

配布記者クラブ：文部科学記者会、科学記者会

報道関係各位

2021年11月12日
東京医科大学
東京工業大学

免疫調節薬ポマリドミドの新たな治療作用の発見

— 白血病など難病への適応拡大に期待 —

【概要】

東京医科大学（学長：林由起子／東京都新宿区）ケミカルバイオロジー講座の清水誠之客員研究員（大分大学医学部助教）、伊藤拓水准教授および半田宏特任教授（東京工業大学名誉教授）、東京工業大学（学長：益一哉／東京都目黒区）生命理工学院の山口雄輝教授らの共同研究グループは、免疫調節薬でありサリドマイド誘導体でもあるポマリドミドの新規の治療作用を見出しました。

研究グループはポマリドミドがその標的因子であるセレブロンを介して PLZF およびその融合タンパク質群を効率的に分解することを明らかにしました。そして急性前骨髄球性白血病の属性を有する PLZF 融合タンパク質発現モデル白血病細胞株においてその増殖をポマリドミドで抑制させることに成功しました。本研究成果は「Communications Biology」のオンライン版に掲載されます。（現地時間 2021 年 11 月 11 日公開）。

【本研究のポイント】

- ・免疫調節薬ポマリドミドによりセレブロンを介して効率よく分解されるタンパク質として PLZF およびその融合タンパク質(PLZF-RAR α , PLZF-ABL1)を発見しました。
- ・ PLZF-RAR α を発現するモデル白血病細胞株にポマリドミドを処理したところ、臨床的に有効な濃度でその増殖抑制に成功しました。
- ・本研究は、多発性骨髄腫の治療薬としてのみ認可されていたポマリドミドにおいて、PLZF やその融合タンパク質を発現する白血病(APL, T-ALL)においても適応拡大を図れる期待が得られるもので、今後の臨床研究における発展が期待されます。

【研究の背景】

本研究は元をたどるとサリドマイド(thalidomide)の分子機構の解析に遡ります。

サリドマイドは 1950 年代に鎮静剤として開発されましたが、深刻な催奇形性を有していることが判明し、市場からの撤退を余儀なくされたことで世界的にも知られています。

しかしそれから半世紀以上、サリドマイドの分子機構の研究は続けられ、現在では多発性骨髄腫(用語 1)において優れた治療効果があることがわかり我が国においても処方認可されています。そしてサリドマイドを基にした薬剤としてレナリドミド(lenalidomide)とポマリドミド(pomalidomide)が開発され、免疫調節薬(Immunomodulatory drugs, IMiDs)(用語 2)と総称されています。

レナリドミドは多発性骨髄腫だけでなく、骨髄異形成症候群(5q-)やマントル細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫など複数の血液疾患に効果があることが示され使用が認可されていますが、ポマリドミドはレナリドミド耐性やプロテアソーム阻害剤耐性の多発性骨髄腫患者への処方に許可が留まっているという現状があります。

サリドマイド並びに IMiDs の分子機構は、2010 年に伊藤准教授と半田特任教授らの研究グループにより、サリドマイドと直接結合する標的因子であるセレブロン(cereblon, CRBN)が世界に先駆けて発見されたことにより(Science 327, 1345-50 (2010))、ここ 10 年あまりで飛躍的に理解が進んでいる状況にあります。セレブロンはユビキチンリガーゼ複合体 CRL4(用語 3)の基質受容体として機能し、サリドマイドなど薬剤が結合するとそれに応じて新たな基質(neosubstrate, ネオ基質)を認識する役割を担っています。例えば多発性骨髄腫において、レナリドミドやポマリドミドがセレブロンに結合すると Ikaros, Aiolos と呼ばれる多発性骨髄腫の生存に重要なタンパク質が認識され、分解されることがこれまでの研究によって示されています。

これまでに当研究グループは、本学にて急性白血病細胞の増殖を抑える化合物 CC-885 が翻訳タンパク質 GSPT1 をネオ基質としてセレブロンに認識させることや(Nature 535, 252-257 (2016))、サリドマイド催奇形性の原因を担うセレブロンのネオ基質として転写因子 p63 を発見し (Nat Chem Biol 15, 1077-1084 (2019))、ポマリドミドによる抗多発性骨髄腫効果の一端をセレブロンのネオ基質である ARID2 が担っていることなどを明らかにしてきました (Nat Chem Biol 16, 1208-1217 (2020))。

【本研究で得られた結果・知見】

本研究で当研究グループは、上述したように多発性骨髄腫患者への処方に限られるポマリドミドの新たな有用な治療作用を見出すべく、ネオ基質をベースとしたドラッグリポジショニング(neosubstrate-based drug repositioning)(用語 4)を考えました。そして様々な組織細胞抽出液からポマリドミド依存的なセレブロン結合探索因子を探索しました。最終的に神経幹細胞株である It-NES の抽出液から得られたセレブロン結合タンパク質サンプルを質量分析で解析しました。結果として、PLZF(promyelocytic leukemia zinc finger)が同定されました。PLZF は、別名 ZBTB16(Zinc finger and BTB domain-containing protein 16)と呼ばれる転写因子であり、神経分化や精子形成など様々な生命現象に関与することが分かっています。元々は転座により RAR α (Retinoic acid receptor α)との融合により成り立つ融合遺伝子(PLZF-RAR α)として発見されています(図 1)。

PLZF-RAR α は、急性前骨髄球性白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL)(用語 5)の“がんドライバー”(用語 6)として機能することが分かっています。また、最近になり、T 細胞急性リンパ性白血病 (T-ALL)(用語 7)において、ABL1 との融合による PLZF-ABL1 遺伝子が発見されています(図 1)。

そこで当研究グループでは、PLZF および PLZF 融合タンパク質群について生化学的な解析を行い、これらがポマリドミド依存的なセレブロンのネオ基質であることを示しました。同時にサリドマイドやレナリドミドによる PLZF の分解活性はポマリドミドより弱いことも示しました。そしてヒトマクロファージ様細胞 U937 に PLZF-RAR α を発現させた株が

APL 様の性質を有するモデル細胞系として確立されていることからそれを用いて、ポマリドミド処理を行いました。結果として、臨床的に有効な濃度(0.1 μ M)で増殖抑制を誘導することに成功しました(図 2)。

【今後の研究展開および波及効果】

本研究により PLZF およびその融合タンパク質(PLZF-RAR α および PLZF-ABL1)がポマリドミドで効率よく分解されることや、融合タンパク質発現モデル細胞の増殖抑制が達成されたことにより、これらのがんドライバーとする APL や T-ALL に対するポマリドミドの適応拡大のための臨床研究への道が開けたと言えます(図 3)。

PLZF は最近の報告では後縦靭帯骨化症(用語 8)や高血圧に関わることも知られており、いずれも PLZF を減少させると改善させうるという効果が報告されています。その点でポマリドミドはこれらの疾患の治療に有用である可能性が見いだされ今後検討の余地があります(図 3)。

近年、ゲノムシーケンス技術の発展により様々な融合タンパク質が発見されつつあります。今回の研究では解析していませんが T-ALL においては Ikaros-notch 融合タンパク質が見つかっており、この融合タンパク質は構造的にポマリドミドで分解可能であることが予測されます。今後さらにポマリドミドで分解可能な融合タンパク質候補が見つかることも期待されます。セレブロン[®]のネオ基質に関する情報・知見は蓄積されてきており、今後のがんドライバーとしての融合タンパク質研究がさらに大いになされ、ポマリドミドの用途がさらに広がっていく可能性も期待できます。

○用語説明

- *1 多発性骨髄腫：血液細胞の一種である形質細胞ががん化したもの。
- *2 免疫調節薬：サリドマイドを基に開発された化合物であり、そのなかでもレナリドミドとポマリドミドはサリドマイドに酷似した構造を有しつつも強力な免疫調節作用および抗がん作用といった多様な作用を有する。
- *3 ユビキチンリガーゼ複合体 CRL4：ユビキチン・プロテアソーム系とよばれる細胞内タンパク質分解系において E3 酵素として働くタンパク質複合体で Cullin Ring Ligase 4 の略である。Cul4 (Cullin 4), DDB1 (damage-specific DNA binding protein 1), Roc1(Regulator of cullins-1)そして基質受容体の 4 つのサブユニットから成り立つ。セレブロンは基質受容体としてポリユビキチン化させる対象の基質を認識する役割を担う。
- *4 ドラッグリポジショニング：既に使用されている薬剤の新しい効果を発見し、別の疾患の治療薬として用いる医薬品の開発手法。
- *5 急性前骨髄球性白血病 (APL)：急性骨髄性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) の一病型であり、骨髄および末梢血液において独特の細胞形態を有する前骨髄球の増殖が生じる悪性腫瘍性疾患。
- *6 がんドライバー：がんの発生や悪性化に直接的な役割を果たす遺伝子を指す。
- *7 T 細胞急性リンパ性白血病 (T-ALL)：骨髄においてリンパ芽球が増殖する造血器における悪性腫瘍性疾患。
- *8 後縦靭帯骨化症：後縦靭帯が骨化することにより脊柱管が狭くなり、圧迫が生じて感覚障害や運動障害などの神経症状が引き起こされる疾患。

【掲載誌名・DOI】

掲載誌名：Communications Biology

DOI：<https://www.nature.com/articles/s42003-021-02801-y>

【論文タイトル】

PLZF and its fusion proteins are pomalidomide-dependent CRBN neosubstrates

【著者】

著者（英語表記）

Nobuyuki Shimizu, Tomoko Asatsuma-Okumura, Junichi Yamamoto, Yuki Yamaguchi, Hiroshi Handa* and Takumi Ito*

著者（日本語表記）

清水 誠之、朝妻 知子、山本 淳一、山口 雄輝、半田 宏*、伊藤 拓水*

(*責任著者)

【主な競争的研究資金】

- ・ 科学研究費補助金 新学術領域研究（研究領域提案型）「ケミカルプロテインノックダウン技術の開発と細胞制御」（研究課題番号：18H05502）（伊藤 拓水）
- ・ 科学研究費補助金 基盤研究(S) 「脳神経幹細胞の増殖分化を制御するサリドマイド標的因子セレブロンの新規作動薬の探索」（研究課題番号：17H06112）（半田 宏、山口 雄輝）
- ・ 科学研究費補助金 若手研究「急性前骨髄球性白血病（APL）に対するセレブロンモジュレーター的作用機構の解明」（研究課題番号：19K16378）（清水 誠之）

【ケミカルバイオロジー講座】

東京医科大学に発足した産学連携講座であり、米国プリストルマイヤーズスクイブ社がスポンサーを務めています。

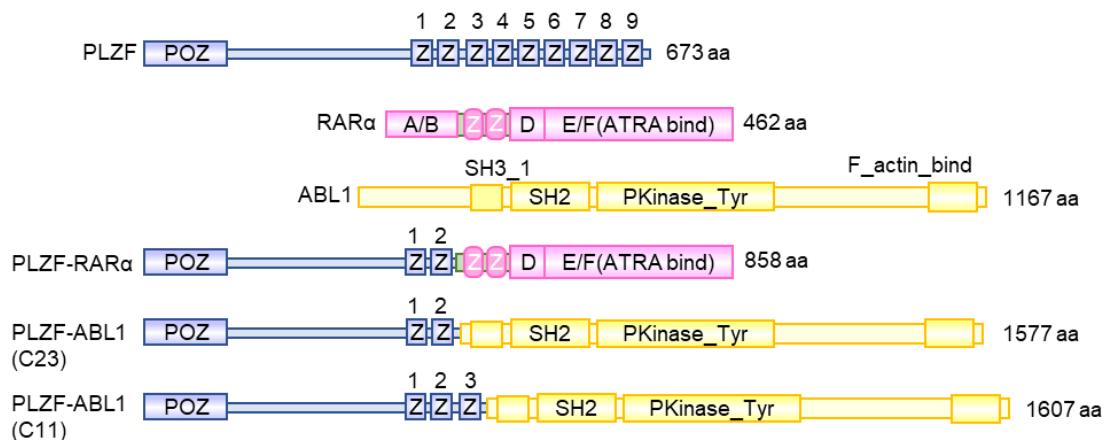


図 1. PLZF およびその融合タンパク質の構造

aa はアミノ酸を表す。PLZF-ABL1 は C23 および C11 の二つのタイプが報告されている。いずれのタンパク質もポマリドミドで分解される。

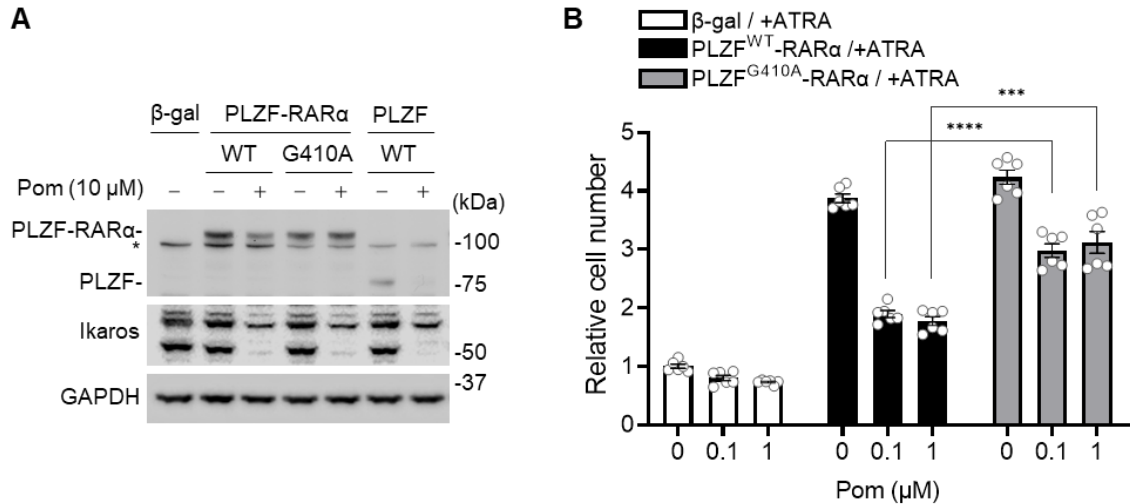


図2 ポマリドミドの PLZF-RAR α 発現 U937 細胞への影響

A. U937 細胞においてコントロールである β -gal、野生型(WT)の PLZF-RAR α および PLZF の G410 をアラニン(A)に置換してポマリドミドによる分解をうけないように改変した PLZF^{G410A}-RAR α をそれぞれ発現させ、ポマリドミドで処理したのち細胞抽出液に対してウェスタンブロッティングを行い、タンパク量を解析した。野生型のみ PLZF 融合タンパク質量の減少がみられる。

B. 細胞に対してポマリドミドおよび ATRA (all-trans retinoic acid)を処理して 7 日後に細胞数を計測した。結果として有意に野生型 PLZF-RAR α を発現する U937 株の方が増殖が抑制されていることが分かった。

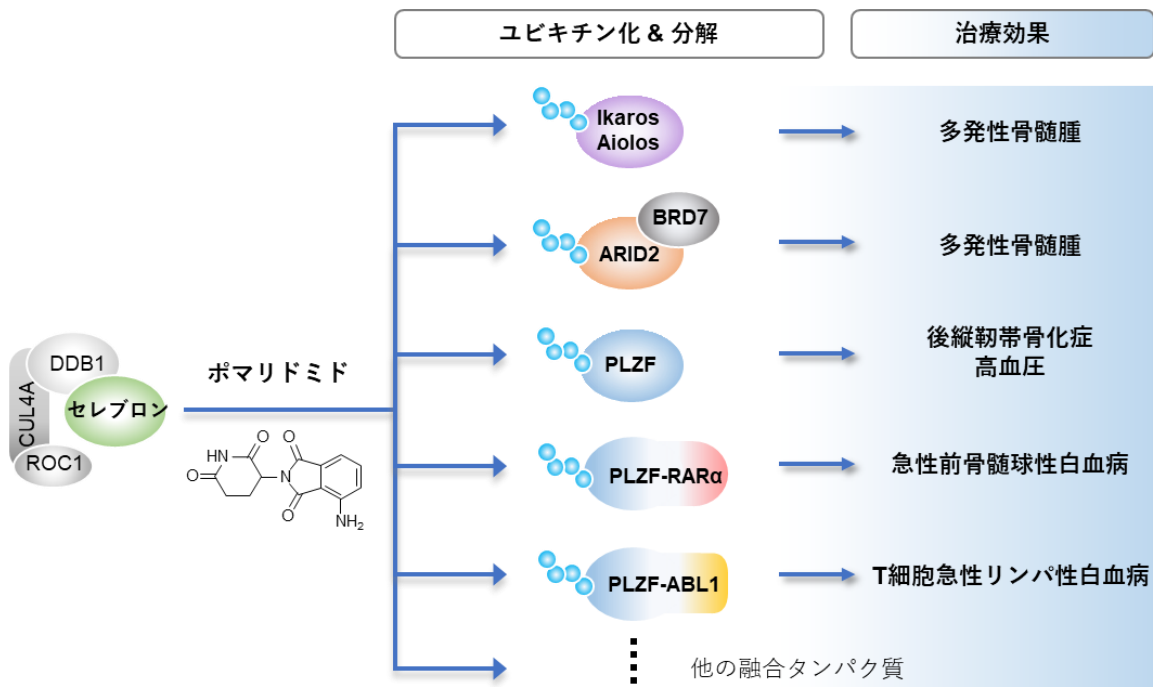


図3. ポマリドミドにおける治療作用のモデル図

これまでの研究によると多発性骨髄腫において、ポマリドミドはセレブロンが含まれるユビキチンリガーゼ複合体により Ikaros, Aiolos そして ARID2 の分解を誘導して治療作用を示す。本研究によりポマリドミドは効果的に PLZF やその融合タンパク質を分解する。図に示しているような疾患においても治療作用を示せるのではないかと期待される。

○本研究に関する問い合わせ先

東京医科大学 ケミカルバイオロジー講座

伊藤 拓水 准教授

TEL: 03-3342-6111(代表) 内線 6147

E-mail: takumii@tokyo-med.ac.jp

半田 宏 特任教授

TEL: 03-5323-3250

FAX: 03-5323-3251

E-mail: handa@tokyo-med.ac.jp

東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系

山口 雄輝 教授

TEL: 045-924-5798

E-mail: yyamaguc@bio.titech.ac.jp

○プレスリリースに関する問い合わせ先

学校法人東京医科大学 企画部 広報・社会連携推進室

TEL: 03-3351-6141 (代表)

E-mail: d-koho@tokyo-med.ac.jp