

令和5年度 創薬基盤推進研究事業 研究開発課題
中間報告書

研究開発課題名	PI3K 阻害剤のプロドラッグ化による新規肉腫治療薬開発に関する研究	
代表機関名	公益財団法人がん研究会	
研究開発代表者	所属 役職	がん化学療法センター分子薬理部 部長
	氏名	旦 慎吾
全研究開発期間	令和3年10月20日 ～ 令和8年3月31日 (予定)	

研究開発成果概要：

本研究では、「肉腫を適応とする新たな分子標的薬を開発し、肉腫治療のアンメットニーズを充足する」ことを“ミッション”に掲げ、独自に開発した PI3K 阻害剤 ZSTK474 (開発コード: OP-11、以下 OP-11 と表記) の臨床試験から得た知見をもとに進めるリバーストランスレーショナルリサーチ (rTR) を展開する。

1) 肉腫に対する PI3K 阻害剤の効果に関する基盤的基礎研究

先行開発品である OP-11 の臨床試験から得た第1の知見として、肉腫患者への有効性が期待された。我々はこれまでに、種々の組織型由来の肉腫細胞株を収集し OP-11 の効果を検討した結果、滑膜肉腫やユーイング肉腫といった染色体転座陽性肉腫 (TRS) に特異的にアポトーシス誘導を伴う強い抗がん効果を示すことを明らかにしていた。本研究では、PI3K 阻害剤がこれらの組織型の TRS に著効を示す分子基盤を明らかにするために、以下の研究を進めた。

上記 TRS の増殖・生存を司る PI3K アイソフォームを明らかにするために、肉腫で発現が認められた Class IA PI3K アイソフォーム ($\alpha \cdot \beta \cdot \delta$) について、特異的な阻害剤や siRNA、CRISPR/Cas9 を用いたノックアウト細胞を利用して調べたところ、PI3K α 阻害時のみ弱い抗がん効果が認められ、PI3K $\beta \cdot \delta$ の阻害ではほとんど効果が認められなかった。しかし、 α に加え、 $\beta \cdot \delta$ を同時に阻害した際に、強いアポトーシス誘導を伴う顕著な抗がん効果が観察されることが分かった。このような現象は、 α アイソフォームをコードする PIK3CA 遺伝子の機能獲得型変異を有するものを含めた癌腫由来の細胞では認められず、上記 TRS 特異的であった。このことは、OP-11 のようなすべての Class IA PI3K アイソフォームを阻害する汎 PI3K 阻害剤の TRS 治療へ有用性を示唆している。

本研究ではさらに、他の組織型の TRS 細胞株や独自に樹立した患者由来細胞 (PDC) を用いて調査対象を拡張したところ、明細胞肉腫や粘液型脂肪肉腫においてもアポトーシス誘導を伴う強い抗がん効果を発揮することを見出した。特に、粘液型脂肪肉腫については、独自に樹立した患者由来ゼノグラフト (PDX) を用いた治療実験でも抗がん効果を確認した。一方、TRS でも胞巣状軟部肉腫由来細胞株のようにアポトーシスを誘導しない組織型も認められた。そこで、ヒト肉腫で認められる染色体転座によってコードされる融合遺伝子をマウス細胞に導入することにより独自に樹立したマウス肉腫モデル細胞を用いて、汎 PI3K 阻害剤の効果を検討したところ、ヒト由来細胞株と同じく、ユーイング肉腫や滑膜肉腫はアポトーシスを起こし、胞巣状軟部肉腫ではアポトーシスを起こさないことが確認された。このことから、PI3K 阻害剤によるアポトーシス誘導における、ユーイング肉腫 (EWSR1::FLI1) や滑膜肉腫 (SS18::SSX) が有する融合遺伝子の機能的な関与が予測された。現在、上記融合遺伝子の関与を含めた PI3K 阻害剤の抗がん分子メカニズムの全容解明を目指し、研究を進めている。

なお、上記のマウス肉腫モデル細胞は、開発中の治療薬の薬効評価だけでなく、ヒトの肉腫の病態解明にも有用なモデルである。たとえば、胞巣状軟部肉腫における新たな血管形成機構として、ASPSの原因遺伝子 **ASPSCR1::TFE3** によるエンハンサーリモデリングを介して細胞内輸送経路促進因子である **Rab27a** と **Syt12**、及び血管形成因子である **Pdgfb** と **Vwf** の発現亢進を介した血管周皮の重要性を本モデル細胞を用いて明らかにした。他にも、**HEY1::NCOA2** 融合遺伝子を持つ間葉性軟骨肉腫モデル細胞を独自に開発し、当該融合遺伝子による軟骨形成分化の調節機構を明らかにしている。

2) OP-11 の活性代謝物を活性本体とした新規プロドラッグの開発

OP-11 の臨床試験で得られた第 2 の知見として、OP-11 よりも活性が高い代謝物がヒト血中で検出され、本活性代謝物の血中濃度が高い被験者の薬効が高い傾向が認められた。これまでの検討の結果、本活性代謝物そのものでは経口吸収性が極めて低いことから、本研究では、本活性代謝物を活性本体とした新規プロドラッグを創出し、より効果的で経口投与が可能な **PI3K** 阻害剤を肉腫治療薬として開発することを目指して研究を進めている。

これまでにプロドラッグ候補化合物 133 種をデザインして合成し、ヌードマウスを用いた薬物動態試験によるスクリーニングを実施した。その結果、良好な経口吸収性を示し、適度な活性本体がリリースされるプロドラッグ候補を複数見出した。実際、それらの化合物はヌードマウス移植腫瘍に対して **PI3K** を阻害して抗腫瘍効果を示すことを確認した。並行して、プロドラッグの活性本体への代謝経路の種差を考慮して、マウスやヒトの *in vitro* 代謝アッセイ系を構築し、プロファイリングを進めている。現在、これらの試験結果から得られる構造活性相関から、経口吸収性や動物種差など活性本体の薬物動態に影響を及ぼす置換基についての知見を得て、化合物の最適化を進めている。

以上