

平 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) 革新的がん医療実用化研究事業
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control
- 研究開発課題名： (日本語) がん免疫療法との併用による分子標的薬の治療抵抗性の克服
(英語) The strategy against resistance of molecular-targeting agents by the combination with cancer immunotherapy
- 研究開発担当者 (日本語) 京都府公立大学法人 京都府立医科大学大学院医学研究科 分子標的癌予防医学 教授 酒井 敏行
- 所属 役職 氏名： (英語) Kyoto Prefectural Public University corporation, Kyoto Prefectural University of Medicine, Department of Molecular-Targeting Cancer Prevention, Professor and Head, Toshiyuki Sakai
- 実施期間： 平成 27 年 9 月 1 日 ～ 平成 30 年 3 月 31 日
- 研究開発分担者 (日本語) 京都府公立大学法人 京都府立医科大学大学院医学研究科 分子標的癌予防医学 准教授 曾和 義広
- 所属 役職 氏名： (英語) Kyoto Prefectural Public University corporation, Kyoto Prefectural University of Medicine, Department of Molecular-Targeting Cancer Prevention, Associate Professor, Yoshihiro Sowa
- 研究開発分担者 (日本語) 京都府公立大学法人 京都府立医科大学大学院医学研究科 分子標的癌予防医学 講師 友杉 (堀中) 真野
- 所属 役職 氏名： (英語) Kyoto Prefectural Public University corporation, Kyoto Prefectural University of Medicine, Department of Molecular-Targeting Cancer Prevention, Assistant Professor/Lecturer, Mano Horinaka-Tomosugi

研究開発分担者 (日本語) 京都府公立大学法人 京都府立医科大学大学院医学研究科 分子標的癌予防医学 特任研究員 安田 周祐

所属 役職 氏名: (英語) Kyoto Prefectural Public University corporation, Kyoto Prefectural University of Medicine, Department of Molecular-Targeting Cancer Prevention, Research Assistant, Shusuke Yasuda

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター東病院 副院長/先端医療科長 土井 俊彦

所属 役職 氏名: (英語) National Cancer Center Hospital East, Department of Experimental Therapeutics, Head, Toshihiko Doi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究の研究開発代表者である酒井敏行教授ら(京都府立医科大学 大学院医学研究科 分子標的癌予防医学)は、土井俊彦氏(国立がん研究センター東病院)とともに「日本発の分子標的薬」と「日本発の腫瘍免疫療法」との併用による画期的な癌治療法の提案に向けた検討を進めている。酒井は、これまでに国内製薬企業との産学連携の成果として、新規 RAF/MEK 阻害剤“X”と新規ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤“Y”を見いだしている。この分子標的薬の二剤は、いずれも固形がん患者を対象とした臨床試験段階にあり、有力な抗腫瘍薬剤候補として期待されている。一方で、近年、本国に限らず、国際的にも目覚ましいがん治療効果が報告されている腫瘍免疫療法分野から、抗 PD-1 抗体に着目した。

(1) 研究テーマ1 : RAF/MEK 阻害剤“X”と抗 PD-1 抗体の併用

近年、MEK 阻害剤と抗 PD-1 抗体との併用効果については複数の報告がなされており、両薬剤にとっても、併用することで治療成績の向上に繋がることが期待されている。本研究で用いている新規 RAF/MEK 阻害剤“X”は、MEK 阻害作用に加えて、RAS 下流の主要分子である CRAF を阻害する能力も併せ持つ。そのため、BRAF 変異腫瘍だけでなく、RAS 変異腫瘍にも効果が期待されているたいへんユニークな薬剤である。実際に、前臨床試験の結果からは、BRAF 変異腫瘍だけでなく、RAS 変異腫瘍にも有効性を示すことが明らかとなっている。そのため、MEK 阻害剤と同等の、もしくはそれ以上の抗 PD-1 抗体との併用効果が RAF/MEK 阻害剤“X”にも期待される。特に、本研究の成果は、未だに有効な治療戦略が見つからない『RAS 変異腫瘍』に対し、ブレイクスルーに成り得る可能性が強く期待されている。

(2) 研究テーマ2 : HDAC 阻害剤“Y”と抗 PD-1 抗体の併用

癌細胞では、ヒストンのアセチル化によって種々の癌抑制遺伝子の発現が抑制されていることが知られている。HDAC 阻害剤は、ヒストン脱アセチル化酵素の活性を阻害することにより、その発現抑制を解除し、癌細胞の増殖を制御することができる。

本研究では新規 HDAC 阻害剤“Y”に着目した。HDAC 阻害剤“Y”は、研究開発代表者の酒井らが HDAC 阻害活性を有することを見出した薬剤であり、癌細胞特異的に細胞内で活性型に

変換されるという特徴を有する。前臨床試験の結果から、ヒト癌細胞に対する増殖抑制効果・抗腫瘍効果は、従来の HDAC 阻害剤に比して非常に強いという特性を有していた。

既存の HDAC 阻害剤は、癌細胞培養試験、免疫不全マウスを用いた異種移植モデルといった前臨床試験においては強い抗腫瘍効果が認められてきた。しかしながら、現在までに、数々の HDAC 阻害剤が抗腫瘍薬剤として臨床応用に期待されたものの、臨床試験においては十分な薬効を示すことはできなかった。その理由の一つが、HDAC 阻害剤が有する強力な免疫抑制作用によるのではないかと考えられている。そして現在に至るまでに、様々な薬剤との併用が試みられたものの、顕著な抗腫瘍効果が認められたという組み合わせは未だ見出されていない。そこで本研究課題では、HDAC 阻害剤を抗腫瘍薬として臨床で活用するために、腫瘍免疫療法との併用に着目し、抗 PD-1 抗体との併用を試みることにした。研究テーマ 1 との大きな相違点は、各患者の腫瘍における遺伝子変異に依存せず有効性が発揮される可能性が期待できる点である。近年、遺伝子配列情報を医療や健康管理に役立てようという「ゲノム医療」が国の施策として推進されつつある中で、患者一人一人の遺伝子配列情報に応じた、最適な分子標的薬が選択される、「プレジジョンメディシン」という考え方が注目されている。すなわち、研究テーマ 1 では、新規 RAF/MEK 阻害剤 “X” と抗 PD-1 抗体との併用は、『RAS 変異腫瘍』を有する患者を対象とした治療戦略の可能性を検討するものである。一方で、遺伝子検査の結果、明らかな癌遺伝子の変異を有さない場合、治療薬の選択肢は少数となる。研究テーマ 2 は、こういった患者を対象とした画期的な分子標的併用療法の提案を目的としている。

現在までの成果として、上記の二種類の併用療法の効果を、複数の系統のマウス癌細胞同種移植モデルにおいて投与スケジュールや投与量といった諸条件の検討も含め、評価を進めている。有効性が見出されたモデルにおいては、さらに併用効果の機序解析に入っている段階である。

Several reports showed that immunotherapies and molecular-targeting agents have distinctly different mechanisms of action and have been shown to be efficacious in patients with advanced cancers. It is expected that the combinations may create synergistic effects with increased benefit for patients with cancer. It is critical to determine how molecular-targeting agents affect immune function in the tumor microenvironment.

Here we studied that the effects of two combinations, (i) the combination of a novel RAF/MEK inhibitor "X" and anti-PD-1 antibody and (ii) the combination of a novel HDAC inhibitor "Y" and an anti-PD-1 antibody, using mouse allograft preclinical cancer models.

(i) The combination of a novel RAF/MEK inhibitor "X" and an anti-PD-1 antibody

Tumors with mutant RAS are often dependent on ERK signaling for growth; however, MEK inhibitors have only marginal antitumor activity in these tumors. Recently, we have reported a selective dual RAF/MEK inhibitor "X" that has the unique property of inhibiting both of MEK and RAF kinases. Therefore, RAF/MEK inhibitor "X" under clinical trials inhibits ERK signaling more effectively than standard MEK inhibitors, and is expected to enhance therapeutic activity against RAS-mutated cancers as well as BRAF-mutated cancers.

In this study, the *in vivo* antitumor effect of the combination a RAF/MEK inhibitor "X" and an anti-PD-1 antibody was evaluated in the mouse allograft preclinical cancer models inoculated with mouse KRAS mutated cancer cells.

(ii) The combination of a novel histone deacetylase (HDAC) inhibitor "Y" and an anti-PD-1 antibody

HDAC inhibitors have been shown to have antitumor activity *in vitro* and *in vivo*, and the various action mechanisms have been reported. Many other HDAC inhibitors were used for clinical trials, either as mono-therapies or in combination with conventional chemotherapy. However, the efficacies were insufficient, and the novel combination strategy is required.

We previously reported that a selective HDAC inhibitor "Y" identified by our screening method had attractive pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. The HDAC inhibitor "Y" used in this study is a promising HDAC inhibitor due to its highest HDAC-inhibitory activity among all HDAC inhibitors tested.

On the other hand, the effect of HDAC inhibitor has been recently reported to enhance anti-tumor immune response. Therefore, our objective is to examine the combined effect of a novel HDAC inhibitor "Y" and an anti-PD-1 antibody in this study.

As the results to date, we evaluated anti-tumor effects of the above combination therapies and examined the dosing regimen, such as the periods and the doses, in mouse allograft preclinical cancer models. We also examined different conditions of these combinations and analyzed molecular mechanisms.

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 3 件)

1. Tanaka T, Higashi M, Kimura K, Wakao J, Fumino S, Iehara T, Hosoi H, Sakai T, Tajiri T. MEK inhibitors as a novel therapy for neuroblastoma: Their *in vitro* effects and predicting their efficacy. *Journal of Pediatric Surgery*. 2016, 51, 2074-9.
2. Toriyama S, Horinaka M, Yasuda S, Taniguchi T, Aono Y, Takamura T, Morioka Y, Miki T, Ukimura O, Sakai T. A histone deacetylase inhibitor, OBP-801, and celecoxib synergistically inhibit the cell growth with apoptosis via a DR5-dependent pathway in bladder cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2016, 15, 2066-75.
3. Akiyama M, Sowa Y, Taniguchi T, Watanabe M, Yogosawa S, Kitawaki J, Sakai T. Three-combined treatment, a novel HDAC inhibitor OBP-801/YM753, 5-fluorouracil and paclitaxel, induces G2-phase arrest through the p38 pathway in human ovarian cancer cells. *Oncology Research*. 2017, in press.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願