

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) 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) がん会合性マクロファージ制御フロント阻害薬の臨床開発研究
(英語) Preclinical studies with a FROUNT inhibitor that regulates tumor-associated macrophages
- 研究開発担当者 所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京大学大学院医学系研究科分子予防医学 教授 松島綱治
(英語) Department of Molecular Preventive Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Professor, Kouji Matsushima
- 実施期間： 平成28年4月1日～平成29年3月31日
- 分担研究 開発課題名： (日本語) がん会合性マクロファージ制御フロント阻害薬の臨床開発研究
(英語) Preclinical studies with a FROUNT inhibitor that regulates tumor-associated macrophages
- 研究開発担当者 所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京大学大学院医学系研究科分子予防医学 教授 松島綱治
(英語) Department of Molecular Preventive Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Professor, Kouji Matsushima
- 分担研究 開発課題名： (日本語) マウスモデルを用いた前臨床研究
(英語) Preclinical studies in mouse models
- 研究開発分担者 所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人東京大学大学院医学系研究科分子予防医学 助教 寺島裕也
(英語) Department of Molecular Preventive Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Assistant Professor, Yuya Terashima

分担研究 (日本語) 構造学的解析手法を用いた前臨床研究
開発課題名: (英語) Structure-based preclinical research

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人熊本大学 大学院生命科学研究部 教授 寺沢宏明
所属 役職 氏名: (英語) National University Corporation Kumamoto University, Faculty of Life Sciences, Professor, Hiroaki Terasawa

分担研究 (日本語) がん会合性マクロファージ制御フロント阻害薬の治験実施に向けた臨床開発研究
開発課題名: (英語) Preclinical studies for clinical trials of a FROUNT inhibitor that regulates tumor-associated macrophages

研究開発分担者 (日本語) 千葉県がんセンター・呼吸器内科・主任医長・板倉明司
所属 役職 氏名: (英語) Department of Respiratory Medicine, Chiba Cancer Center, Senior Head Physician, Meiji Itakura

II. 成果の概要（総括研究報告）

近年の抗体医薬開発はがん治療戦略を変革したが、未だがんの完治には壁があり、がんの増悪化に働くマクロファージ浸潤の制御は残された戦略として期待されている。松島綱治教授（東京大学大学院医学系研究科・研究代表者）および寺島裕也助教（東京大学大学院医学系研究科・研究分担者）らが見出した細胞内分子フロントは、ケモカイン受容体に会合し、マクロファージ浸潤を制御する分子である。本研究では独自のがん増悪化分子フロントを標的としたマクロファージ制御という新しい創薬コンセプトのもとで、寺沢宏明教授（熊本大学大学院生命科学研究部・研究分担者）との共同研究で見出したフロント阻害剤である既存汎用薬剤について、板倉明司主任医長（千葉県がんセンター・研究分担者）と連携してがんを対象とした医師主導治験実施のための非臨床研究を実施する。

既存の汎用薬剤である本治験薬（フロント阻害薬剤）について製造販売元企業より治験薬提供の確約を得た。本研究で目指すがん患者への治験薬の投与を想定し、治験薬およびその代謝物について薬効薬理試験および安全性薬理試験を行った。また、細胞内における安定性・動態・代謝産物の解析を行うための実験系の立ち上げを行った。医師主導治験に向けた基礎データを取得するとともに、国立がんセンターでの治験を目指した協議を行った。コンパニオン診断薬の開発およびバイオマーカーの探索を目的とした肺がん患者サンプルを用いた RNA-seq 解析により、フロント発現と相関する腫瘍悪性化マクロファージマーカーの探索を実施し、複数のマクロファージマーカー分子の発現がフロント発現と相関することを見出した。臨床検体におけるフロントタンパク発現の定量化を目指して新たなフロントモノクローナル抗体の作製を開始した。また、治験薬の安全かつ有効な投与条件についてさらなる検討を進めた。

以上のように、各機関が計画どおり順調に研究開発を推進している。今後も引き続きフロント分子標的治療抗がん剤として提供するための検討をさらに進める。

Although recent progress in antibody-based immune checkpoint blockade therapy has dramatically advanced anti-cancer therapies, a cure for cancer remains elusive. An outstanding challenge for full activation of anti-tumor immunity is the regulation of tumor-promoting macrophages. The cytoplasmic protein FROUNT, identified by Matsushima (The University of Tokyo, Professor, Representative) and Terashima (The University of Tokyo, Assistant Professor, Co-investigator) et al., binds to chemokine receptors and promotes macrophage infiltration. In this project, we aim to develop one FROUNT inhibitor that was identified from a known bioactive compound library by the Matsushima group in collaboration with Terasawa (Kumamoto University, Professor, Co-investigator) et al. as anti-cancer drug, in preparation for the investigator-initiated clinical trials in collaboration with Dr. Itakura (Chiba Cancer Center, Co-investigator) et al. We propose the development of a novel macrophage-regulating anti-cancer drug that targets FROUNT.

We have conducted an agreement with a pharmaceutical manufacturer and retailer that the company will provide the drug as an investigational drug. In preparation for administration of the drug to cancer patients, we performed pharmacodynamic and toxicity testing on the FROUNT inhibitor. We established an experimental system to analyze the cellular and biological stability, kinetics and metabolites of the drug. We have also obtained basic research data to support our clinical trials. We are also preparing the framework for operating clinical trials with the National Cancer Center.

We explored candidate markers that are associated with FROUNT expression levels based on RNA-seq data from lung cancer specimens. Several markers expressed in tumor-associated macrophages have turned out to be positively correlated with FROUNT expression levels. We also prepared a monoclonal antibody against FROUNT to evaluate FROUNT expression in clinical samples. To optimize the safe and efficient administration of the drug, we tested another form and administration protocol of the drug.

In conclusion, our research and development are progressing well and on schedule. We will continue to advance the developmental phase of each target molecule through efficient collaboration with each organization.

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 1 件、国際誌 14 件)

1. Ueha R, Ueha S, Kondo K, Sakamoto T, Kikuta S, Kanaya K, Nishijima H, Matsushima K, Yamasoba T. Damage to Olfactory Progenitor Cells Is Involved in Cigarette Smoke-Induced Olfactory Dysfunction in Mice. *Am J Pathol.* 2016, 186(3):579-86.
2. Moro T, Nakao S, Sumiyoshi H, Ishii T, Miyazawa M, Ishii N, Sato T, Iida Y, Okada Y, Tanaka M, Hayashi H, Ueha S, Matsushima K, Inagaki Y. A Combination of Mitochondrial Oxidative Stress and Excess Fat/Calorie Intake Accelerates Steatohepatitis by Enhancing Hepatic CC Chemokine Production in Mice. *PLoS One.* 2016, 11(1):e0146592.
3. Park AM, Kanai K, Itoh T, Sato T, Tsukui T, Inagaki Y, Selman M, Matsushima K, Yoshie O. Heat Shock Protein 27 Plays a Pivotal Role in Myofibroblast Differentiation and in the Development of Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis. *PLoS One.* 2016, 11(2):e0148998.
4. Matsuo Y, Mizoguchi F, Saito T, Kawahata K, Ueha S, Matsushima K, Inagaki Y, Miyasaka N, Kohsaka H. Local fibroblast proliferation but not influx is responsible for synovial hyperplasia in a murine model of rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016, 470(3):504-9.
5. Tan X, Fujiu K, Manabe I, Nishida J, Yamagishi R, Terashima Y, Matsushima K, Kaburaki T, Nagai R, Yanagi Y. Choroidal Neovascularization Is Inhibited in Splenic-Denervated or Splenectomized Mice with a Concomitant Decrease in Intraocular Macrophage. *PLoS One.* 2016, 11(8):e0160985.
6. Ueha R, Ueha S, Sakamoto T, Kanaya K, Suzukawa K, Nishijima H, Kikuta S, Kondo K, Matsushima K, Yamasoba T. Cigarette Smoke Delays Regeneration of the Olfactory Epithelium in Mice. *Neurotox Res.* 2016, 30(2):213-24.
7. Ueha R, Ueha S, Kondo K, Nito T, Fujimaki Y, Nishijima H, Tsunoda K, Shand FH, Matsushima K, Yamasoba T. Laryngeal mucus hypersecretion is exacerbated after smoking cessation and ameliorated by glucocorticoid administration. *Toxicol Lett.* 2017, 265:140-146.
8. Fujino M, Sato H, Okamura T, Uda A, Takeda S, Ahmed N, Shichino S, Shiino T, Saito Y, Watanabe S, Sugimoto C, Kuroda M, Ato M, Nagai Y, Izumo S, Matsushima K, Miyazawa M, Ansari AA, Villinger F, Mori K. Simian Immunodeficiency Virus Targeting of CXCR3⁺ CD4⁺ T Cells in Secondary Lymphoid Organs Is Associated with Robust CXCL10 Expression in Monocyte/Macrophage Subsets. *J Virol.* 2017, in press.
9. Sonoda, A., Yoshinaga, S., Yunoki, K., Ezaki, S., Yano, K., Takeda, M., Toda, E., Terashima, Y., Matsushima, K., and Terasawa, H. Identification and preparation of a novel chemokine receptor-binding domain in the cytoplasmic regulator FROUNT. 2017, *Mol. Biotech.* **59**, 141–150
10. Toyoda, H., Yoshinaga, S., Yuzuriha, N., Kusanagi, S., and Terasawa, H. An iterative reconstruction method for dual-band EPI in small-animal studies. 2016, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* **24**, 3242
11. Toyoda, H., Yoshinaga, S., Yuzuriha, N., and Terasawa, H. Image-based phase correction for dual-band EPI with slice-GRAPPA using point-by-point procedures in k-space. 2016, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* **24**, 4315

12. Yuzuriha, N., Yoshinaga, S., Sato, H., Honda, S., Tamaki, K., Sekizawa, T., Fujikawa, A., and Terasawa, H. Development of an evaluation system for analgesic drugs targeted to allodynia-specific pain using BOLD fMRI. 2016, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* **24**, 1722
13. Nakata, E., Kusanagi, S., Kimura, K., Araki, R., Takeda, M., Yoshinaga, S., and Terasawa, H. Development of an awake mouse MRI method using soft immobilization for a cryogenic probe system. 2016, *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* **24**, 1757
14. Miyasaka Y, Shitara H, Suzuki S, Yoshimoto S, Seki Y, Ohshiba Y, Okumura K, Taya C, Tokano H, Kitamura K, Takada T, Hibino H, Shiroishi T, Kominami R, Yonekawa H, Kikkawa Y. Heterozygous mutation of Ush1g/Sans in mice causes early-onset progressive hearing loss, which is recovered by reconstituting the strain-specific mutation in Cdh23. *Hum Mol Genet.* 2016, **25**(10):2045-2059.
15. 寺島裕也、遠田悦子「特集 複合がん免疫療法の時代来る・マクロファージ制御による新たながん治療薬の開発」ニューサイエンス社 細胞 2016年12月号 48(13) p8-p12

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 細胞動態の分子メカニズムに着目した疾患の診断/治療/予防法の研究開発、ケモカイン受容体会合分子の機能解析と阻害化合物の開発研究、口頭（招待講演）、遠田悦子、第 87 回日本衛生学会学術総会、2017/3/26-28, 国内.
2. ケモカイン受容体シグナル制御分子、フロント（FROUNT）の機能を阻害して腫瘍促進性マクロファージを制御する、口頭、寺島裕也、遠田悦子、大辻幹哉、松島綱治、第 16 回分子予防環境医学研究会、2017/2/3-4, 国内.
3. 生体における細胞遊走促進因子 FROUNT の発現量変化と白血球遊走活性の解析、ポスター、遠田悦子、寺島裕也、松島綱治、第 89 回日本生化学会大会、2016/9/25-27, 国内.
4. 疾患の発症/悪化の鍵となる免疫細胞の動くメカニズムを解明してコントロールする、口頭、寺島裕也、松島綱治、第 14 回日本予防医学会学術総会、2016/6/18-19, 国内.
5. A chemokine-signaling modulator FROUNT as a novel molecular target for cancer therapy, 口頭、Etsuko Toda, Yuya Terashima and Kouji Matsushima, 第 75 回日本癌学会学術総会、2016/10/6-8, 国内.
6. 腫瘍会合性マクロファージ・樹状細胞：担がん宿主内動態と治療への応用、口頭、上羽悟史、松島綱治、第 44 回日本臨床免疫学会総会、2016/9/8, 国内.
7. ケモカイン受容体—細胞内会合分子相互作用を標的とする立体構造に基づく創薬研究、口頭（招待講演）、吉永壮佐、第 87 回日本衛生学会学術集會、2017/3/26, 国内.
8. Structure-based analyses of the interaction between the chemokine receptor-regulator FROUNT and anti-inflammatory compounds., ポスター、Ezaki, S., Yoshinaga, S., Ishida, N., Takeda, M., Yunoki, K., Terashima, Y., Toda, E., Matsushima, K., and Terasawa, H., 日本生物物理学会第 54 回年会、2016/11/25-27, 国内.
9. ケモカイン受容体制御因子 FROUNT—新規制御化合物間の相互作用解析、ポスター、江崎宗一郎、吉永壮佐、石田規人、武田光広、柚木芳、寺島裕也、遠田悦子、松島綱治、寺沢宏明、第 55 回 NMR 討論会、2016/11/16-18, 国内.

10. Optimization of the awake mouse MRI method using mouse clothes for a cryogenic coil system., ポスター, Nakata, E., Kusanagi, S., Kimura, K., Araki, R., Takeda, M., Yoshinaga, S., and Terasawa, H., 第44回日本磁気共鳴医学会大会, 2016/9/10, 国内.
11. Analyses of the Interaction Between the Regulating Factor of the Chemokine Receptor FROUNT and Anti-inflammatory Compounds., ポスター, Ezaki, S., Yoshinaga, S., Ishida, N., Yunoki, K., Terashima, Y., Toda, E., Matsushima, K., and Terasawa, H., The XXVIIth ICMRBS (International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems), 2016/8/22-25, 国内.
12. An iterative reconstruction method for dual-band EPI in small-animal studies., ポスター, Toyoda, H., Yoshinaga, S., Yuzuriha, N., Kusanagi, S., and Terasawa, H., 24th ISMRM (International Society for Magnetic Resonance in Medicine) annual meeting, 2016/5/9-12, 国外.
13. Image-based phase correction for dual-band EPI with slice-GRAPPA using point-by-point procedures in k-space., ポスター, Toyoda, H., Yoshinaga, S., Yuzuriha, N., and Terasawa, H., 24th ISMRM (International Society for Magnetic Resonance in Medicine) annual meeting, 2016/5/9-12, 国外.
14. Development of an awake mouse MRI method using soft immobilization for a cryogenic probe system., ポスター, Nakata, E., Kusanagi, S., Kimura, K., Araki, R., Takeda, M., Yoshinaga, S., and Terasawa, H., 24th ISMRM (International Society for Magnetic Resonance in Medicine) annual meeting, 2016/5/9-12, 国外.
15. ニボルマブにより著効した非小細胞肺癌の一例, 口頭, 板倉明司, Immuno-Oncology Forum NSCLC, 2016/10/7, 国内.
16. コンジェニックマッピングおよび遺伝子発現解析による皮膚がん抵抗性遺伝子座 *Stmm1a* の原因遺伝子探索, ポスター, 奥村和弘, 齋藤慈, 吉澤康博, 磯貝恵理子, 三浦郁生, 若菜茂晴, 木南凌, 若林雄一, 第63回実験動物学会総会, 2016/05/19, 国内.
17. ChIP sequencing をもちいた皮膚腫瘍における *Meis1* の機能解析, ポスター, 吉澤康博, 奥村和弘, 齋藤慈, 青戸良賢, 磯貝恵理子, 榎原康文, 若林雄一, 第63回実験動物学会総会, 2016/05/19, 国内.
18. マウス4番染色体上に存在する腫瘍悪性を制御する原因遺伝子の探索, 口頭, 齋藤慈, 奥村和弘, 吉澤康博, 磯貝恵理子, 若林雄一, 第63回実験動物学会総会, 2016/05/19, 国内.
19. *Stmm1* の遺伝的解析と候補遺伝子の探索, ポスター, 奥村和弘, 吉澤康博, 齋藤慈, 宗形春花, 磯貝恵理子, 木南凌, 若林雄一, 第75回日本癌学会学術総会, 2016/10/6, 国内.
20. マウス4番染色体上に存在する腫瘍悪性を制御する原因遺伝子の探索, ポスター, 齋藤慈, 奥村和弘, 吉澤康博, 宗形春花, 磯貝恵理子, 若林雄一, 第75回日本癌学会学術総会, 2016/10/6, 国内.
21. ChIP sequencing により示唆された *Meis1* の皮膚腫瘍におけるグルコース代謝の制御, ポスター, 吉澤康博, 奥村和弘, 齋藤慈, 宗形春花, 青戸良賢, 磯貝恵理子, 榎原康文, 若林雄一, 第75回日本癌学会学術総会, 2016/10/6, 国内.
22. 副甲状腺ホルモンはマウス皮膚腫瘍形成に関与する, 口頭, 奥村和弘, 齋藤慈, 吉澤康博, 宗形春花, 磯貝恵理子, 三浦郁生, 若菜茂晴, 島貫碧, 設楽浩志, 多屋長治, 木南凌, 若林雄一, 第31回発癌病理研究会, 2016/08/25, 国内.
23. 多段階皮膚がん実験を用いたマウスがん抵抗性遺伝子座 *Stmm1a* の遺伝学的解析, ポスター, 奥村和弘, 吉澤康博, 齋藤慈, 宗形春花, 磯貝恵理子, 三浦郁生, 若菜茂晴, 木南凌, 若林雄一, 第39回分子生物学会, 2016/12/02, 国内.

24. 神経芽腫関連遺伝子 Lmo3 と Hen2 は、協調的に機能してマウスにおける水頭症の発症に関与している, ポスター, 磯貝恵理子, 奥村和弘, 齋藤 慈, 吉澤 康博, 宗形春花, 伊東恭子, 丹藤 創, 大平美紀, 原口精輝, 中川原 章, 伏木 信, 永瀬 浩喜, 若林 雄一, 第 39 回分子生物学会, 2016/11/30, 国内.
25. マウス扁平上皮がん由来細胞を用いた c-Met 阻害における Meis1 の機能解析, ポスター, 齋藤 慈, 奥村和弘, 吉澤康博, 宗形春花, 磯貝恵理子, 若林雄一, 第 39 回分子生物学会, 2016/11/30, 国内.
26. 皮膚悪性腫瘍において Meis1 が制御する下流因子の探索, ポスター, 吉澤康博, 奥村和弘, 齋藤 慈, 宗形春花, 青戸良賢, 磯貝恵理子, 榊原 康文, 若林 雄一, 第 39 回分子生物学会, 2016/12/02, 国内
27. 副甲状腺ホルモン PTH は細胞内カルシウムに影響し皮膚腫瘍形成を抑制する, ポスター, 奥村和弘, 齋藤 慈, 吉澤康博, 宗形春花, 磯貝恵理子, 三浦郁生, 若菜茂晴, 島貫 碧, 設楽浩志, 多屋長治, 木南 凌, 若林雄一, 平成 28 年度文部科学省新学術領域研究 学術研究支援基盤形成先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会, 2017/02/07, 国内.
28. 細胞動態の制御分子に着目したがん治療薬および診断技術の開発研究, 口頭 (招待講演), 奥村和弘, 第 87 回日本衛生学会学術総会, 若手プロジェクトシンポジウム, 2017/03/26, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし