

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業
産学連携医療イノベーション創出プログラム セットアップスキーム (ACT-MS)
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名：難治性肺癌に対する革新的抗がん剤の創出

Creation of the innovative anticancer agent for the intractable lung cancer

研究開発実施期間：2017年10月18日～2019年3月31日

研究開発代表者：上久保 靖彦

Yasuhiko Kamikubo

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

国立大学法人京都大学 大学院医学研究科 人間健康科学系専攻 特定教授

Department of Human Health Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University

Specially appointed professor

II 研究開発の概要

本研究開発で実施した(1)遺伝子発現解析で Chb-M' のオンターゲット効果(RUNX1 阻害能)を評価し、Chb-M' がオンターゲット効果を有していることが証明された。(2)Kinase プロファイル解析、(3)レセプターアッセイにて、オフターゲット効果の有無、および出現濃度を検討することができた。(4)バイオマーカー探索、(5)肺癌細胞でのターゲット探索を行い、A 経路及びそのエフェクターである Y と Z を候補として抽出した。遺伝子 Z の高発現している EGFR 野生型 NSCLC が治療ターゲットカテゴリーである可能性が高いことが判明した。

以上の結果から、今後の非臨床試験、臨床試験における治療ターゲットとして有効なバイオマーカーを抽出できた。また、セットアップ企業により、臨床応用に向けた非臨床試験デザインのアドバイスが効果的に行われた。

(1) 遺伝子発現解析

実施内容

- 1) DNA Binding ELISA Kit を用いた検証
- 2) レポーターアッセイ
- 3) Chb-M' による生体内での RUNX ファミリー制御を確認。

研究開発成果

- 1) DNA Binding ELISA Kit を用いた検証：被験物質による RUNX1-DNA 結合に対する阻害作用を検討した。Chb-M' は阻害作用を有するが、後継候補化合物 Chb-M は阻害作用を有さないことが判明した。
- 2) レポーターアッセイ：Chb-M' により RUNX ターゲット遺伝子レポーター活性が抑制されることを確認した。
- 3) Chb-M' による生体内での RUNX ファミリー制御の確認：Chb-M' は生体内で RUNX 阻害剤としてのオンター

ゲット効果を有することを確認できた。

意義

Chb-M' は *in vitro*, *in vivo* で RUNX 阻害剤としてのオンターゲット効果を有することが判明した。

(2) Kinase プロファイル解析

実施内容

CRO で行った Kinase プロファイルのデータを、セットアップ企業のアドバイスを元にデータ解析した。あわせて非臨床試験デザインへの応用バイオマーカー抽出を試みた。

研究開発成果

Chb-M' 及び Chb-M ともに、ある規定の濃度以下で 50%以上の阻害が見られなかった。

意義

効果域と副作用域の予測が達成された。

(3) レセプターアッセイ

実施内容

CRO にて行ったレセプターとトランスポーターアッセイを Follow Up 追加検証した。セットアップ企業のアドバイスを元にデータ解析した。

研究開発成果

Chb-M' 及び Chb-M ともに、ある規定の濃度以下で 50%以上の阻害が見られなかった。

意義

効果域と副作用域の予測が達成された。

(4) バイオマーカー探索

実施内容

肺癌症例の遺伝子発現解析からのバイオマーカー・安全性分子バイオマーカー候補から正しいマーカーを決定した。

研究開発成果

バイオマーカーとして、A 経路及びそのエフェクターである Y と Z を抽出した

意義

Mig 6 とは別の A 経路とそのエフェクターである Y と Z をバイオマーカーとして抽出し、以降の非臨床試験、臨床試験における治療カテゴリーの抽出に有用な情報を得ることができた。

(5) Chb-M' および Chb-M の肺癌細胞でのターゲットの探索試験

実施内容

1) 細胞パネル試験：

Chb-M' および後継候補化合物 Chb-M を用いて細胞パネル試験を行った。

2) NGS 試験 (NGS を用いた RNA Sequence)：

CRO に委託して、Chb-M' の効果があった細胞 (4 株) と効果がない細胞 (4 株) の NGS (RNA Sequence) を行い、遺伝子発現解析を行った。

研究開発成果

Chb-M' が効果を有した細胞株で共通して発現増加、発現減少する遺伝子を検証した後、Chb-M' で遺伝子 Z が有意に動いていることが判明した。これは(4)で抽出した遺伝子 Z とマッチしていた。

意義

遺伝子 Z の高発現している EGFR 野生型 NSCLC が治療ターゲットカテゴリーである可能性が高いことが判明した。今後の非臨床試験、臨床試験における治療ターゲットとして有効なバイオマーカーを抽出できた。

(6) Non-GMP バルク Chb-M' 及び後継候補化合物 Chb-M の供給

実施内容

Chb-M' および後継候補化合物 Chb-M の供給

研究開発成果

Chb-M' および後継候補化合物 Chb-M の供給を滞りなく完了した。

意義

上記(1)～(5)の試験において、Chb-M' の供給における実績を示すことができた。後継候補物質 Chb-M も十分な供給が可能であるが、今回 Chb-M は RUNX 阻害剤として機能していないことが判明したことから、Chb-M' における今後の試験継続が必要であることが判明した。

(7) 試験デザインアドバイスによる臨床応用化推進

実施内容

上記(1)～(6)による in vitro 副次的薬効薬理試験等の結果を解析し、続く非臨床試験系デザインを行うため、非臨床試験の実施に向けたレポートの作成

研究開発成果

以下の非臨床試験の実施に向けたレポートを順次作成した。

- ・非臨床試験のプロジェクト管理及び資料作成
- ・対面助言用資料の作成

意義

適切な試験デザインアドバイスがなされ、今後の非臨床試験、臨床試験への進行に有益な情報となった。

Summary

The On target effect of Chb-M' was successfully confirmed through (1) DNA Binding ELISA and the off target effects were evaluated and analyzed through (2) Kinase profiling analysis and (3) Receptor Assay. The biomarkers "A" signal cascade and its effector "Y" and "Z" were isolated from the experiments 1~3, and the positive correlation between pan RUNX expression and "Z" expression was confirmed through TCGA analysis. It was confirmed that Chb-M' had actual on-target function as RUNX inhibitor, and the optimization of Chb-M' maybe the next step for promoting clinical applications.

Outcome

- (1) DNA Binding ELISA showed that not Chb-M, but Chb-M' effectively inhibited the RUNX1 binding to RUNX consensus (TGTGGT), and the reporter assay showed Chb-M' also effectively inhibited the RUNX1 target gene promotor activity, suggesting that Chb-M' on-target effects involved RUNX1 inhibition.
- (2) Kinase profiling analysis; 50% inhibition of any kinase was not seen at a certain prescribed density or less.
- (3) Receptor Assay; 50% inhibition of any receptor was not seen at a certain prescribed density or less.
- (4) The isolation of biomarkers; "A" signal cascade and its effector "Y" and "Z" as candidates of biomarkers, were isolated from the experiments 1~3, and the positive correlation between pan RUNX expression and "Z" expression was confirmed through TCGA analysis.
- (5) Cell panel test, NGS test (RNA-Sequence); Gene "Z" was isolated as a strong biomarker for Chb-M'.
- (6) Chb-M' and Chb-M (succeeding candidate compound) were successfully provided by partaker (Prof. Hiroshi Sugiyama)
- (7) The examination designs for promoting clinical application were successfully provided by Set up company.

Significance

Through the experiments performed by CROs and our labs, It was confirmed that Chb-M' had actual on-target function as RUNX inhibitor, and the optimization of Chb-M' maybe the next step for promoting clinical applications.

III 事後評価総合所見

PI-polyamide を遺伝子の ON-OFF 機能に利用するというコンセプトは独自性・革新性があり、Chb-M' の基本的検証が進んでいる点は評価されました。

一方で、Mig6 制御コンセプトが、肺癌に多く見られる形質転換 (Transform) した細胞株により検証できず、確実なバイオマーカーの抽出を優先したことから、当初予定した *in vivo* の用法用量の最適化の検証に至らなかったことは残念です。

今後、基礎研究にたちかえり、Chb-M' による EGFR 野生型肺がん治療の有効性を支持するメカニズムの解明を進め、その結果をベースに創薬研究を進める事を期待します。