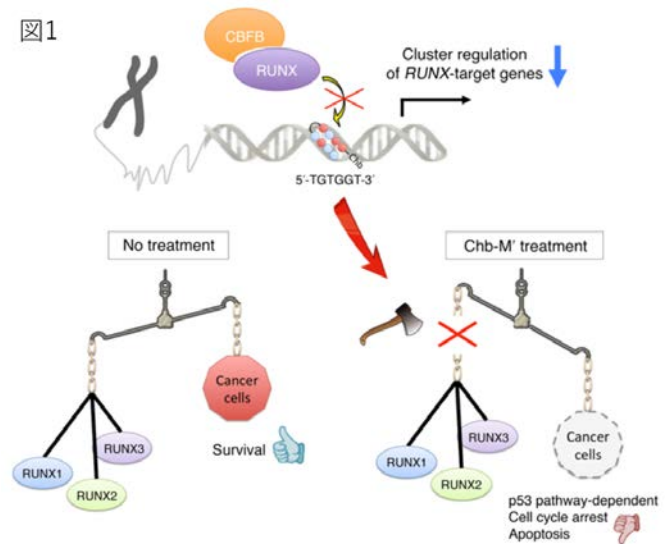


# 遺伝子スイッチ法を用いた難治性白血病の治療手法を考案 —複数の遺伝子を包括的に抑制することで抗腫瘍効果を確認—

## 概要

造血に必須の多くの遺伝子を一括して制御する転写因子：Runt-related transcription factor 1 (以下、RUNX1) は、白血病などの造血器悪性腫瘍の“がん抑制遺伝子”と考えられてきました。しかし、近年の研究で“がん促進因子”としても機能することが明らかとなりつつあります。京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻・森田剣ポスドク研究員、上久保靖彦准教授を中心とするグループは、杉山弘理学研究科教授、足立壮一医学研究科教授らと共に、RUNX1 や RUNX2、RUNX3、補助因子の CBFβ といった RUNX ファミリーを包括的に抑制することで、RUNX1 のみを抑制するよりも強い抗白血病効果を誘導することを発見しました。

図1



杉山教授が開発した alkylating agent-conjugated pyrrole-imidazole (PI) polyamides (アルキル化剤修飾ピロールイミダゾールポリアミド：PI-ポリアミド) の中でも、Chb-M' という PI-ポリアミドは、RUNX ファミリーが制御する遺伝子群を包括的に、人工的にスイッチオフすることが可能です (図 1)。免疫不全マウスを用いたヒト癌細胞移植モデルで抗白血病効果を確認したところ、FLT3-ITD 変異を持つ MLL 白血病やチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) 耐性 PhALL 白血病 (フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病)、EGFR 阻害剤耐性肺癌や Her2 胃癌など予後不良の腫瘍にも効果的であることが分かりました。今回の発見は、様々な癌腫で RUNX ファミリーが腫瘍細胞増殖と維持に重要な働きを持つことを示唆しています。PI-ポリアミドによる RUNX 遺伝子スイッチテクノロジーは、これら様々な癌をコントロールするのに有効な戦略となることが期待されます。論文は平成 29 年 5 月 23 日 (日本時間)、*The Journal of Clinical Investigation* にオンライン掲載されました。

## 1. 背景

白血病の中で最も多い CBF 白血病で RUNX1 は“がん抑制遺伝子”として認識されており、RUNX1 が強く抑制されることが白血病の発症・増殖・維持に重要な要素だと考えられてきました。しかし、先行研究により RUNX1 は“がん促進因子”としても機能し、治療ターゲットとなることも示唆されてきました。実際に、RUNX1 の抑制には抗白血病効果があるものの、完全に白血病を制御することはできませんでした。

一方、骨発生に関する遺伝子を一括して制御する転写因子 RUNX2 は、白血病を含む様々な癌腫で“がん促進因子”として認識されてきました。また、RUNX3 は肺癌や胃癌で“がん抑制遺伝子”と考えられてきました。

RUNX1、RUNX2、RUNX3 は同じ特定の塩基配列に結合しますが、癌における相互関係は不明でした。そこで本研究ではRUNX1、RUNX2、RUNX3 の相互メカニズムと、包括的な抑制による抗腫瘍メカニズムの解明を目的としました。

## 2. 研究手法・成果

FLT3-ITD 変異を持つ MLL 白血病細胞株で RUNX1 の機能を破壊(ノックダウン)すると、p53 というがん抑制遺伝子が働きがん細胞が死んでいきます。本研究では、まずこのメカニズムを検証しました。その結果、RUNX1 の働きを抑えると p53 を抑制していた *TRIM24*、*BCL11A* があまり働くなり、p53 が機能し始めることがわかりました。また、この細胞抑制効果は p53 の活性に左右されることも明らかにしました。さらに RUNX1 を単独でノックダウンした場合に比べ、RUNX2 や RUNX3 のノックダウンの追加や RUNX1、RUNX2、

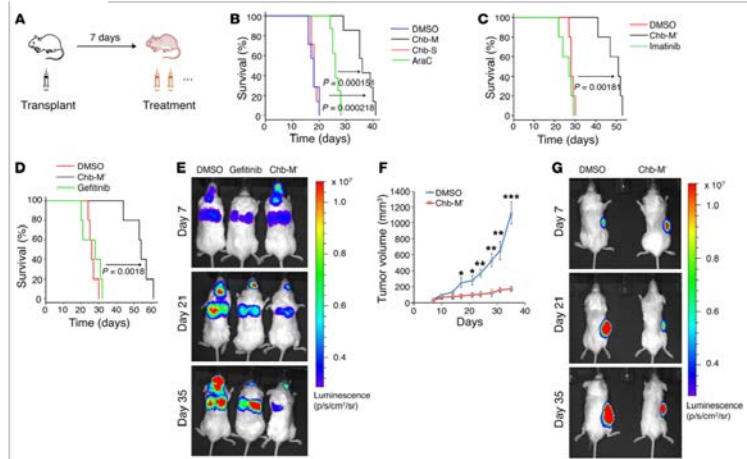
RUNX3 の全てをノックダウンすることで、白血病細胞をさらに効果的に抑制することが判明しました。この原因として、RUNX ファミリーの一つを抑制しても結果的に他の RUNX ファミリー因子が増強し、抑制された分を補償することで、白血病細胞抑制効率が大きく弱められることが示唆されました。検証の結果、RUNX1、RUNX2、RUNX3 全てを効果的に抑制することで、強い抗白血病効果を誘導することが可能であるとの仮説を立てることができました。

次に、Chb-M' という PI-ポリアミドを用いて RUNX ファミリーが制御する遺伝子群を包括的かつ人工的にスイッチオフし、更なる検証を行いました。その結果、Chb-M' を使用した場合でも極めて効率的に幅広い癌腫を抑制可能であることが判明しました。しかし、こちらでも抗腫瘍効果は p53 活性に左右されることが判明しました。

更に、各種ヒト癌細胞株を移植した免疫不全マウスに Chb-M' を投与する実験を行いました。現在臨床現場で治療薬の第一候補として使用されている薬剤との治療効果比較を行ったところ、FLT3-ITD 変異を持つ MLL 白血病治療モデルでは、Chb-M' を投与したグループの方が平均 10 日程度長く生存しました。また、TKI 耐性フィラデルフィア染色体陽性難治性急性リンパ性白血病治療モデルでは、Imatinib(TKI)の効果はほぼ確認できませんでしたが、Chb-M' 投与群では約 20 日程度生存期間が延びました。EGFR 阻害剤耐性肺腺癌治療モデルや Her2 胃癌治療モデルにおいても、Chb-M' は明らかな抗腫瘍効果を示しました (図 2)。

正常マウスに Chb-M' を投与した場合でも、ほとんど副作用が起こらず、24 時間以内にほぼ血中より消失することを確認しました。Chb-M' は腫瘍にのみ集積する特徴を持つことも確認できました。

図 2



A : 各種ヒト癌細胞株移植治療ストラテジー  
 B : MLL-AF4+FLT3-ITD変異を伴う難治性急性骨髄性白血病治療モデル  
 C : TKI耐性フィラデルフィア染色体陽性難治性急性リンパ性白血病治療モデル  
 D・E : EGFR阻害剤耐性肺腺癌治療モデル  
 F・G : Her2胃癌治療モデル

### 3. 波及効果、今後の予定

PI-ポリアミドによる RUNX 遺伝子スイッチテクノロジーは、今後様々な癌のコントロールに有効な戦略となることが期待されます。本薬剤の抗腫瘍効果は p53 活性に依存するため、p53 変異を伴う癌では効果は微弱です。しかし p53 変異を正常な p53 の形に変化させる薬剤等を併用すると、p53 変異を伴う白血病でも、Chb-M'は強い抗腫瘍効果を発揮します。ただ、p53 変異を伴う白血病の症例は比較的少ないため、本薬剤の白血病への臨床応用可能性も高いと考えられます。研究グループでは毒性面などでの予備試験を行っており、今後さらにヒトに投与可能なグレードの Chb-M'を用いた非臨床試験を進める予定です。

PI-ポリアミドによる遺伝子スイッチテクノロジーは、未だ臨床応用はなされていません。DNA に直接結合し、遺伝子発現を調節する治療薬コンセプトの安全性は十分に検証すべきでしょう。RUNX ファミリーだけではなく、任意の類似機能を持つ塩基配列に結合する PI-ポリアミドのライブラリー開発も進行中です。様々な塩基配列をターゲットとした新薬開発が可能であることから、今後 PI-ポリアミドによる遺伝子スイッチテクノロジーは新しい創薬の地平を開くものとして期待されます。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究プロジェクトは、日本医療研究開発機構 革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業・技術開発課題 A (中核技術の開発)「任意の遺伝子発現制御を可能にする革新的ポリアミド薬剤の開発」の支援を受けました。

#### <論文タイトルと著者>

タイトル : Genetic regulation of the RUNX transcription factor family has antitumor effects

著者 : Ken Morita, Kensho Suzuki, Shintaro Maeda, Akihiko Matsuo, Yoshihide Mitsuda, Chieko Tokushige, Gengo Kashiwazaki, Junichi Taniguchi, Rina Maeda, Mina Noura, Masahiro Hirata, Tatsuki Kataoka, Ayaka Yano, Yoshimi Yamada, Hiroki Kiyose, Mayu Tokumasu, Hidemasa Matsuo, Sunao Tanaka, Yasushi Okuno, Manabu Muto, Kazuhito Naka, Kosei Ito, Toshio Kitamura, Yasufumi Kaneda, Paul P. Liu, Toshikazu Bando, Souichi Adachi, Hiroshi Sugiyama and Yasuhiko Kamikubo

掲載誌 : *The Journal of Clinical Investigation*

#### <お問い合わせ先>

上久保靖彦准教授

京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻・癌創薬イノベーション研究室

TEL: 075-751-3928 FAX : 075-751-3928

E-mail: kamikubo.yasuhiko.7u@kyoto-u.ac.jp

[http://www.med.kyoto-u.ac.jp/en/organization-staff/research/human\\_health/mt0303/](http://www.med.kyoto-u.ac.jp/en/organization-staff/research/human_health/mt0303/)