

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「がん幹細胞を標的とした根治療法の開発」
(慢性骨髄性白血病(CML)幹細胞標的薬の開発研究)
2. 研究開発代表者： 国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科 教授 宮田 敏男
3. 研究開発の成果

東北大学では、再委託機関である東海大学と連携して、ニッチ因子としての外来性 PAI-1 による CML 幹細胞制御機構の解明、CML 幹細胞における内在性 PAI-1 発現の分子的機序の解明を行った。また、大阪府立と共同して、TM5614 のバックアップ化合物の PAI-1 阻害剤の構造最適化 (in vitro, in vivo 評価) を行った。具体的には、大阪府立大学との共同でデザインし、大阪府立大学で合成し供給された新規の 3 種 15 化合物をまず in vitro の PAI-1 阻害活性で評価した。その結果、3 種の化合物 (TM5758、TM5783、TM5B58) が TM5614 よりも高い活性を示した。次いで、合成工程の簡便化や改良により、TM5758 をリード化合物とする誘導体 7 種類が供給され、それらのうちの代表的な化合物について in vivo でラット経口吸収試験を行った結果、経口吸収性は認められたものの、選択基準を上回る化合物は見出されなかった。TM5783 をリード化合物とする誘導体 11 種類が供給され、PAI-1 阻害活性でリードを上回る化合物が見出された。さらにそれらの化合物では、選択基準を上回る良好な経口吸収が示された。一方、TM5B58 は目的物を合成するのに 7 工程必要であり、合成ルート開発は達成できなかった。以上の結果から TM5614 のバックアップ化合物として、TM5783 と TM5B58 が選択できた。しかし、TM5614 は薬効用量 (CML モデルマウス：10 mg/kg/day) に比較して、一般毒性試験 (ラットおよびサル) の 4 週間無毒性量：250 および 100 mg/kg/day) で高い安全性を示した。その他の安全性試験 (遺伝毒性、安全性薬理試験等) においても、臨床試験開始に必要なすべての非臨床試験で問題は見出されず、PMDA 薬事戦略相談により、TM5614 は臨床試験に移行できることが判明したので、バックアップ化合物の安全性試験は実施しなかった。

東海大学では、ニッチ因子としての外来性 PAI-1 による CML 幹細胞制御機構を検討した結果、外来性 PAI-1 による制御因子誘導効果が CML 治療において有効に働く可能性は低いことが予想された。一方、CML 幹細胞における内在性 PAI-1 発現の分子的機序の解明を検討した結果、CML 細胞に TGFb 刺激を付加すると、Smad のリン酸化が亢進し、内在性 PAI-1 の発現が誘導されることを見出した。この PAI-1 の発現誘導は、TGFb 阻害剤の添加によって抑制されるので、TGFb 依存的な機序によるものであることが明らかとなった。発現誘導された内在性 PAI-1 の TKI 感受性に及ぼす影響を調べるために、PAI-1 過剰発現 CML 細胞と PAI-1 欠損 CML 細胞を作製した。それぞれをマウスに生着させ、TKI 治療実験を行ったところ、PAI-1 過剰発現 CML 細胞は親株に比べて治療抵抗性が非常に高いが、PAI-1 欠損 CML 細胞は逆に治療感受性が顕著に高くなっていた。これらの結果から、TGFb による内在性 PAI-1 の発現により、CML 細胞の TKI 耐性が獲得されることが明らかとなった。さらに、TKI 投与時に PAI-1 阻害剤を併用すると、PAI-1 高発現型 CML に対しても治療効果を発揮することから、PAI-1 阻害剤が内在性 PAI-1 にも作用することが確認された。