研究センター研究開発費による成果であることが記載されているもの

Ogawara Y, Takuo Katsumoto T, Aikawa Y, Shima Y, Kagiya Y, Soga T, Matsunaga H, Seki T, Araki K, Kitabayashi I. IDH2 and NPM1 mutations cooperate to activate Hoxa9/Meis1 and hypoxia pathways in acute myeloid leukemia. *Cancer Res.* 75:2005-2016, 2015.

Aikawa Y, Yamagata K, Katsumoto T, Shima Y, Shino M, Stanley ER, Cleary ML, Akashi K, Tenen DG, Kitabayashi I. Essential role of PU.1 in maintenance of MLL-associated leukemia stem cells. *Cancer Sci.* 106:227-36 2015.

- ・ 国立がん研究センター研究開発費による成果であることが記載はないが、関連するもの

Kato T, Sakata-Yanagimoto M, Nishikii H, Ueno M, Miyake Y, Yokoyama Y, Asabe Y, Kamada Y, Muto H, Obara N, Suzukawa K, Hasegawa Y, Kitabayashi I, Uchida K, Hirao A, Yagita H, Kageyama R, Chiba S. Hes1 suppresses acute myeloid leukemia development through FLT3 repression. *Leukemia*, 29:576-85, 2015.