

令和 4 年 6 月 18 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08868

研究課題名（和文）ATLに対する個別化治療：MTAPを指標としたPRMT5阻害剤による治療の開発

研究課題名（英文）Development of personalized treatment for ATL with PRMT5 inhibitor using MTAP as an indicator

研究代表者

今泉 芳孝（Imaizumi, Yoshitaka）

長崎大学・原爆後障害医療研究所・准教授

研究者番号：40404305

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：成人T細胞白血病リンパ腫（ATL）患者の一部ではMethylothioadenosine phosphorylase（MTAP）の遺伝子欠損や発現低下が報告されている。他のがん種でもMTAP 遺伝子の欠損が報告されており、治療標的分子としてProtein arginine methyltransferase 5（PRMT5）が同定されている。本研究では、MTAP欠損/発現低下ATLに対するPRMT5阻害薬の効果を検証し、さらに新規の治療標的分子としてプロリン水酸化酵素PHD2を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ATLは難治性疾患であり新規治療法の開発が求められている。本研究では、MTAP欠損ATL細胞に対するPRMT5阻害薬の有効性を示した。さらに、網羅的解析によりPRMT5の標的分子としてPHD2を同定した。PHD2阻害薬は単独でATL細胞の増殖を抑制し、さらにPRMT5阻害薬との併用で相乗効果を示した。このことから、PRMT5阻害薬とPHD2阻害薬による併用療法がMTAPを指標としたATLに対する新規治療法となる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：In some of the patients with adult T-cell leukemia (ATL), defect of Methylothioadenosine phosphorylase (MTAP) gene or decreased expression of MTAP has already been reported in leukemic cells. Recently, Protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) has been detected as a target for MTAP-deficient tumor cells. In this study, we evaluated the effect of PRMT5 inhibitor for MTAP-deficient ATL, and detect prolyl hydroxylase 2 (PHD2) as a target of PRMT5 inhibitor for ATL.

研究分野：血液内科学

キーワード：ATL PRMT5 MTAP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

成人T細胞白血病リンパ腫(ATL)は極めて予後不良の造血器悪性腫瘍である。化学療法の強化による予後の改善が試みられてきたが、急性型/リンパ腫型のATL患者では現在でも生存期間中央値は1年に満たない。既存の化学療法の強化による予後の改善は困難と考えられており、新規治療薬の開発が求められている。

Methylthioadenosine phosphorylase (MTAP) はメチオニン代謝に関わる分子である。ATLの一部ではMTAP遺伝子の欠失を認めることが、我々を含む複数の研究で確認されている。MTAPを欠損したがん細胞ではその生存がProtein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) に依存すること、MTAP遺伝子を欠損した癌ではPRMT5が治療標的となることが報告されている。PRMT5はヒストン蛋白のアルギニンを対称的にジメチル化する酵素であるが、悪性腫瘍において様々な機能を有しており、治療標的分子として注目されている。

2. 研究の目的

ATLに対するPRMT5阻害剤の効果を検証し、MTAP遺伝子欠損・MTAP発現低下を指標とした新規の個別化治療を開発することが本研究の目的である。ATLは既存の治療法では極めて予後不良であり、治療成績の改善には新たな治療戦略の開発が必要である。遺伝子異常・分子病態に基づいた分子標的治療の開発が期待されている。ATLの網羅的遺伝子解析の結果、多様な遺伝子変異が同定されているが、一方で、大多数の症例で共通するような特定の遺伝子変異は同定されていない。したがって、単一の分子を標的とした薬剤でATL症例全体に著明な効果を発揮するのは困難なことが予想される。そこで、分子標的薬の効果を予測可能な分子マーカーの同定や、分子標的薬の作用機序を解析することにより新たな分子標的を同定し、相乗効果を期待できる併用治療の開発が望まれる。

3. 研究の方法

(1) ATLに対するPRMT5阻害剤の有効性の評価

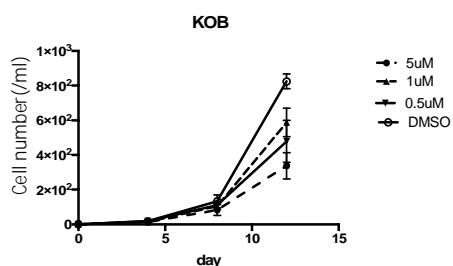
ATL細胞株におけるMTAP発現の検討

A) ATL細胞株でMTAPタンパクの発現低下を認めた(ウェスタンブロット法)。



PRMT5阻害剤のATL細胞株に対する効果

A) PRMT5阻害薬処理によって濃度依存的にATL細胞株(KOB)の増殖抑制効果を認めた。



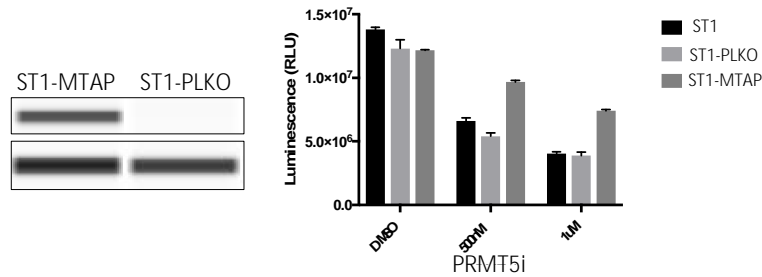
(2) PRMT5 阻害薬による ATL 細胞増殖抑制機序の解析

細胞死の検討

A) フローサイトメトリーを用いた解析により、PRMT5 阻害剤処理により ATL 細胞に apoptosis が誘導されることを確認した (図示なし)。

ATL に対する PRMT5 阻害薬の効果が MTAP 依存性であることの確認

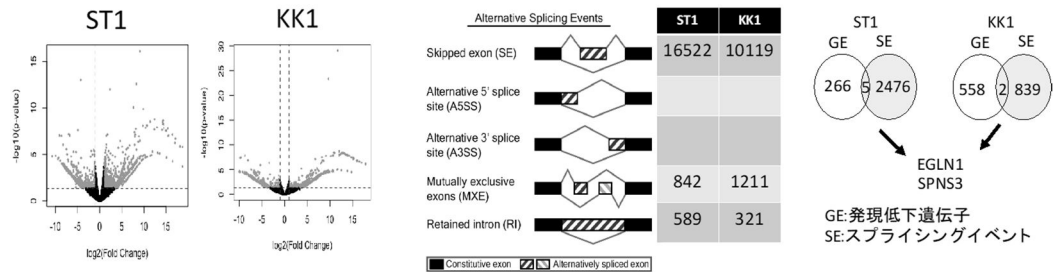
- A) ATL 細胞株 (ST1) にレンチウイルス (PLKO) を用いて MTAP を強制発現させた細胞株 ST1-MTAP を作成した。
- B) AT1-MTAP では PRMT5 阻害薬 (PRMT5i) による増殖抑制効果の低減を認め、MTAP の強制発現により PRMT5i の細胞増殖抑制効果がレスキューされることを確認した。



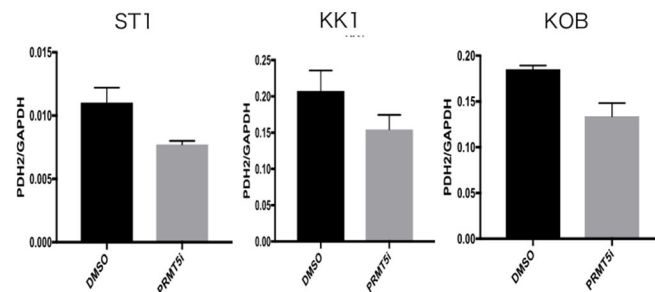
(3) PRMT5 阻害剤処理による細胞増殖抑制効果の分子機序の検討

RNA sequencing による遺伝子発現の網羅的解析 (GE) とスプライシングの異常の解析 (SE) を実施した。

A) 両解析について 2 つの細胞株を用いて検討を行い、共通する下流分子として下流遺伝子として EGLN1 (PHD2) と SPNS3 を同定した。



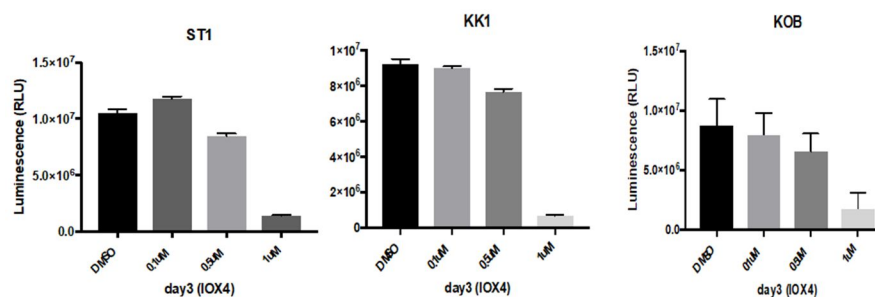
B) 細胞株において PRMT5 阻害薬 (PRMT5i) 処理による PHD2 の発現低下を確認した。



(4) 下流分子の新規標的分子としての評価

PHD2 阻害薬による ATL 細胞増殖抑制の検討

A) 細胞増殖抑制効果を Cell titer Glo を用いて測定したところ、PHD2 阻害薬 (PDH2i : IOX4) は 1 μ M で ATL 細胞株の増殖を抑制した。



(5) PRMT5 阻害薬と PHD2 阻害薬の併用効果の検討

PRMT5 阻害薬 (PRMT5i) と PHD2 (PHD2i) 阻害薬の併用による ATL 細胞の増殖抑制効果を検討した。

- A) PRMT5i 単剤と PHD2i 単剤、および併用した際の細胞増殖抑制効果を Cell titer Glo を用いて測定し、併用効果について Combination index(CI)を計算した。CI は<1 であり PRMT5i と PHD2i は相乗的に抗腫瘍効果を認めた (図示なし)。

4. 研究成果

我々は、ATL 細胞株を用いた検討によって、MTAP の発現低下と PRMT5 阻害薬による ATL 細胞の増殖抑制効果を確認した。その効果は、細胞死の誘導を介していた。さらに、PRMT5 阻害薬による ATL 細胞の増殖抑制効果に関わる分子機構を検討するために、網羅的な遺伝子発現解析と、スプライシング異常の解析を行い、PRMT5 の下流分子としてプロリン水酸化酵素 PHD2 を同定した。PHD2 阻害薬は単独で ATL 細胞の増殖を抑制し、さらに、PRMT5 阻害薬との併用で相乗的に ATL 細胞の増殖抑制効果を認めた。

本研究の結果、MTAP 欠損 ATL に対する PRMT5 阻害薬の増殖抑制効果を確認するとともに、その分子機序の一旦を明らかにした。さらに新規の治療標的として PHD2 を同定し、ATL に対する PRMT5 阻害薬と PHD2 阻害薬の併用療法の可能性を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yonekura K, Kusumoto S, Choi I, Nakano N, Ito A, Suehiro Y, Imaizumi Y, Yoshimitsu M, Nosaka K, Ohtsuka E, Hidaka M, Jo T, Sasaki H, Moriuchi Y, Ogata M, Tatetsu H, Ishitsuka K, Miyazaki Y, Ueda R, Utsunomiya A, Ishida T.	4. 巻 27
2. 論文標題 Mogamulizumab for adult T-cell leukemia-lymphoma: a multicenter prospective observational study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood Adv.	6. 最初と最後の頁 5133-5145
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/bloodadvances.2020003053.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto H, Itonaga H, Sawayama Y, Furumoto T, Fujioka M, Chiwata M, Toriyama E, Kasai S, Nakashima J, Horai M, Kato T, Sato S, Ando K, Taguchi J, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Miyazaki Y.	4. 巻 38
2. 論文標題 Treatment with mogamulizumab or lenalidomide for relapsed adult T-cell leukemia/lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: The Nagasaki transplant group experience	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hematol Oncol.	6. 最初と最後の頁 162-170
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/hon.2712.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Taniguchi H, Imaizumi Y, Takasaki Y, Nakashima J, Kato T, Itonaga H, Sato S, Sawayama Y, Ando K, Hasegawa H, Hata T, Moriuchi Y, Tsukasaki K, Miyazaki Y.	4. 巻 109
2. 論文標題 Clinical features at transformation in adult T-cell leukemia-lymphoma with smoldering and chronic types.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 426-439
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12185-019-02602-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto H, Itonaga H, Sawayama Y, Kojima A, Chiwata M, Fujioka M, Kitanosono H, Horai M, Miyazaki T, Shiraiishi H, Imaizumi Y, Yoshida S, Hata T, Yamano Y, Miyazaki Y.	4. 巻 113
2. 論文標題 Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia/lymphoma with HTLV-1-associated myelopathy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 765-769
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12185-020-03075-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 中島 潤, 今泉 芳孝, 坂本 光, 鳥山 愛生, 北之園 英明, 加藤 文晴, 蓬莱 真喜子, 牧山 純也, 佐藤 信也, 安東 恒史, 澤山 靖, 吉田 真一郎, 波多 智子, 森内 幸美, 宮崎 泰司
2. 発表標題 再発・難治成人T細胞白血病リンパ腫に対するmogamulizumab単剤療法
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 加藤 文晴, 今泉 芳孝, 北之園 英明, 坂本 光, 佐藤 信也, 安東 恒史, 澤山 靖, 波多 智子, 吉田 真一郎, 宮崎 泰司
2. 発表標題 再発難治性ATLに対するレナリドミド単剤療法
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakashima J, Imaizumi Y, Taniguchi H, Ando K, Iwanaga M, Sato S, Sawayama Y, Hata T, Yoshida S, Moriuchi Y, Miyazaki Y
2. 発表標題 Clinical Factors to Predict Outcome After Mogamulizumab Monotherapy in Adult T-Cell Leukemia- Lymphoma.
3. 学会等名 The 10th JSH International Symposium 2019 in Ise-shima (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田 悠一, 今泉 芳孝, 安東 恒史, 小林 裕児, 一瀬 将広, 蓬莱 真喜子, 佐藤 信也, 澤山 靖, 新野 大介, 波多 智子, 宮崎 泰司
2. 発表標題 骨髓線維化を伴い汎血球減少で発症した成人T細胞白血病リンパ腫.
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂本 光、今泉芳孝、新野大介、松井昂介、蓬萊真喜子、佐藤信也、安東恒史、澤山 靖、波多智子、大島孝一、宮崎泰司
2. 発表標題 日和見感染後に発症したATLとEBV陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫の合併例
3. 学会等名 第6回日本HTLV-1学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北之園 英明、安東 恒史、今泉 芳孝、小林 裕児、三嶋 博之、木下 晃、田口 正剛、坂本 光、加藤 文晴、佐藤 信也、澤山 靖、波多智子、長谷川 寛雄、吉浦 孝一郎、柳原 克紀、宮崎 泰司
2. 発表標題 Combination therapy of PRMT5 inhibitor and PHD2 inhibitor (I0X4) for adult T-cell leukemia/lymphoma
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今泉芳孝
2. 発表標題 ATL治療の進歩～化学療法から抗体療法、新規治療薬まで
3. 学会等名 第7回日本HTLV-1学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	安東 恒史 (Ando Koji) (90571357)	長崎大学・原爆後障害医療研究所・助教 (17301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------