

報道関係各位

平成 28 年 6 月 24 日
東京医科大学

急性骨髄性白血病に効果の期待できる新しいタイプの薬の開発 およびその作用機構の解明

【概要】

- ・ 急性骨髄性白血病治療薬として期待できる新しいタイプのサリドマイド派生薬剤 CC-885 をスクリーニングにより発見しました。
- ・ 薬理学および生化学的な解析により CC-885 はセレブロンを介して GSPT1 の分解を誘導することで作用することを明らかにしました。
- ・ 構造生物学的解析により CC-885 がセレブロンと GSPT1 の間を結ぶ糊（のり）のような役割をすることを解明しました。
- ・ 本成果より、CC-885 および類似薬の臨床応用のための研究が開始されます。また、本研究の知見を利用することで、他の疾患タンパク質の分解を誘導する新剤開発も期待されます。

東京医科大学・ナノ粒子先端医学応用講座の半田宏特任教授および伊藤拓水准教授は、米国製薬企業セルジーン社（Celgene Corporation, URL: <https://www.celgene.com/>）との共同研究により、急性骨髄性白血病への治療効果が期待できる新しいタイプの薬剤 CC-885 の開発に成功しました。

本薬剤は、タンパク質分解にかかわる酵素（ユビキチンリガーゼ）であるセレブロン（Cereblon, CRBN）を標的としており、その機能を変換することにより抗がん活性を示します。セレブロンは、半世紀前に深刻な催奇形性を引き起こしたことで知られる薬剤サリドマイドの主要な標的因子として、半田特任教授および伊藤准教授が以前に世界に先駆けて発見しており 2010 年に Science 誌に報告していました。

その後、半田特任教授らはサリドマイドおよび派生薬剤の治療効果におけるセレブロンの役割をさらに探求し、かつ成果を新薬開発に生かすために、サリドマイド派生薬剤を開発・販売する米国セルジーン社との共同研究を開始しました。そしてセレブロンを標的として、その機能を変換することにより治療効果を発揮する新たなタイプの薬剤の開発に携わってきました。

今回、半田特任教授、伊藤准教授およびセルジーン社の国際的研究グループは、急性骨髄

性白血病(Acute Myeloid Leukemia, AML)細胞において、感受性の高い新化合物 CC-885 を表現型スクリーニングにより発見しました。CC-885 はサリドマイドの派生薬剤の一種であり、セレブロンに結合して作用します。そして、伊藤准教授が免疫沈降法という実験技術を用いることにより CC-885 依存的なセレブロン結合因子 GSPT1 の単離に成功し、生化学・薬理学実験により CC-885 の AML への作用は、GSPT1 分解が原因であることを確認しました。

さらに、半田特任教授らはセレブロン、CC-885、GSPT1 の相互作用の詳細を X 線結晶解析により明らかにした結果、CC-885 はセレブロンに結合すると、糊のような役割を果たし、GSPT1 が結合できる相互作用の場(interaction hotspot)を作成することが判明しました。

今回の研究成果により発見された CC-885 は、セレブロンの機能を変換することにより新たに GSPT1 の認識をさせ、その分解を促すことで AML への効果を示す新しいタイプの薬剤です。本成果では、CC-885 が AML に効果を示すことを示すだけでなく、セレブロン、CC-885、GSPT1 の相互作用の分子基盤も解明しました。本研究から得られた知見により、さらに他の疾患関連タンパク質を分解する薬剤の開発も促されます。本成果は英科学誌「Nature」の Online 版で Article として 6 月 22 日に出版されました。

【研究の背景と経緯】

本研究は、元をたどると 1950 年代に鎮静剤として開発され、世界的な薬害を引き起こしたサリドマイドの分子機構の解析に行き着きます。サリドマイドは妊娠初期の女性が服用すると新生児の手足や耳などに発達障害(催奇形性)を引き起こすことから 1960 年代前半に一度市場から撤退を余儀なくされています。しかし、近年になりハンセン病の一種や血液がんである多発性骨髄腫において優れた治療効果を示すことが判明し、再評価が進んでいます。現在では我が国を含む複数の国で厳格な統制の下、サリドマイドの処方認可されています。また、サリドマイドをベースにより強力な派生薬剤(免疫調節薬、Immunomodulatory drugs (IMiDs))の開発が主に米国セルジーン社により行われており、それらのうちレナリドミド(Lenalidomide)やポマリドミド(Pomalidomide)の処方もまた統制の下、認可されています。

サリドマイドおよび関連薬剤の作用機序は、長年にわたり不明でした。しかし、半田特任教授は東京工業大学教授時代に、薬剤など低分子化合物の結合因子を探索するための磁性ナノアフィニティ粒子 (FG ビーズ) (用語 1) を独自に開発していました。伊藤准教授(当時・研究員)が FG ビーズにサリドマイドを固定させ、直接結合する因子を探索することにより、主要な標的因子セレブロン(Cereblon, CRBN)を世界に先駆けて単離・同定することに成功していました(Ito et al. Science (2010) 327 1345-1350) (図 1)。

その後、世界的にセレブロンを介したサリドマイドおよび派生薬剤の分子機構の研究進展が加速しました。半田特任教授らもセレブロンの機能の本質にさらに迫り、また得られた基礎研究の成果が実際の薬剤開発に結びつくように、産学連携研究を米国セルジーン社と開始することにしました。現在では、これら薬剤の多発性骨髄腫への治療効果において、セレブロンが主要な役割を担うことが半田特任教授らを含む複数のグループにより独立に証明されています。

セレブロンは、DDB1(Damage-specific DNA binding protein 1), Cul4A, Roc1 という他の 3 種類のタンパク質と CRL4 (Cullin-Ring Ligase 4) 複合体を形成し、ユビキチンリガーゼ(CRL4^{CRBN}) (用語 2) として機能します。ユビキチンリガーゼは、分解すべき標的タンパク質(基質)にユビキチンという小さいタンパク質をタグとして付ける酵素です。ユビキチンが付けられたタンパク質は、速やかに分解されます。国際的な研究の進展により、現在では

セレブロンが薬剤と結合すると新しく基質と結合・認識できるようになり、また、薬剤の種類によって基質が異なることも判明してきました。セレブロンの機能を低分子化合物により変換（モジュレーション）することで、様々な疾患の原因を担うタンパク質の分解を促す新たな薬を用いた治療法開発の道が期待されるに至っています。しかしながら、セレブロンにサリドマイドなど化合物が結合した際に、どのような形で基質が結合・認識されるのかの詳細はほとんど不明でした。

今回、半田特任教授と伊藤准教授は、セルジーン社と共同で新たな薬剤 CC-885 を見出し、それがセレブロンと結合し、翻訳終結因子 GSPT1 の分解を促し、急性骨髄性白血病(AML)(用語 3)において効果を示すことを明らかにしました。また、セレブロン、CC-885, GSPT1 の結合に関する詳細を X 線結晶構造解析により解明し、CC-885 がセレブロンと基質を結ぶための場（相互作用のためのホットスポット（interaction hotspot））を提供する働きをしていることを発見しました。

【本研究で得られた結果・知見】

132 種類の様々な組織由来のがん細胞株を用いた表現型スクリーニングから、強力な抗がん活性を有する化合物として CC-885 が見出されました。これは、がん細胞株の中でも AML 株において特に強い感受性を本化合物は示しました。そして、本化合物を臨床研究に発展させていくためにも、まずその作用機構を明らかにする必要があります。

CC-885 は、サリドマイドの派生物であり関連する構造を有します(図 2)。まず、CC-885 がセレブロンに結合することを確認したのち、ゲノム編集技術（用語 4）により AML 株においてセレブロン遺伝子を破壊したところ、CC-885 の効果が失われることが分かりました(図 3)。よって、この抗がん作用はセレブロンを介して生じることが判明しました。

次に CC-885 がセレブロンを介して分解を誘導する基質を探索しました。免疫沈降法と呼ばれる実験を実施し、GSPT1 (G1 to S phase transition 1)を単離することに成功しました。GSPT1 は別名 eRF3 (eukaryotic Releasing Factor 3)とも呼ばれ、タンパク質翻訳（用語 5）における終結を担うことが判明しています。GSPT1 の発現を抑制させた AML においては、細胞増殖が抑制されます。生化学的な解析により CC-885 が結合したセレブロンは、GSPT1 を新たに基質として認識し速やかな分解を促すことを示しました(図 4)。そして、セレブロンと非結合の GSPT1 変異体を発現した AML では CC-885 耐性になることを示し、CC-885 の作用は GSPT1 分解が原因であることを確認しました。

さらに研究チームは、セレブロン、DDB1、CC-885、GSPT1 の 4 者からなる複合体の構造を X 線結晶解析（用語 6）および負染色電子顕微鏡により決定しました(図 5)。その結果、CC-885 がセレブロンに結合すると、糊のような役割を果たし、GSPT1 がセレブロンに結合できる場を作成することが判明しました。また GSPT1 の側では、特定のアミノ酸であるグリシンがセレブロンおよび CC-885 に結合する上で重要な役割を果たしていることが判明し、グリシンを別のアミノ酸に置換するとセレブロンと結合できなくなることも明らかにしました。これまでの先行研究により、既に認可されているサリドマイド派生薬である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、イカロス（IKAROS）と呼ばれるタンパク質を分解し、多発性骨髄腫の増殖を抑制することが知られていますが、本研究によりイカロスにおいても特定のグリシンが存在しており、そのグリシンを別のアミノ酸に置換すると同様にセレブロンとの結合が失われることも明らかにしました。

【今後の研究展開および波及効果】

本成果は、国際的な産学連携体制の確立により、薬理学、生化学、そして構造生物学の3分野にまたがった学際的アプローチの実現を成功させたものです。本研究により AML に効果を示す CC-885 が発見され、また、翻訳終結因子 GSPT1 が新たな AML 治療の標的として見出されるに至りました。今後 CC-885 において臨床応用のための研究が実施され、GSPT1 の分解を促す CC-885 の類似薬の開発も精力的になされていくこととなります。

本研究により CC-885 が実際にどのようにセレブロンと基質を結び付けるのかの分子基盤の一端が判明しました。基質側には特定のグリシンが必要であることが判明しましたが、その知見は今後の様々な疾患タンパク質を標的とするより新しい薬剤を開発するうえで大変有用です。セレブロンの基質認識を変換することで疾患関連タンパク質を分解し治療効果を発揮する薬剤を、現在ではセレブロン・モジュレーター(cereblon modulator)と総称しています。

より新しいセレブロン・モジュレーターの開発が、今後大いに促進されることが期待される一方で、これらの薬剤は催奇形性を有するサリドマイドの派生薬であることから、統制されることが現時点では避けられません。セレブロンが催奇形性においても主要な標的であることはすでに示されていますが、未だに催奇形性の原因を担っている基質として証明されたものは報告されておらず、その発見が待たれる現状があります。ただし今回、セレブロン—化合物—基質の相互作用の基盤解明により得られた知見は、催奇形性原因基質を探索するうえでの大きな手掛かりとなります。最終的に、催奇形性の基質を認識せず、疾患タンパク質のみを認識するような薬剤の開発を実現できるよう、半田特任教授らは今後も本分野の研究に邁進していくことを考えています。

【掲載誌名】

Nature

DOI: 10.1038/nature18611

<http://www.nature.com/nature/journal/vaop/ncurrent/full/nature18611.html>

【論文タイトル】

A novel cereblon modulator recruits GSPT1 to the CRL4^{CRBN} ubiquitin ligase

【著者】

Mary E. Matyskiela*, Gang Lu*, Takumi Ito* (*共同筆頭著者), Barbra Pagarigan, Chin-Chun Lu, Karen Miller, Wei Fang, Nai-Yu Wang, Derek Nguyen, Jack Houston, Gilles Carmel, Tam Tran, Mariko Riley, Lyn'Al Nosaka, Gabriel Lander, Svetlana Gaidarova, Shuichan Xu, Alex Ruchelman, Hiroshi Handa, James Carmichael, Thomas O. Daniel, Brian Cathers, Antonia Lopez-Girona, Philip P. Chamberlain

【競争的研究資金】

- ・ 文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究「天然物ケミカルバイオロジー：分子標的と活性制御」23102002 (半田 宏)
- ・ 文部科学省 科学研究費補助金 若手研究 (B) 26750374 (伊藤 拓水)
- ・ 文部科学省 国立研究開発法人科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 個人型研究 (さきがけ)「疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療基盤技術の創出」(伊藤 拓水)

【ナノ粒子先端医学応用講座】

東京医科大学にて発足した産学連携講座であり、米国セルジーン社がスポンサーを務める。

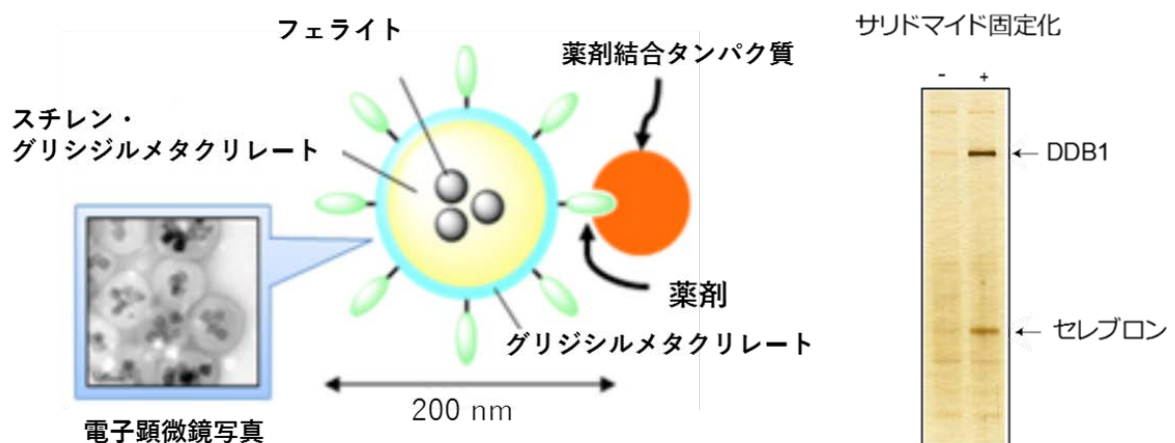


図1 磁性ナノアフィニティ微粒子とサリドマイド標的因子セレブロンの単離

(左) 磁性ナノアフィニティ微粒子 (FG ビーズ) の構造。磁性鉄であるフェライトをスチレンとグリシジルメタクリレート(GMA)の共重合体で被覆し、表面が GMA の重合体でコーティングされている。

(右) 半田特任教授および伊藤准教授は東京工業大学時代、FG ビーズを用いてサリドマイドの主要な標的因子としてセレブロンを世界に先駆けて単離・同定していた。DDB1 はセレブロンとサリドマイド結合因子として共精製された因子であるが、セレブロンと直接結合しており、サリドマイドとの相互作用は間接的である。

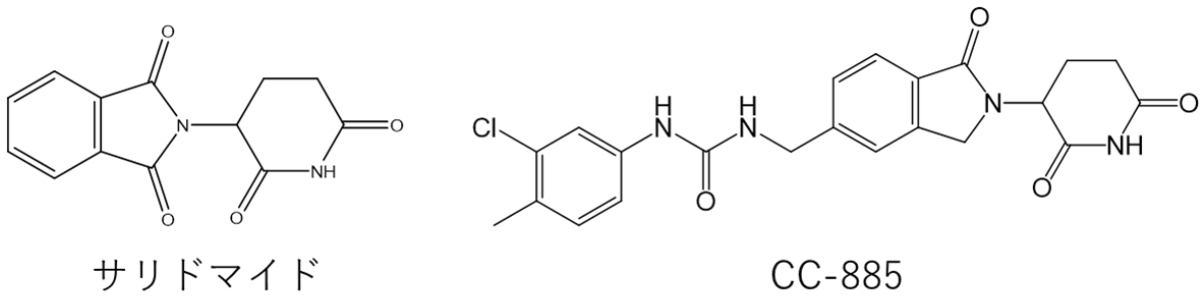


図2 サリドマイドおよび CC-885 の構造

CC-885 は、サリドマイドをベースに開発されており、関連する構造を有する。

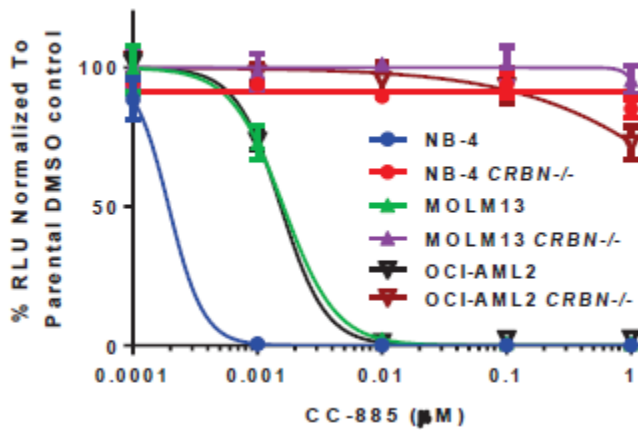


図3 CC-885 の AML への効果

ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 により CRBN 遺伝子を破壊した AML においては、CC-885 の効果はほとんど見られない。

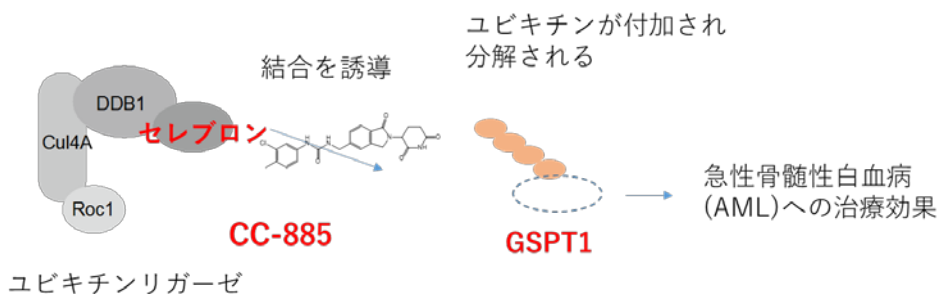


図4 CC-885 の GSPT1 分解を介した AML への作用のモデル

セレブロンに CC-885 が結合すると新たに GSPT1 と相互作用できるようになり、結果として GSPT1 は分解され、それが AML の治療効果につながる。

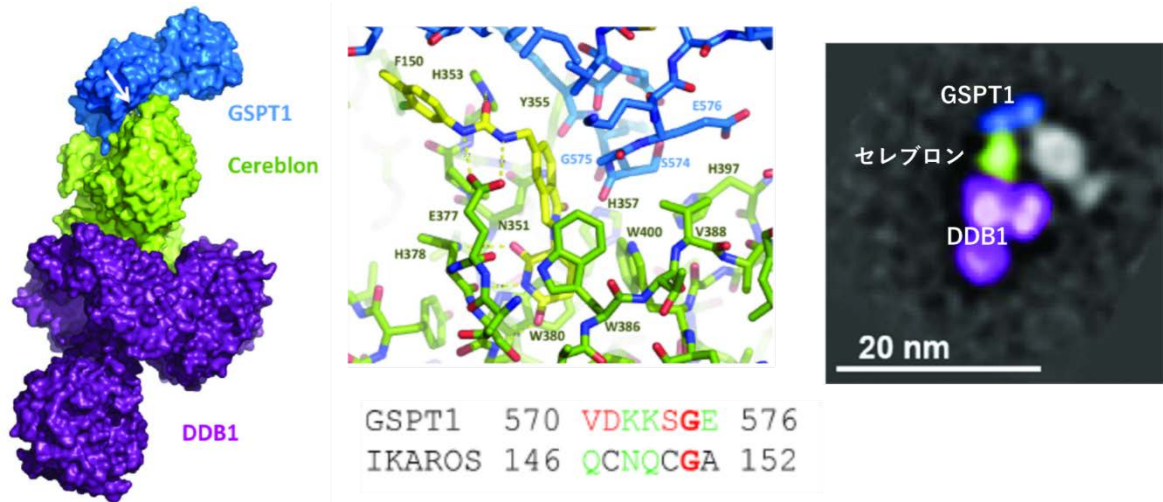


図5 構造生物学的解析から明らかになったセレブロン/DDB1-CC-885-GSPT1の構造

(左) X線結晶構造解析から明らかとなったセレブロン(Cereblon)/DDB1-CC-885-GSPT1複合体の構造。白い矢印がCC-885を示している。

(中央上) セレブロン(緑)、CC-885(黄色)、GSPT1(青)の相互作用の詳細。CC-885がセレブロンおよびGSPT1を結合させるための相互作用の場(interaction hotspot)を提供している。

(中央下) GSPT1と既知の基質であるイカロス(IKAROS)における分解に関わるアミノ酸配列の比較。両者ともグリシン(G)を有しており、このグリシンを別のアミノ酸に置換すると両社ともセレブロンとの相互作用が失われる。

(右) セレブロン/DDB1-CC-885-GSPT複合体について負染色電子顕微鏡で得られた像。白色はGSPT1を大量に発現させるために接続しているGST(Glutathione S-transferase)タンパク質。

【用語説明】

1. 磁性ナノアフィニティ微粒子

半田宏特任教授が東京工業大学在籍時代よりおよそ20年かけて開発した、薬剤に結合するタンパク質群を単離するための分子ツール。FGビーズ、もしくは半田ビーズと呼ばれる。粒径200nm(ナノメートル)の非常に小さな粒子であり、物理化学的に安定かつ、非特異的な吸着が非常に抑えられている。また磁気分離を可能とするため、遠心機の使用が不要である。本粒子を利用することにより、サリドマイド以外にもこれまでに多数の薬剤結合因子の単離に成功しており、数多く論文の形で報告されている。FGビーズは多摩川精機株式会社(<http://www.magneticnanoparticle.jp/jp/htdocs/index.html>)から購入可能である。

2. ユビキチンリガーゼ

ヒトが誕生、成長、死を迎えるように、タンパク質にも合成からその分解に至るまでの一生がある。生命活動を行っていくうえで特定の種類のタンパク質の分解は大変重要である。このプロセスに関わる酵素をユビキチンリガーゼと呼ぶ。この酵素は、分解すべきタンパク質(基質と呼ばれる)にユビキチンと呼ばれる廃棄処理を示すタグを付加する役割を果たす。

3. 急性骨髄性白血病(Acute Myeloid Leukemia, AML)

白血球の元になる細胞ががん化することにより骨髄における正常な細胞と入れ替わっていく難病。どの年齢層でもみられるが、成人の白血病としては特に多く知られている。

4. ゲノム編集技術

近年、着目されている技術であり、ゲノム DNA 上に存在する遺伝子を改変する技術。本技術の進展によりヒト細胞においても特定の遺伝子を欠損させて解析することが容易となった。「Zinc Finger Nuclease」、「TALEN」、「CRISPR/Cas9」などが知られる。CRISPR は Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats の略である。

5. タンパク質翻訳

生体内においてタンパク質は 10 万種類にも及ぶといわれているが、その合成は細胞内における、リボソームという装置が行う。ここで遺伝情報が保存されている DNA の写し (RNA) にあるタンパク質コードをリボソームが「翻訳」することによってタンパク質が合成される。本研究で登場する GSPT1 はその翻訳プロセスの最終段階の終結を担うことが知られている。

6. X 線結晶構造解析

結晶化させた薬剤とタンパク質の複合体に照射させた X 線の回折パターンを解析し、その結晶構造を決定すること。高解像度であれば、実際に薬剤がタンパク質にどのように結合するのかなど、相互作用の様式の詳細を厳密に明らかにすることが可能である。

○本研究に関する問い合わせ先

東京医科大学 ナノ粒子先端医学応用講座

TEL: 03-5323-3250

FAX: 03-5323-3251

半田 宏 特任教授

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

伊藤 拓水 准教授

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

○プレスリリースに関するお問い合わせ

東京医科大学 広報・社会連携推進課 日高・田崎

TEL: 03-3351-6141 (代表)