

# 日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研究事業 事後報告書

## I 基本情報

研究開発課題名： 薬剤により誘導される過渡的構造を基盤としたキナーゼ阻害薬活用研究

Drug repositioning study based on information on de novo conformer induced by drug-kinase interaction

研究開発実施期間： 2017年5月1日～2020年3月31日

研究開発代表者 氏名：河野 隆志

Takashi Kohno

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

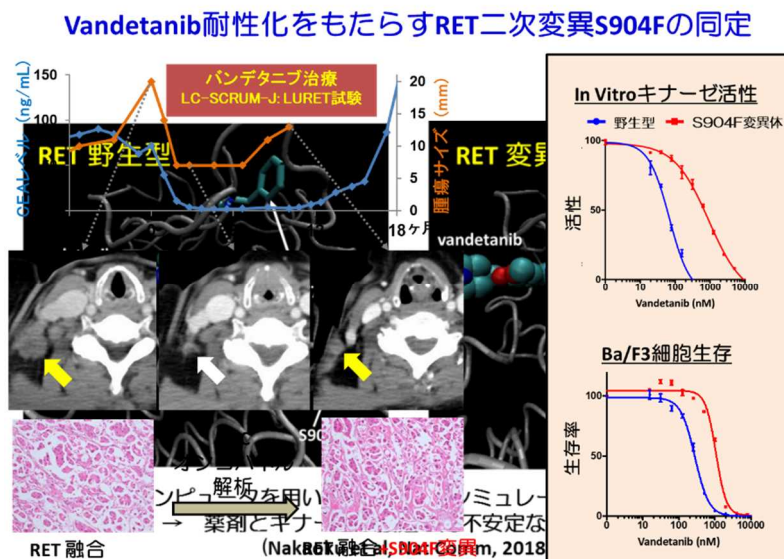
国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所 ゲノム生物学研究分野 分野長

National Cancer Center Research Institute, Division of Genome Biology, Chief

## II 研究開発の概要

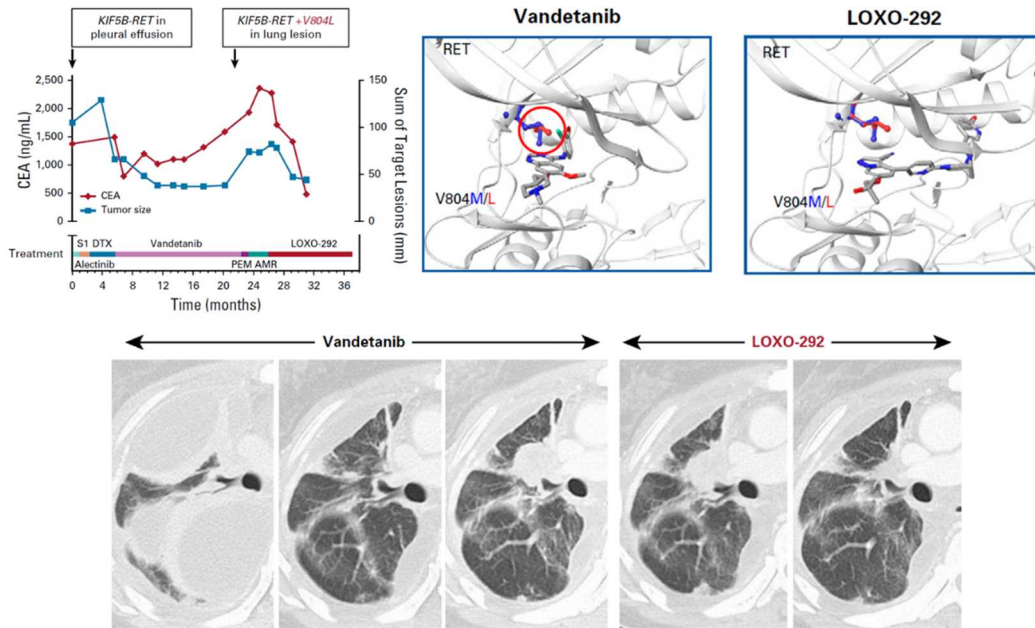
RET タンパク質、EGFR タンパク質を対象に、キナーゼ阻害薬との組み合わせをモデルとして、分子動態シミュレーション解析等を行うことで、キナーゼタンパク質と薬剤の相互作用による過渡的構造形成等の情報を利用したキナーゼタンパク質に対する有効薬剤の新たな in silico 選別法プロトタイプの確立を行った。

RET キナーゼ阻害剤バンデタニブ治療に耐性化した肺がんより同定された RET 遺伝子 S904F 二次変異体は、変異体—バンデタニブの相互特異的に出現する過渡的構造により耐性を獲得していることを見出した (Nakaoku T et al, *Nat Commun*, 2018) (代表者および分担者中奥)。その動態は、分子動力学シミュレーションにおける結合自由エネルギーで数値化可能であった。



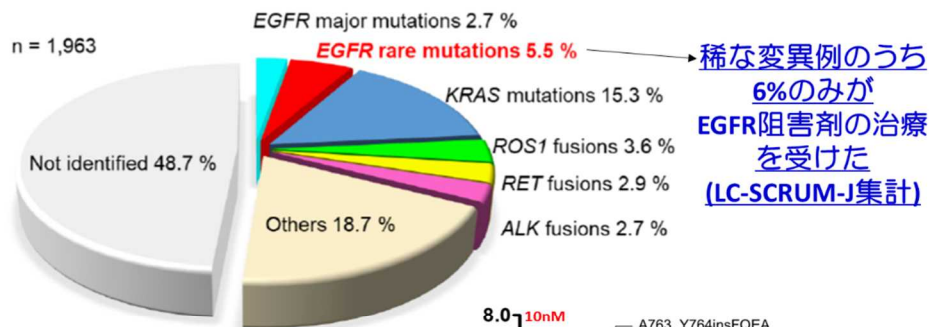
また、バンデタニブ治療で耐性化した別の肺がん試料から、新たな RET 遺伝子 2 次変異 (V804L ゲートキーパー変異) を同定した (Wirth LJ, Kohno T (co-first author) et al, *JCO Prec Oncol*, 2019)。上記 V804L 変異についても、分子動力学シミュレーションにて結合自由エネルギーの上昇が示され、患者の治療応答性や in vitro 解析結果 (分担研究者が取得) と見合う結果となった。なお、バンデタニブ治療で耐性化した肺がん患者は、RET 遺伝子 2 次変異 (V804L ゲートキーパー変異) が出現したものの、治療薬 LOXO-292 (セルパカチニブ) には感受性であることが予測され、実際、当該耐性患者で治療効果が観察された。

## Serparcatinib (LOXO-292)はRETゲートキーパー変異を克服する



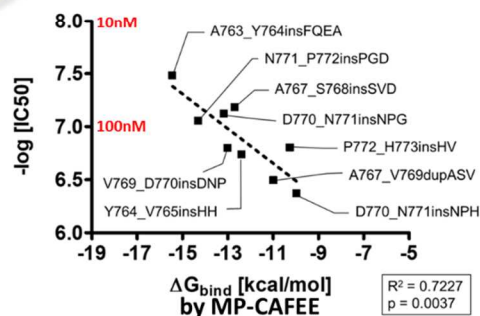
(Wirth, Kohno et al, *JCO Prec Oncol*, 2019)

RET 類縁タンパク質 EGFR のエクソン 20 変異においても、EGFR 阻害薬オシメルチニブと結合自由エネルギーで感受性の推定が可能であることを示した (Ikemura et al, *PNAS*, 2019)。よって、複数のキナーゼタンパク質について分子動力学シミュレーションによる感受性薬剤予測手法の汎用性が示されたことから、これを選別法プロトタイプとした。



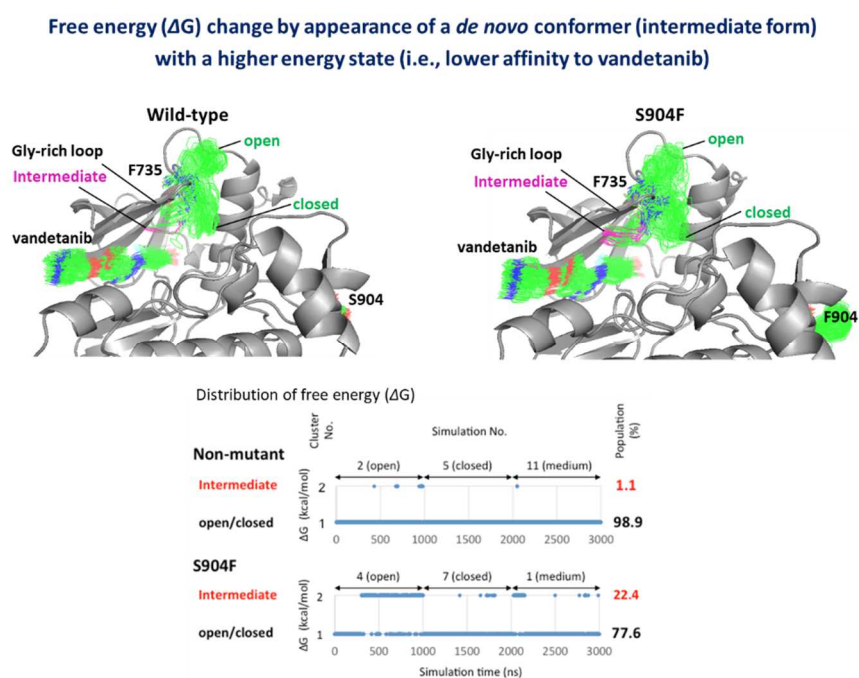
オシメルチニブの感受性は各Exon20変異体との結合自由エネルギーで説明が可能である

(Ikemura et al, *PNAS*, 2019)



本研究により、臨床現場で実際に検出される遺伝子変異に対して「分子動力学シミュレーションで得られる結合自由エネルギーを用いることで、感受性・耐性薬剤の予測が可能であることが示された。その一方、分子動力学シミュレーション解析は、初期構造・速度の設定など、影響を与える因子も多く存在し、臨床現場で予測を行うには、その精度や汎用性は十分ではない。本研究の成果である選別法プロトタイプブラッシュアップを行うことで、「医療レベル」での予測ツールの開発に展開していきたい。

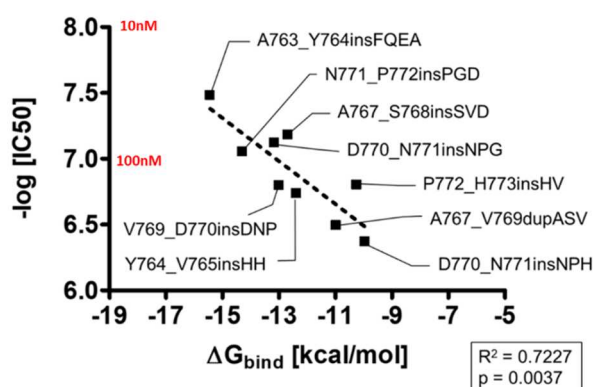
Repositioning of existing inhibitors is strongly needed for facilitation of precision medicine of diseases caused by protein kinase aberrations. Oncogenic fusions of the RET kinase gene, which was discovered by us in 1–2% of LADCs (Kohno et al, Nat Med, 2012), have been suggested as a therapeutic target for existing tyrosine kinase inhibitors (TKIs), such as vandetanib. By analyzing tumor samples of patients enrolled in phase II investigator-initiated clinical trial of vandetanib (Yoh et al, Lancet Resp Med, 2016), two novel drug-resistant mutation was found in RET kinase. This study analyzed wild-type and mutant RET kinase as well as existing RET TKIs as a model and established a prototype *in silico* procedure to predict efficacy of TKIs. This study included long-time MD simulation, using ‘K’ supercomputer, coupled with thermal shift assay, *in vitro* kinase assay and *in vivo* drug resistance test using Ba/F3 cell (Nakaoku T et al, **Nat Commun**, 2018; Wirth LJ et al, **JCO Prec Oncol**, 2019).



This *in silico* procedure was found applicable to another kinase, EGFR, and its TKI, osimertinib. our pan-nation screening of NSCLC without hotspot EGFR mutations ( $n = 3,779$ ) revealed that the majority ( $> 90\%$ ) of cases with rare EGFR mutations, accounting for 5.5% of the cohort subjects, did not receive EGFR-tyrosine kinase inhibitors (TKIs) as a first-line treatment. To tackle this problem, we applied a molecular dynamics simulation-based model to predict the sensitivity of rare EGFR mutants to osimertinib. The model successfully deduced the diverse *in vitro*

### ***In Silico* Prediction of Sensitivity of EGFR Rare Mutants to Kinase Inhibitors**

#### ***EGFR ex20 mut vs Osimertinib***



and *in vivo* sensitivities of exon 20 insertion mutants (Ikemura et al, **PNAS**, 2019). The established procedure will facilitate active repositioning of numerous TKIs existing in academic institutions and pharmaceutical companies, leading to great improvement of precision medicine using TKIs.