

(総合研究報告書)

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

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。

研究経費

年 度	研究経費
平成 26 年度	14,493 千円
平成 27 年度	7,500 千円
平成 28 年度	10,462 千円
総 計	34,455 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 (研究代表者)	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

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。

(研究終了時点の実績要点)

・変異型 IDH1 に対する特異的阻害剤を開発し、主要特許を共同出願した。変異型 IDH1 阻害剤が急性骨髄性白血病モデル、グリオブラストーマ脳内移植モデル及び軟骨肉腫骨髄移植モデルの増殖を強く抑制することを明らかにした。これらの結果を基盤として、IDH1 変異を持つグリオーマに対する臨床試験を 2017 年 1 月より開始することを予定している。

・EZH1/2 二重阻害剤が、急性骨髄性白血病モデル、マントル細胞リンパ腫移植モデル、多発性骨髄腫移植モデルの増殖を抑制することを明らかにした。これらの結果を基盤として、悪性リンパ腫に対する臨床試験を 2016 年 3 月より開始し、急性骨髄性白血病に対する臨床試験を 2017 年 2 月より開始することを予定している。

研究方法

1. 疾患モデルの作製

- (1) 患者組織片又は細胞株を NOG マウスの皮下又は相当する原発組織に移植することにより、各がんの疾患モデルを作製する。
- (2) 急性骨髄性白血病については、MLL-AF10, MOZ-TIF2, AML1-ETO, CALM-AF10 などの融合遺伝子や変異型 IDH1 を含む 4 つの変異遺伝子をマウス骨髄細胞に導入し、これを放射線照射した同系マウス骨髄に移植することにより、急性骨髄性白血病モデルを作製する。

2. 治療効果及び薬物動態の検討

- (1) 疾患モデルに変異型 IDH1 阻害剤又は EZH2 阻害剤を投与し、治療効果及び薬物動態を調べ、治療薬として適した化合物を選定し、治療薬の最適化を図る。

研究成果と考察

全期間 (研究終了時)

1. 変異型 IDH1 阻害剤の臨床開発

変異型 IDH1 阻害剤が、急性骨髄性白血病だけでなく、IDH1 変異をもつ脳腫瘍や軟骨肉腫にも有効であることが明らかとなった。特に変異型 IDH1 阻害剤が顕著な脳内移行性を示すことから、脳腫瘍への効果が期待される。これらの結果を基盤として、今年 1 月から IDH1 変異をもつ脳腫瘍に対する臨床試験を開始した。

2. EZH 阻害剤の臨床開発

EZH 阻害剤が、マントル細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病にも有効であることが明らかとなった。これらの結果を基盤として、昨年 4 月から悪性リンパ腫に対する臨床試験を開始し、急性骨髄性白血病に対する臨床試験を今年 5 月から開始した。多発性骨髄腫に対する臨床試験も検討している。

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ま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

研究開始以前のもので特記すべきもの

(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
- ・ 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

(書籍)

(知的財産権)

(政策提言 (寄与した指針等))

(その他)

第1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

Shima H, Yamagata K, Aikawa Y, Shino M, Koseki H, Shimada H, Kitabayashi I. Bromodomain-PHD finger protein 1 is critical for leukemogenesis associated with MOZ-TIF2 fusion. *Int. J. Hematology* 9: 21-31, 2014.

Suzuki M, Yamagata K, Shino M, Aikawa Y, Akashi K, Watanabe T, Kitabayashi I. The nuclear export signal (NES) within CALM is necessary for CALM-AF10-induced leukemia. *Cancer Sci.* 105:315-23, 2014.

- ・ 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

Iwamoto C, Takenaka K, Urata S, Yamauchi T, Shima T, Kuriyama T, Daitoku S, Saito Y, Miyamoto T, Iwasaki H, Kitabayashi I, Itoh K, Kishimoto J, Kohda D, Matozaki T, Akashi K. The BALB/c-specific polymorphic SIRPA enhances its affinity for human CD47, inhibiting phagocytosis against human cells to promote xenogeneic engraftment. *Exp Hematol.* 42:163-171, 2014.

Okuda H, Kawaguchi M, Kanai A, Matsui H, Kawamura T, Inaba T, Kitabayashi I, Yokoyama A. MLL fusion proteins link transcriptional coactivators to previously active CpG-rich promoters. *Nucleic Acids Res.* 42:4241-56, 2014

Miyagi S, Koide S, Saraya A, Wendt GR, Oshima M, Konuma T, Yamazaki S, Mochizuki-Kashio M, Nakajima-Takagi Y, Wang C, Chiba T, Kitabayashi I, Nakauchi H, Iwama A. The TIF1-HP1 System Maintains Transcriptional Integrity of Hematopoietic Stem Cells. *Stem Cell Reports*. 2:145-52, 2014.

Nakahata S, Ichikawa T, Maneesaay P, Saito Y, Nagai K, Tamura T, Manachai N, Yamakawa N, Hamasaki M, Kitabayashi I, Arai Y, Kanai Y, Taki T, Abe T, Kiyonari H, Shimoda K, Ohshima K, Horii A, Shima H, Taniwaki M, Yamaguchi R, Morishita K. Loss of NDRG2 expression activates PI3K-AKT signalling via PTEN phosphorylation in ATLL and other cancers. *Nat Commun*. 5:3393, 2014.

Nakamoto-Matsubara R, Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Yoshida K, Yanagimoto S, Shiozawa Y, Nanmoku T, Satomi K, Muto H, Obara N, Kato T, Kurita N, Yokoyama Y, Izutsu K, Ota Y, Sanada M, Shimizu S, Komeno T, Sato Y, Ito T, Kitabayashi I, Takeuchi K, Nakamura N, Ogawa S, Chiba S. Detection of the G17V RHOA mutation in angioimmunoblastic T-cell lymphoma and related lymphomas using quantitative allele-specific PCR. *PLoS One*. 9:e109714, 2014.

(書籍)

(知的財産権)

特許出願

【発明の名称】変異型イソクエン酸デヒドロゲナーゼ1阻害剤としてのイソキサゾール誘導体

【発明者】斉藤昭一、伊藤雅夫、藤沢哲則、斉藤博直、清塚洋平、渡邊秀昭、松永大典、小川原陽子、北林一生

【出願日】2014/10/1 【出願番号】特願 2014-203475

(政策提言 (寄与した指針等))

(その他)

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.

(書籍)

(知的財産権)

(政策提言 (寄与した指針等))

(その他)

第3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

Takamatsu-Ichihara E, Kitabayashi I. The roles of Polycomb group proteins in hematopoietic stem cells and hematological malignancies. *Int J Hematol.*, 103:634-42, 2016.

Shima Y, Yumoto M, Katsumoto T, Kitabayashi I. MLL is essential for NUP98-HOXA9-induced leukemia. *Leukemia.*, in press, 2017

- ・ 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
Asano Y, Kawase T, Okabe A, Tsutsumi S, Ichikawa H, Tatebe S, Kitabayashi I, Tashiro F, Namiki H, Kondo T, Semba K, Aburatani H, Taya Y, Nakagama H, Ohki R. IER5 generates a novel hypophosphorylated active form of HSF1 and contributes to tumorigenesis. *Sci Rep.* 2016 Jan 12;6:19174.

Tabu K, Muramatsu N, Mangani C, Wu M, Zhang R, Kimura T, Terashima K, Bizen N, Kimura R, Wang W, Murota Y, Kokubu Y, Nobuhisa I, Kagawa T, Kitabayashi I, Bradley M, Taga T. A Synthetic Polymer Scaffold Reveals the Self-Maintenance Strategies of Rat Glioma Stem Cells by Organization of the Advantageous Niche. *Stem Cells.* 2016 May;34(5):1151-62.

(書籍)

(知的財産権)

(政策提言 (寄与した指針等))

(その他)