

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) 医療分野研究成果展開事業

産学連携医療イノベーション創出プログラム

(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer

ACceleration Transformative research for Medical innovation

研究開発課題名：(日本語) ヒストンメチル化酵素 EZH1/2 の二重阻害による革新的がん根治療法の開発

(英語) Development of Novel Cancer Therapy Based on Dual Inhibition of EZH1/2

研究開発担当者 (日本語) 研究所 造血器腫瘍研究分野 分野長 北林一生

所属 役職 氏名：(英語) Issay Kitabayashi, Division of Hemetological Malignancy, Research Institute

実施期間：平成28年 4月 1日 ~ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語) EZH1/2 阻害剤を用いた AML・多発性骨髄腫に対する新たな治療法の開発

開発課題名：(英語) Development of Novel Therapy for AML and Multiple Myeloma Based on Dual Inhibition of EZH1/2

研究開発分担者 (日本語) 研究所 造血器腫瘍研究分野 分野長 北林一生

所属 役職 氏名：(英語) Issay Kitabayashi, Division of Hemetological Malignancy, Research Institute

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究では、ヒストンメチル化酵素 EZH1/2 の二重阻害による革新的がん根治療法の開発を進めている。急性骨髄性白血病(AML)については、AML 患者の骨髄細胞を NOG マウスの骨髄に移植し、AML 患者由来移植モデルを 5 株確立した。このうちの 3 株に EZH1/2 二重阻害剤を投与し、3 株ともに増殖を抑制することを明らかにした。3 種類の多発性骨髄腫細胞に EZH1/2 二重阻害剤を投与し、このうち 2 つは高感受性を示し、1 つは抵抗性を示した。これらの mRNA 発現プロファイルを調べ、Wnt 経路の活性化が感受性と相関していることが明らかになった。多発性骨髄腫細胞 2 種類と多発性骨髄腫患者の腫瘍 1 株の移植に成功し、多発性骨髄腫モデルを 3 種類確立した。上記の結果から、EZH1/2 二重阻害剤はヒト AML 細胞の増殖を抑制することが示された。これまでの結果を

基盤として、AML に対する第 1 相臨床試験を 2017 年 4 月から開始した。

成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (ATL) については、ATL 細胞及び正常 T 細胞における全遺伝子上の EZH1 及び EZH2 結合データを取得し、前年度までに決定した ATL 細胞のエピゲノム及びトランスクリプトームデータと統合することにより、ATL の異常メチル化の原因として EZH1/2 の異常な結合パターンを同定した(58th ASH, 2016)。さらに標的遺伝子の機能的な検討も行い、エピゲノム異常が ATL 細胞の性質に深く関わっていることを明らかにし、EZH1/2 阻害薬が有効である分子レベルの強い証拠を得た。

製造した原薬を用いて服用容易な製剤処方設計し、非臨床レベルでその製剤処方の人への適用性を評価したところ良好な結果を得たことから、治験薬供給体制を整備して、28 年度初頭から非ホジキンリンパ腫 (NHL) を対象とする第 1 相臨床試験を開始した。また、AML についても KOL との議論を重ねて試験デザイン固め、これを基に治験実施計画書を作成し FDA に提出した。その後、治験実施サイトとの契約を完了し、28 年度末までに被験者の治験登録を開始した。NHL と AML のそれぞれの臨床試験に対応する EDC system を構築し、安定に稼働することを確認している。上記二つの試験を運営する過程で適宜、当該 EDC system の適正評価を行うこととし、懸念点が見出された場合は速やかに改良を行う体制を整備した。

To establish Novel leukemia stem cell-targeted therapy for acute myeloid leukemia by dual inhibition of EZH1/EZH2, bone marrow cells from 20 AML patients were transplanted and 5 lines of AML PDX-models were established. Three lines of the PDX models were treated with the EZH1/2 inhibitor and all of them were sensitive to the inhibitor. Three lines of multiple myeloma cells were exposed to the EZH1/2 inhibitor. Two of them were sensitive to the inhibitor and the other one is resistant the inhibitor. We successfully transplanted 2 lines of cells and one line of multiple myeloma patient-derived tumor into mice. Based on the results we have initiated Phase 1 clinical trial for AML patients.

By using genome-wide chromatin immunoprecipitation technique, we determined EZH1 and EZH2 occupancies in tumor cells from adult T-cell leukemia-lymphoma (ATL) patients and normal CD4+ T cells from healthy donors. Furthermore, we integrated the comprehensive transcriptome and epigenome data and found EZH1/2-dependent epigenome abnormalities in ATL (58th ASH, 2016). We also performed functional analysis of the newly identified EZH1/2 target genes and demonstrated the critical roles in the pathogenesis of ATL. These results strongly suggest the feasibility and druggability of EZH1/2 molecules for treatment of ATL and also other malignant lymphomas.

Daiichi Sankyo designed and manufactured orally available formulation of Drug Product (DP) with Active Pharmaceutical Ingredient (API), and investigated its applicability for clinical use in preclinical stage. The result was sufficient enough to utilize the DP as Clinical Trial Material (CTM) in clinical development, so Daiichi Sankyo established the manufacture line in our plant and it led to initiate Ph1 study for Non-Hodgkin Lymphoma patient in Japan in 2016. In parallel with above clinical study, Daiichi Sankyo developed the clinical study design for Acute Myeloid Leukemia upon multiple KOL meetings before submitting IND to FDA. Our clinical study against AML has initiated patient enrolment since the end of March 2017. Daiichi Sankyo

developed Electronic Data Capture system (EDC system) for both of studies, and confirmed they are running in stable. Management, Assessment and Improvement plan for the system has been prepared.

### 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 件、国際誌 4 件）

1. Shima Y, Yumoto M, Katsumoto T, Kitabayashi I. MLL is essential for NUP98-HOXA9-induced leukemia. *Leukemia*. 2017, in press.
2. Asano Y, Kawase T, Okabe A, Tsutsumi S, Ichikawa H, Tatebe S, Kitabayashi I, Tashiro F, Namiki H, Kondo T, Semba K, Aburatani H, Taya Y, Nakagama H, Ohki R. IER5 generates a novel hypo-phosphorylated active form of HSF1 and contributes to tumorigenesis. *Sci Rep*. 2016 Jan 12;6:19174.
3. Tabu K, Muramatsu N, Mangani C, Wu M, Zhang R, Kimura T, Terashima K, Bizen N, Kimura R, Wang W, Murota Y, Kokubu Y, Nobuhisa I, Kagawa T, Kitabayashi I, Bradley M, Taga T. A Synthetic Polymer Scaffold Reveals the Self-Maintenance Strategies of Rat Glioma Stem Cells by Organization of the Advantageous Niche. *Stem Cells*. 2016 May;34(5):1151-62.
4. Takamatsu-Ichihara E, Kitabayashi I. The roles of Polycomb group proteins in hematopoietic stem cells and hematological malignancies. *Int J Hematol.*, 2016, 103:634-42.

#### (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Novel leukemia stem cell-targeted therapy for acute myeloid leukemia based on dual inhibition of EZH1/EZH2, 口頭, 北林一生, 分子生物学会, 2016/11/30, 国内
2. Novel leukemia stem cell-targeted therapy for acute myeloid leukemia based on dual inhibition of EZH1/EZH2, 口頭, 北林一生, 国際がん化学療法シンポジウム, 2016/11/15, 国内
3. Novel leukemia stem cell-targeted therapy for acute myeloid leukemia based on dual inhibition of EZH1/EZH2, 口頭, Shuhei Fujita, Daisuke Honma, Nobuaki Adachi, Kazushi Araki, Emi Takamatsu, Kazumasa Aoyama, Atsushi Iwama, Issay Kitabayashi, AACR, 2016/4/17, 国外

#### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 再発や副作用のないがん治療を目指して, 北林一生, 市民向け成果発表会, , 2017/3/04, 国内

#### (4) 特許出願

該当なし

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) 医療分野研究成果展開事業  
産学連携医療イノベーション創出プログラム  
(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer  
ACceleration Transformative research for Medical innovation

研究開発課題名：(日本語) ヒストンメチル化酵素 EZH1/2 の二重阻害による革新的がん根治療法の開発  
(英語) Development of Novel Cancer Therapy Based on Dual Inhibition of EZH1/2

研究開発担当者 (日本語) 第一三共株式会社 オンコロジー臨床開発部 第一グループ長 荒木 一司  
所属 役職 氏名：(英語) Daiichi Sankyo Co., Ltd. Oncology Clinical Development Department,  
Senior Director, Kazushi Araki, D.V.M., Ph.D.

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 治験薬の製造および臨床試験の計画・管理  
開発課題名：(英語) Production of Investigational New Drug and Management of Clinical Trial

研究開発分担者 (日本語) 第一三共株式会社 オンコロジー臨床開発部 第一グループ長 荒木 一司  
所属 役職 氏名：(英語) Daiichi Sankyo Co., Ltd. Oncology Clinical Development Department,  
Senior Director, Kazushi Araki, D.V.M., Ph.D.

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者 (課題リーダー) : 国立がん研究センター研究所 造血器腫瘍研究分野 分野長 北林 一生 総括研究報告を参照。

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 1 件)

1. Daisuke Honma, Osamu Kanno, Jun Watanabe, Junzo Kinoshita, Makoto Hirasawa, Emi Nosaka, Machiko Shiroishi, Takeshi Takizawa, Isao Yasumatsu, Takao Horiuchi, Akira Nakao, Keisuke Suzuki, Tomonori Yamasaki, Katsuyoshi Nakajima, Miho Hayakawa, Takanori Yamazaki, Ajay Singh Yadav and Nobuaki Adachi, Novel orally bioavailable EZH1/2 dual inhibitors with greater antitumor efficacy than an EZH2 selective inhibitor. Cancer Science. 2017, submitted.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. EZH1/2 dual inhibitor, A new epigenetic therapy of ATL, 口頭, Kazushi Araki, T-cell Lymphoma Forum 2017, 2017年1月24日, 海外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当項目なし

(4) 特許出願

該当特許出願なし

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) 医療分野研究成果展開事業 産学連携医療イノベーション創出プログラム  
(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer  
Acceleration Transformative research for Medical innovation

研究開発課題名：(日本語) ヒストンメチル化酵素 EZH1/2 の二重阻害による革新的がん根治療法の開発  
(英語) Development of Novel Cancer Therapy Based on Dual Inhibition of EZH1/2

研究開発担当者 (日本語) 東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授 内丸 薫

所属 役職 氏名：(英語) Laboratory of Tumor Cell Biology, Department of Computational Biology and Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Professor. Kaoru Uchimaru

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) EZH1/2 阻害剤を用いた ATL の新たな治療法の開発

開発課題名：(英語) Development of Novel Therapy for Adult T-cell Leukemia Based on Dual Inhibition of EZH1/2

研究開発分担者 (日本語) 東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授 内丸 薫

所属 役職 氏名：(英語) Laboratory of Tumor Cell Biology, Department of Computational Biology and Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Professor. Kaoru Uchimaru

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立がん研究センター・造血器腫瘍研究分野・北林一生 総括研究報告を参照。

## 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 5 件)

1. Fuji S, Yamaguchi T, Inoue Y, Utsunomiya A, Moriuchi Y, Uchimaru K, Owatari S, Miyagi T,

- Taguchi J, Choi I, Otsuka E, Nakachi S, Yamamoto H, Kurosawa S, Tobinai K, Fukuda T. Development of a modified prognostic index of patients with aggressive adult T-cell leukemia-lymphoma aged 70 years or younger: a possible risk-adapted management strategies including allogeneic transplantation. *Haematologica*. 2017 pii: haematol.2017.164996.
2. 山岸誠、内丸薫、特集 / 成人 T 細胞白血病リンパ腫(ATL)研究と診療の進歩「ATL 発症における遺伝子翻訳異常」、血液内科、74(3)、314-319、2017 年、査読なし、オープンアクセスなし
  3. Farmanbar A, Firouzi S, Park SJ, Nakai K, Uchimaru K, Watanabe T. Multidisciplinary insight into clonal expansion of HTLV-1-infected cells in adult T-cell leukemia via modeling by deterministic finite automata coupled with high-throughput sequencing. *BMC Med Genomics*. 2017 Jan 31;10(1):4. doi: 10.1186/s12920-016-0241-2.
  4. Fuji S, Inoue Y, Utsunomiya A, Moriuchi Y, Uchimaru K, Choi I, Otsuka E, Henzan H, Kato K, Tomoyose T, Yamamoto H, Kurosawa S, Matsuoka KI, Yamaguchi T, Fukuda T. Pretransplantation Anti-CCR4 Antibody Mogamulizumab Against Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma Is Associated With Significantly Increased Risks of Severe and Corticosteroid-Refractory Graft-Versus-Host Disease, Nonrelapse Mortality, and Overall Mortality. *J Clin Oncol*. 2016 Oct 1;34(28):3426-33.
  5. Sakura Aoki, Sanaz Firouzi, Yosvany López, Tadanori Yamochi, Kazumi Nakano, Kaoru Uchimaru, Atae Utsunomiya, Masako Iwanaga, Toshiki Watanabe. Transition of adult T-cell leukemia/lymphoma clones during clinical progression. *Int J Hematol*. 2016 Sep;104(3):330-7.
  6. Nakano K, Uchimaru K, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Watanabe T. Dysregulation of c-Myb pathway by aberrant expression of proto-oncogene MYB provides the basis for malignancy in adult T-cell leukemia/lymphoma cells. *Clin Cancer Res*. 2016 Dec 1;22(23):5915-5928.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Makoto Yamagishi, Makoto Hori, Dai Fujikawa, Daisuke Honma, Nobuaki Adachi, Takeo Ohsugi, Kazumi Nakano, Makoto Nakashima, Seiichiro Kobayashi, Masako Iwanaga, Atae Utsunomiya, Yuetsu Tanaka, Seiji Okada, Kunihiro Tsukasaki, Kensei Tobinai, Kazushi Araki, Toshiki Watanabe, Kaoru Uchimaru. “Development and Molecular Analysis of Synthetic Lethality by Targeting EZH1/2 in ATL and HTLV-1-infected cells”, The 18th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses, Tokyo, Japan, March 10, 2017 (March 7-10, 2017) (Oral)
2. Makoto Yamagishi, Kazumi Nakano, Dai Fujikawa, Seiichiro Kobayashi, Natsumi Araya, Tomoo Sato, Naoko Yagishita, Masako Iwanaga, Atae Utsunomiya, Yuetsu Tanaka, Yoshihisa Yamano, Toshiki Watanabe, Kaoru Uchimaru. “Comparative Transcriptome Analysis of HTLV-1-infected cells and ATL cells”, The 18th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses, Tokyo, Japan, March 7, 2017 (March 7-10, 2017) (Poster)
3. Makoto Yamagishi, Makoto Hori, Dai Fujikawa, Daisuke Honma, Nobuaki Adachi, Takeo Ohsugi, Kazumi Nakano, Makoto Nakashima, Seiichiro Kobayashi, Masako Iwanaga, Atae Utsunomiya, Seiji Okada, Kunihiro Tsukasaki, Kensei Tobinai, Kazushi Araki, Toshiki Watanabe, Kaoru Uchimaru, “Development and molecular analysis of synthetic lethality by targeting EZH1 and EZH2 in T cell lymphomas”, T-cell Lymphoma Forum 2016, San Francisco, CA, U.S.A., Jan. 27, 2017 (Jan. 26-28, 2017)
4. Makoto Yamagishi, Makoto Hori, Dai Fujikawa, Daisuke Honma, Nobuaki Adachi, Takeo Ohsugi, Kazumi Nakano, Makoto Nakashima, Seiichiro Kobayashi, Masako Iwanaga, Atae

- Utsunomiya, Seiji Okada, Kunihiro Tsukasaki, Kensei Tobinai, Kazushi Araki, Toshiki Watanabe, Kaoru Uchimaru, "Development and molecular analysis of synthetic lethality by targeting EZH1 and EZH2 in non-Hodgkin lymphomas", the 58th ASH Annual Meeting and Exposition, San Diego, CA, U.S.A., Dec. 5, 2016 (Dec. 3-6, 2016) (Oral)
5. 山岸誠、藤川大、大杉剛生、本間大輔、安達宣明、堀真琴、中川翔太、中野和民、小林誠一郎、田中勇悦、岩永正子、宇都宮與、塚崎邦弘、荒木一司、内丸薫、渡邊俊樹、「Epigenetic landscape in adult T cell leukemia-lymphoma (ATL); proof of concept for targeting EZH1/2」、第 78 回日本血液学会学術集会、パシフィコ横浜、横浜、2016 年 10 月 13 日(2016 年 10 月 13 日～15 日) (口演)
  6. 山岸誠、藤川大、大杉剛生、本間大輔、安達宣明、堀真琴、中川翔太、中野和民、小林誠一郎、岩永正子、宇都宮與、荒木一司、内丸薫、渡邊俊樹、「Epigenetic-basis synthetic lethality for the therapy of adult T cell leukemia-lymphoma (ATL)」、第 75 回日本癌学会学術集会、パシフィコ横浜、横浜、2016 年 10 月 6 日(2016 年 10 月 6 日～8 日) (口演)
  7. 山岸誠、澤礼乃、藤川大、堀真琴、中野和民、宇都宮與、渡邊俊樹、内丸薫、「成人 T 細胞白血病(ATL)の遺伝子翻訳異常とその意義」、第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島県市町村自治会館、鹿児島、2016 年 8 月 27 日 (2016 年 8 月 26 日～8 月 28 日) (口演)
  8. 成人 T 細胞白血病における CD30 陽性細胞集団に高倍数体細胞は出現する。[口演] 中島誠、矢持忠徳、渡邊真理子、内丸薫、宇都宮與、東原正明、渡邊俊樹、堀江良一。第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/27
  9. 成人 T 細胞白血病(ATL)の遺伝子翻訳異常とその意義。[口演] 山岸誠、澤礼乃、藤川大、堀真琴、中野和民、宇都宮與、渡邊俊樹、内丸薫。第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/27
  10. Comprehensive mutation profiling of HTLV-1 infected cells based on phenotypic analysis of ATL progression. [口演] Sanaz Firouzi, Amir Farmanbar, Sereewattanawoot Suran(Ball), Seiichiro Kobayashi, Kazumi Nakano, Makoto Yamagishi, Kenta Nakai, Toshiki Watanabe, Yutaka Suzuki, Kaoru Uchimaru. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/27
  11. 関西地区での HTLV-1 感染者コホート(JSPFAD)における HTLV-1 水平感染キャリアの解析。[口演] 高起良、片山貴子、岩永正子、相良康子、日野雅之、内丸薫、浜口功、宇都宮與、渡邊俊樹。第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/28
  12. HTLV-1 関連脊髄症(HAM)における HAS-Flow 法を用いた ATL 発症高危険度患者の予測。[口演] 新谷奈津美、佐藤知雄、八木下尚子、高橋克典、内丸薫、山野嘉久。第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/28
  13. Proto-oncogene MYB 発現異常による c-Myb 経路錯乱が ATL 細胞悪性化形質を規定する。[口演] 中野和民、宇都宮與、山口一成、内丸薫、渡邊俊樹。第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/28
  14. 末梢血中の HTLV-1 感染クローンにおけるトランスフェリン受容体の発現解析。[口演] 小林誠一郎、石垣知寛、渡辺恵理、大野伸広、東條有伸、内丸薫。第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/28
  15. In-Vitro/In-Vivo モデルを用いた成人 T 細胞白血病(ATL)におけるアミノ酸依存症性の同定。[口演] 石垣知寛、田矢祐規、山崎聡、小林誠一郎、中野伸亮、大野伸広、宇都宮與、内丸薫、東條有伸。第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/28
  16. HTLV-1 「HTLV-1 キャリアの現状」。[口演] 内丸薫。第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/27
  17. 抗 CCR4 抗体使用歴のある ATL に対する非血縁者間移植における GVHD 予防強化によって



重篤な GVHD なく経過した 2 例. [ポスター] 藤重夫、伊藤歩、佐藤奈津子、渡辺恵理、田中喬、大野伸広、内丸薫、福田隆浩. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/27

18. Mogamulizumab 併用 VCAP/AMP/ VECP 療法後に CMML を発症した急性 ATL 症例. [ポスター]小川弥穂、川俣豊隆、大野伸広、神保光児、磯部優理、横山和明、東條有伸、内丸薫. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/27

19. ATL の眼浸潤に対してメトトレキサート硝子体注射と放射線照射の併用による眼局所治療が有効であった一例. [ポスター]鴨居功樹、内丸薫、東條有伸、藤重夫、吉村亮一、大野京子. 第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会. 2016/8/27

(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  
該当なし