

令和 5 年 4 月 27 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08756

研究課題名（和文）全ての慢性骨髄性白血病患者の治癒を目指した新規薬剤の開発と免疫状態の解明

研究課題名（英文）Development of new drugs and elucidation of immunity to cure all chronic myeloid leukemia patients

研究代表者

木村 晋也（Kimura, Shinya）

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：80359794

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）：経口可能な新規脱メチル化剤OR-2100が、慢性骨髄性白血病（CML）細胞に対して有効で有ること、さらに再発の原因となるCML幹細胞にも有効なことを発見した（Cancer Lett 2022）。また佐賀大学の症例を用いた検討で、TKI服用時のCML細胞の減少には主にNK細胞免疫が、そしてTFR維持にはT細胞免疫が重要なことを見出した（Mol Cancer Ther 2021）。さらに3つの臨床試験参加者から得た検体を用い、NK細胞のKIRおよびHLAの遺伝子多型を再検討し、これらの組み合わせのTFR維持への重要性を明らかにした（論文投稿中）。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CMLはTKIによって、ほぼ死なない病気にはなったが、長期の服用による有害事象や高コストが問題になってきた。今回の研究成果は、より多くのCML患者において、TKIを安全に中止することを可能にすると期待される。本成果は、CML患者個人のQOLを高めるだけでなく、医療経済にとっても有益な情報を与えるものである。

研究成果の概要（英文）：OR-2100, a novel orally available demethylating agent, was found to be effective against chronic myeloid leukemia (CML) cells and also against CML stem cells that cause relapse (Cancer Lett 2022). In a study of patients at Saga University, we found that NK cell immunity was mainly responsible for the decrease in CML cells when taking TKIs, and T cell immunity was important for the maintenance of treatment free remission (TFR) (Mol Cancer Ther 2021). Using samples from three TKI stop clinical trial participants, we re-examined the genetic polymorphisms of NK cell KIR and HLA and determined the importance of these combinations for TFR (manuscript in submission).

研究分野：血液内科学

キーワード：慢性骨髄性白血病 チロシンキナーゼ 治療不要寛解 メチル化

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

慢性骨髄性白血病 (CML) は、イマチニブなどの ABL チロシンキナーゼ阻害剤 (TKIs) の出現によって、健常人とほぼ同じ生命予後が期待できるようになったが、長期服用による有害事象や高コストが問題となってきた。イマチニブの中止試験によって、2年以上深い分子遺伝学的寛解 (DMR) を維持できた患者の約 40% はイマチニブを中止しても再発しない無治療寛解 (TFR) を維持できることが報告された (Mahon et al. Lancet Oncol 2010)。しかしイマチニブ服用 6 年で DMR に達する患者は 50% 程度である。したがって、CML と診断された患者がイマチニブを中止できる可能性は  $50\% \times 40\% = 20\%$  である。つまり「80%の患者はイマチニブを止められない」ことを意味する。TKIs 中止後の再発は、CML 幹細胞の残存が関与していると考えられている。また我々はダサチニブ中止試験から、NK 免疫が TFR の維持に関与していると報告していた (Lancet Haematol, 2015)。このような背景から「CML 患者は TKIs 中止後、なぜ再発するのか？」そして「どうすれば再発が無くせるのか？」という課題が出てきていた。

## 2. 研究の目的

全ての CML 患者を TFR に導く治療法を開発することを目的とする研究である。そのために CML 細胞、特に TKIs が無効な CML 幹細胞に有効な薬剤の開発、CML における免疫状態を明らかにする。

## 3. 研究の方法

本研究では、我々が開発にしている経口可能な新規 DNA メチル化阻害剤 OR-2100 の CML 細胞、特に CML 幹細胞に対する効果と共に、CML 患者において NK 免疫および T 細胞免疫を統合的に検討する。

OR-2100 の CML 細胞、特に CML 幹細胞に対する *in vitro* 効果に関しては、CML 細胞株に OR-2100 を曝露させ、細胞増殖抑制効果、アポトーシス誘導効果について検討する。次いで各種の TKIs 耐性 CML 株での効果を検討する。また OR-2100 暴露時の遺伝子発現リプログラムについて、遺伝子発現マイクロアレイ解析および網羅的 DNA メチル化解析を行ない、増殖抑制に関与し得る遺伝子を同定し、その機能解明を進める。OR-2100 の *in vivo* 効果に関しては、BV173 あるいは K562 を高度免疫不全の BRJ マウスに移植し、OR-2100 を投与し、毒性および生存期間延長の有無について検討する。*In vivo* におけるメチル化阻害のサロゲートマーカーとして、OR-2100 投与マウスから CML 細胞を回収し、LINE-1 アッセイ、DNMT-1 量を測定する。また既に確立しているマウス CML 幹細胞に対する薬剤の効果を評価できる系を用いて、OR-2100 の CML 幹細胞に対する効果を検証する。

CML 患者における免疫については、本研究代表者の木村晋也が、研究責任者を務めた 3 つの TKI 中止試験 (DOMEST 試験、DADI 試験、First DADI 試験) に参加した患者から、再度同意を得たうえで、末梢血と口腔粘膜細胞を収集し、NK 細胞上の killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) および HLA 遺伝子の多型を次世代シーケンサーで詳細に解析する。

## 4. 研究成果

我々は、OR-2100 が、*in vitro* および *in vivo* において CML 細胞に対して有効で有ること、さ

らに再発の原因となる CML 幹細胞にも有効なことを発見し、その成果は 2022 年に Cancer Letters に掲載された。CML に並行して行ってきた研究では、OR-2100 が成人 T 細胞白血病 (Blood 2020) および骨髄異形成症候群/急性骨髄性白血病 (Mol Cancer Ther 2021)、またその耐性機序にデオキシシチジンの発現低下が関与することを報告した (Int J Cancer 2022)。さらに OR-2100 と BCL-2 阻害剤 (Cancer Res Commun 2023)、あるいは HDAC 阻害剤 (Blood Adv 2023) の併用が各種白血病細胞に有効であることを報告した。これらの成果を基盤に、2022 年 8 月から OR-2100 の骨髄異形成症候群に対する臨床第 I 相試験を開始した。本治験が順調に進めば、CML に対する治験も推進していく予定である。

また CML の治療に有効な免疫環境に関しては、佐賀大学の症例を用いた検討で、TKI 服用時の CML 細胞の減少速度には主に NK 細胞免疫が、そして TFR の維持には T 細胞免疫が重要なことを見出し、2021 年 Molecular Cancer Therapeutics 誌に報告した。さらに 3 つの臨床試験参加者から得た検体を用い、NK 細胞の KIR および HLA の遺伝子多型を再検討し、これらの組み合わせの TFR 維持への重要性を解析した (論文投稿中)。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kamachi Kazuharu, Ureshino Hiroshi, Watanabe Tatsuro, Yoshida Nao, Yamamoto Yuta, Kurahashi Yuki, Fukuda-Kurahashi Yuki, Hayashi Yoshihiro, Hirai Hideyo, Yamashita Satoshi, Ushijima Toshikazu, Okada Seiji, Kimura Shinya	4. 巻 526
2. 論文標題 Targeting DNMT1 by demethylating agent OR-2100 increases tyrosine kinase inhibitors-sensitivity and depletes leukemic stem cells in chronic myeloid leukemia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 273 ~ 283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2021.11.032	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 Ureshino Hiroshi, Kurahashi Yuki, Watanabe Tatsuro, Yamashita Satoshi, Kamachi Kazuharu, Yamamoto Yuta, Fukuda-Kurahashi Yuki, Yoshida-Sakai Nao, Hattori Naoko, Hayashi Yoshihiro, Kawaguchi Atsushi, Tohyama Kaoru, Okada Seiji, Harada Hironori, Ushijima Toshikazu, Kimura Shinya	4. 巻 20
2. 論文標題 Silylation of Deoxynucleotide Analog Yields an Orally Available Drug with Antileukemia Effects	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Therapeutics	6. 最初と最後の頁 1412 ~ 1421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1535-7163.MCT-20-1125	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 Yoshida Sakai Nao, Watanabe Tatsuro, Yamamoto Yuta, Ureshino Hiroshi, Kamachi Kazuharu, Kurahashi Yuki, Fukuda Kurahashi Yuki, Kimura Shinya	4. 巻 150
2. 論文標題 Adult T cell leukemia lymphoma acquires resistance to <scp>DNA</scp> demethylating agents through dysregulation of enzymes involved in pyrimidine metabolism	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1184 ~ 1197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.33901	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 Masuda Tatsuya, Kimura Shinya, Sugiyama Hiroshi, Kamikubo Yasuhiko et al.	4. 巻 113
2. 論文標題 RUNX1 transactivates <i>BCR ABL1</i> expression in Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 529 ~ 539
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15239	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 Murai Kazunori, Ureshino Hiroshi, Kimura Shinya, et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Low-dose dasatinib in older patients with chronic myeloid leukaemia in chronic phase (DAVLEC): a single-arm, multicentre, phase 2 trial	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Lancet Haematology	6. 最初と最後の頁 e902 ~ e911
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/S2352-3026(21)00333-1	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 Ureshino H, Shindo T, Tanaka H, Saji H, Kimura S	4. 巻 20
2. 論文標題 HLA Polymorphisms Are Associated with Treatment-Free Remission Following Discontinuation of Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Therapeutics	6. 最初と最後の頁 142-149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1535-7163.MCT-20-0336	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 Watanabe T, Yamashita S, Ureshino H, Kamachi K, Kurahashi Y, Fukuda-Kurahashi Y, Yoshida N, Hattori N, Nakamura H, Sato A, Kawaguchi A, Sueoka-Aragane N, Kojima K, Okada S, Ushijima T, Kimura S, Sueoka E.	4. 巻 136
2. 論文標題 Targeting aberrant DNA hypermethylation as a driver of ATL leukemogenesis by using the new oral demethylating agent OR-2100	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 871-874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood.2019003084	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 Yamazaki K, Inagaki N, Moldaver D, Viana R, Kimura S	4. 巻 111
2. 論文標題 Budget impact analysis of treatment-free remission in nilotinib-treated Japanese chronic myeloid leukemia patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2526-2535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14430	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 該当する

1. 著者名 Kimura S, Imagawa J, Murai K, Hino M, Kitawaki T, Okada M, Tanaka H, Shindo M, Kumagai T, Ikezoe T, Uoshima N, Sato T, Watanabe R, Kowata S, Hayakawa M, Hosoki T, Ikeda K, Kobayashi T, Kakinoki Y, Nishimoto T, Takezako N, Shibayama H, Takaori-Kondo A, Nakamae H, Kawaguchi A, Ureshino H, Sakamoto J, Ishida Y	4. 巻 7
2. 論文標題 Treatment-free remission following first-line dasatinib in patients with chronic myelogenous leukaemia: a single-arm, multicentre, phase 2 trial	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Lancet Haematology	6. 最初と最後の頁 218-225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/S2352-3026(19)30235-2	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 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Shinya Kimura
2. 発表標題 Chronic myeloid leukemia, Achievements and Limitations of tyrosine kinase inhibitors, and “Beyond”
3. 学会等名 Korean Society of Hematology (KSH) International Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村晋也
2. 発表標題 Issues and future directions of academia-pharma collaborations for novel drug development
3. 学会等名 日本癌学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村晋也
2. 発表標題 経口可能なメチル化阻害剤の開発
3. 学会等名 日本がん分子標的治療学会TRワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村晋也
2. 発表標題 Chronic myeloid leukemia, Achievements and Limitations of tyrosine kinase inhibitors, and “Beyond”
3. 学会等名 日本癌治療学会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 蒲池和晴、木村晋也
2. 発表標題 A Novel Oral Demethylating Agent, OR-2100, in Combination with Tyrosine Kinase Inhibitors Overcomes Resistance in Chronic Myeloid Leukemia
3. 学会等名 22nd Annual John Goldman E-Conference on Chronic Myeloid Leukemia: Biology and Therapy（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 血液がんの診断および治療方法	発明者 木村晋也、渡邊達郎、山本雄太、倉橋祐樹、酒向孫市、脇	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-102904	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 DNMT阻害剤の用途	発明者 木村晋也、渡邊達郎、嬉野博志、蒲池和晴、酒向孫市、倉	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/035945	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 成人T細胞白血病 / リンパ腫の検出方法	発明者 木村晋也、末岡榮三朗、渡邊達郎、嬉野博志	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/008206	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

佐賀大学医学部 血液・呼吸器・腫瘍内科  
<http://www.saga-hor.jp/main/>

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	安藤 寿彦  (Ando Toshihiko)  (30363097)	佐賀大学・医学部・准教授    (17201)	
研究分担者	服部 奈緒子  (Hattori Naoko)  (30611090)	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・研究員    (82606)	
研究分担者	久保田 寧  (Kubota Yasushi)  (60570413)	埼玉医科大学・医学部・教授    (32409)	

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