

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名 : (日本語) ポリコームヒストン修飾を標的とした新規エピジェネティック治療法の開発
(英語) Development of a new therapeutic approach targeting polycomb histone modifications
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法千葉大学大学院医学研究院 教授 岩間 厚志
所属 役職 氏名 : (英語) Graduate School of Medicine, Chiba University, professor, Atsushi Iwama
- 実施期間 : 平成 28 年 9 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
- 研究開発代表者
分担研究 (日本語) EZH1/2 を標的とした新規エピジェネティック治療法の開発
開発課題名 : (英語) Development of a new therapeutic approach targeting EZH1/2
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法千葉大学大学院医学研究院 教授 岩間 厚志
所属 役職 氏名 : (英語) Graduate School of Medicine, Chiba University, professor, Atsushi Iwama
- 研究開発分担者
分担研究 (日本語) EZH1/2 を標的とした造血腫瘍治療法の開発
開発課題名 : (英語) Development of a new therapeutic approach targeting EZH1/2 in hematological malignancies
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法千葉大学附属病院輸血部 助教 三村 尚也
所属 役職 氏名 : (英語) Chiba University Hospital, Assistant professor, Naoya Mimura

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

本研究においては、ポリコム遺伝子 *EZH2* 高発現腫瘍（多発性骨髄腫、悪性リンパ腫、前立腺がん）を対象に、*EZH1/2* 阻害剤単独療法ならびにプロテアソーム阻害剤との新規併用療法を確立し、*EZH1/2* 阻害剤さらには *EZH1* 特異的阻害剤の臨床応用に向けた基盤を確立する。また、*EZH2* 機能低下型腫瘍における *EZH1* の分子標的としての意義を明らかにし、*EZH1* 特異的阻害剤の開発の可能性を探索する

(1) *EZH2* 高発現造血腫瘍に対する *EZH1/2* 阻害剤と既存有効薬剤との併用療法の検証

多発性骨髄腫細胞に加え、プロテアソーム阻害剤反応性のマントル細胞リンパ腫細胞株を用いて、*EZH2* 特異的阻害剤 (GSK126) あるいは *EZH1/2* 阻害剤 (UNC1999) とプロテアソーム阻害剤との併用効果を培養系で検証した。興味深いことに、単剤で明らかに *EZH1/2* 阻害剤により反応する細胞腫が確認され、その一部の細胞は *EZH1/2* 阻害剤とプロテアソーム阻害剤の組み合わせでのみ併用効果が認められた。

(2) *EZH2* 高発現固形腫瘍に対する *EZH1/2* 阻害剤と既存有効薬剤との併用療法の検証

EZH2 を高発現する前立腺がんについて、*EZH2* 特異的阻害剤 (GSK126) あるいは *EZH1/2* 阻害剤 (UNC1999) と、ボルテゾミブなどのプロテアソーム阻害剤との併用効果を培養系で検証した。その結果、*EZH1/2* 阻害剤とプロテアソーム阻害剤の組み合わせで強い併用効果が認められ、その効果は多発性骨髄腫やマントル細胞リンパ腫細胞をよりも明らかであった。

(3) *EZH1/2* 阻害剤と既存有効薬剤との併用療法の作用機序の解析

多発性骨髄腫細胞で *EZH1* をノックダウンすると、細胞増殖抑制効果が見られ、*EZH1* の重要な機能が示唆された。そこで、マントル細胞リンパ腫細胞、前立腺がん細胞で *EZH1* を CRISPR/Cas9 法でノックアウトした細胞株を作製した。*EZH1* ノックアウト細胞のプロテアソーム阻害剤反応性、ならびにプロテアソーム阻害剤と *EZH2* 阻害剤あるいは *EZH1/2* 阻害剤の併用効果の検証を施行中である。また、併用療法の機序に関しては、プロテアソーム阻害剤による RB の活性化と E2F の機能抑制が *EZH2* の転写の抑制を引き起こし、腫瘍細胞の *EZH1* 依存性を高めること、*EZH1/2* dual 阻害剤はこの *EZH1* 機能を同時に抑制することにより、腫瘍細胞のポリコム活性を効率よく抑制する結果、プロテアソーム阻害剤と *EZH1/2* dual 阻害剤の強い相乗効果をもたらすことが明らかになりつつある。

(4) *EZH2* 機能低下型腫瘍における分子標的としての *EZH1* の検証

EZH2 の機能喪失型変異や *EZH2* 欠失を伴う骨髄異形成症候群 (MDS) や骨髄増殖性腫瘍 (MPN)、初期 T 細胞前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病 (ETP-ALL) などの造血腫瘍における、*EZH1* の分子標的としての有効性を検証するため、MDS や ETP-ALL などの細胞株でも *EZH1* の機能を解析中である。

英文

This project aims to validate the efficacy of novel combination therapy using a EZH1/EZH2 dual inhibitor and proteasome inhibitors in EZH2-overexpressing tumors, including multiple myeloma, malignant lymphoma and prostate cancer. We also uncover the important role of EZH1 in tumorigenesis in tumors with EZH2 insufficiency, such as myelodysplastic syndrome (MDS), myeloproliferative neoplasms (MPNs) and early T cell precursor (ETP)-acute lymphoblastic leukemia (ALL)(ETP-ALL) and seek for the potential for therapeutic targeting EZH1 in these tumors.

(1) Validation of the efficacy of the EZH1/EZH2 dual inhibitor in combination with approved drugs in EZH2-overexpressing hematological tumors

We confirmed that most of the multiple myeloma cell lines are sensitive to the treatment with the EZH1/2 dual inhibitor (UNC1999) in combination with proteasome inhibitors (bortezomib etc). We also found that mantle cell lymphoma cells, which are sensitive to proteasome inhibition, are more sensitive to EZH1/2 dual inhibition than EZH2-specific inhibition. Furthermore, some of the mantle cell lymphoma cells showed enhanced response to the combination of UNC1999 and bortezomib.

(2) Validation of the efficacy of the EZH1/EZH2 dual inhibitor in combination with approved drugs in EZH2-overexpressing solid tumors

Prostate cancer cells overexpress EZH2 show EZH2-dependency in their proliferation. We tested the effect of EZH2-specific inhibitor (GSK126), EZH1/2 dual inhibitor (UNC1999) and combination of these inhibitors with bortezomib. The EZH1/2 dual inhibitor appeared to be more effective than the EZH2-specific inhibitor in single use as well as in combination with bortezomib. Furthermore, the effect of EZH1/2 dual inhibitor was obvious in prostate cancer cells compared with multiple myeloma and mantle cell lymphoma cells.

(3) Analysis of the molecular mechanism underlying the efficacy of combination therapy

EZH1 knockdown attenuated the growth of multiple myeloma cells, indicating the role of EZH1 in these tumor cells. These findings support the therapeutic rationale for targeting EZH1 in addition to EZH2. We are now generating mantle cell lymphoma cells and prostate cancer cells in which EZH1 was knocked down or one allele of EZH1 was deleted by the CRISPR/Cas9 technology. Using these cells, we will validate the role of EZH1 in detail.

Furthermore, we showed that bortezomib markedly downregulated EZH2 transcription and its protein expression. As a mechanism, Bortezomib stabilizes CDK inhibitors p21 and p27 leading to hypophosphorylation of RB, which in turn prevents E2F1 from binding to its target gene promoters including the *E2F1* promoter and *EZH2* promoter, thereby repressing the transcription of *EZH2*. Thus, the treatment of multiple myeloma cells with proteasome inhibitors sensitizes tumor cells to EZH1 inhibition because downregulation of EZH2 induces EZH1-dependency of the tumor cells.

(4) Validation of EZH1 as a therapeutic target in EZH2-insufficient tumors

In MDS, MPN and ETP-ALL, EZH2 is often inactivated by deletions and loss-of-function mutations. We are now validating the role of EZH1 in these EZH2-insufficient tumors by knocking down EZH1 and using UNC1999, a EZH1/2 dual inhibitor.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 1 件）

1. Rizq O, Mimura N, Oshima M, Saraya A, Koide S, Kato Y, Aoyama K, Nakajima-Takagi Y, Wang C, Chiba T, Ma A, Jin J, Iseki T, Nakaseko C, Iwama A. Dual inhibition of EZH2 and EZH1 sensitizes PRC2-dependent cancers to proteasome inhibition. **Clin Cancer Res**, 2017 May 10. pii: clincanres.2735.2016. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2735. [Epub ahead of print]

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Rizq O, Mimura N, Oshima M, Saraya A, Koide S, Kato Y, Aoyama K, Iseki T, Nakaseko C, Iwama A. “Combined inhibition of PRC2 and proteasome as a potential therapy for multiple myeloma” 第78回日本血液学会学術集会、2016年10月13日-15日（パシフィコ横浜、横浜市）(Oral)
2. Rizq O, Mimura N, Oshima M, Saraya A, Koide S, Kato Y, Aoyama K, Nakajima-Takagi Y, Wang C, Ma A, Jin J, Iseki T, Nakaseko C, Iwama A. Molecular Mechanism behind the Synergistic Activity of Proteasome Inhibition and PRC2 Inhibition in the Treatment of Multiple Myeloma. The 58th Annual Meeting of the American Society of Hematology, December 3-6, 2016 (San Diego, USA)(Oral)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし

(4) 特許出願
なし