

変異チロシンキナーゼを標的とした 白血病治療薬の開発

研究期間 平成17年度～平成21年度(予定)

研究体制

総括 直江 知樹[名古屋大学]

※平成21年度における研究体制

白血病の新薬を開発

Project
KeyWord
キナーゼ

急性骨髄性白血病 (AML)

白血病のなかで最も多く、毎年10万人あたり発症は3人程。化学療法での完治率は30%程度で、新たな治療法が望まれている。最近、FLT3変異の認められるAMLは予後不良であることが明らかになっている。

FLT3

受容体型チロシンキナーゼの一種で、幼若造血細胞の細胞膜上に発現し、血液細胞の分化・増殖に関与。1996年日本でFLT3遺伝子の変異が発見された。変異FLT3分子はそのリガンド非依存性に活性化される。

キナーゼ阻害剤

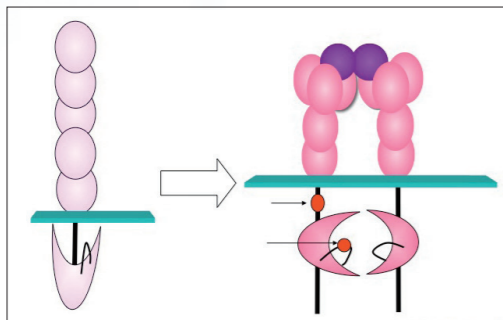
「がん」には様々なチロシンキナーゼの活性化変異が見出されており、この変異分子を標的として開発された代表例が、慢性骨髄性白血病におけるBCR-ABLに対するキナーゼ阻害剤イマチニブである。

1

研究の背景・意義

FLT3変異の発見から13年

受容体型チロシンキナーゼであるFLT3分子は主に幼若造血細胞の細胞膜上に発現し、血液細胞の分化・増殖と造血幹細胞の自己複製における重要なシグナル伝達機構に関与している。1996年京都府立医大グループがFLT3遺伝子の傍膜貫通領域における部分的重複変異を発見し、2000年に我々名古屋大学グループがキナーゼ領域の点変異を発見した。さらに我々は、FLT3変異は急性骨髄性白血病の約1/3に認められ予後不良因子となること、変異FLT3は常に活性化し細胞内に増殖や生存のシグナルを送り続けるという分子メカニズムを報告し、世界の注目を集めた。FLT3分子は細胞表面に発現し、リガンド(図では紫)結合によって二量体を形成し、互いにチロシン残基をリン酸化する。傍膜領域でのinternal tandem duplication (ITD、矢印)、あるいは活性化ループ領域での点変異(矢印)は、FLT3の恒常的リン酸化をもたらす、細胞質内にシグナルを伝達する。



▲FLT3分子のリガンド結合による二量体化、あるいはITD変異や点変異(矢印)は、FLT3の恒常的リン酸化をもたらす。

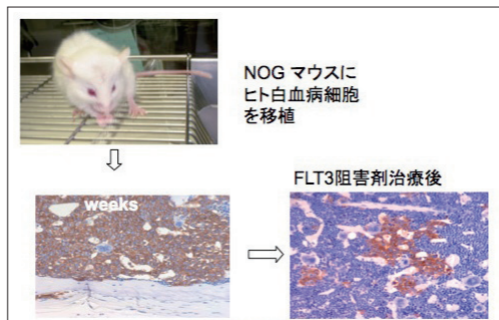
2

研究プロジェクトの目標

安全で有効なFLT3キナーゼ阻害剤の開発

化合物ライブラリーから以下の基準を満たす物質をスクリーニングすることを目的とした。このため、1)FLT3に特異性が高いこと、2)どのような変異FLT3も抑制出来ること、3)1microM以下の濃度で有効であること、4)既存の化学構造とは異なり、有害な官能基などを持たないこと、5)経口吸収され血液中で安定かつたんばく結合率が低いこと、6)動物レベルでは臓器障害をもたらさないこと、6)臨床検体にも有効であること、6点を目標とした。

第二点目は、ヒトに出来るだけ近い条件での治療モデル系を作成することである。このためには、1)ヒト白血病細胞コロニーアッセイでの評価を行うこと、2)ヒト白血病細胞移植NOGマウスでの評価を行うこと、3)薬物投与患者血清でのバイオプラズマアッセイ系を確立すること、4)患者体内でFLT3キナーゼが抑制されていることをモニター出来るサロゲートマーカー系を確立すること、4点を目標とした。



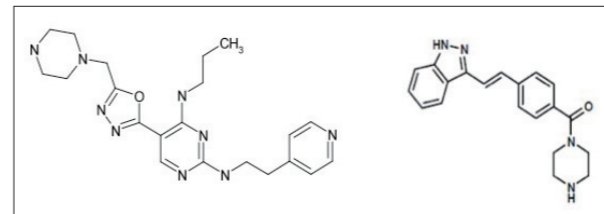
▲ヒト白血病細胞を移植したNOGマウスにキナーゼ阻害剤を投与し、その有効性・安全性・マウス正常骨髄に対する影響性を解析。

3

研究プロジェクトの成果

FLT3に対する阻害剤二種を発見

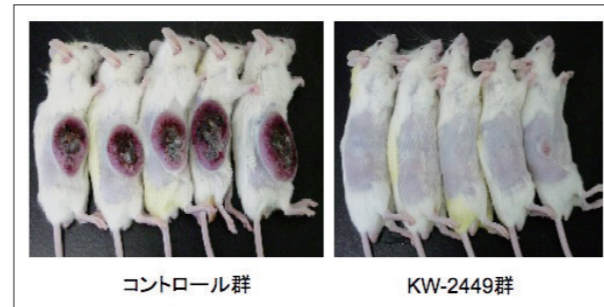
スクリーニングの結果、変異FLT3分子に対して高い阻害活性を有する新規低分子化合物FI-700ならびにKW-2449を得た。両者とも酵素アッセイ系ならびに細胞系において、FLT3キナーゼに対し強い阻害活性を示すとともに、後者はABLキナーゼやAuroraキナーゼにも阻害活性を有した。



▲FI-700とKW-2449の構造

ヒト白血病細胞株移植マウスへの治療効果

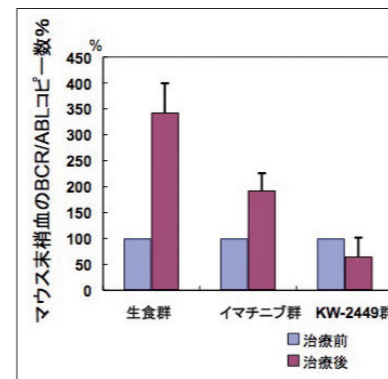
両者とも、変異FLT3陽性細胞株に対して、優れた増殖抑制効果を示し、マウス白血病モデルにおいて、いずれも骨髄抑制をきたすことなく変異FLT3発現マウス細胞数を減少させ、白血病の治療が得られた。さらに、FLT3変異陽性のヒト急性骨髄性白血病臨床検体に対しても選択的な増殖阻害効果を示し、正常造血前駆細胞に対しては、コロニー形成数は50%以上を維持し、血球分化能も維持された。



▲免疫不全マウス皮下へヒト白血病細胞株MOLM13を移植。KW-2449治療によって完全な腫瘍の縮退が得られた。

KW-2449のT315I変異ABLへの効果

KW-2449は、T315I変異BCR-ABL陽性ヒト白血病細胞株に対しても、増殖阻害効果を示した。さらにT315I変異BCR-ABL陽性ヒト白血病細胞の免疫不全マウスへの移植モデルにおいて、KW-2449はイマチニブと比較して有意に骨髄及び末梢血中の白血病細胞を減少させた。



た。従って、KW-2449は第二世代Ablキナーゼ阻害剤耐性における耐性克服薬になる可能性が示唆された。

▲免疫不全マウスに慢性骨髄性白血病急転患者からの白血病細胞を移植しKW-2449で治療。イマチニブ群に比して有意に減少した。

参考文献

Shiotsu Y, Kiyoi H, Ishikawa Y, Tanizaki R, Shimizu M, Umehara H, Ishii K, Mori Y, Ozeki K, Minami Y, Abe A, Maeda H, Akiyama T, Kanda Y, Sato Y, Akinaga S, Naoe T. KW-2449, a novel multi-kinase inhibitor, suppresses the growth of leukemia cells with FLT3 mutations or T315I-mutated BCR/ABL translocation. Blood. 2009 Jun 18. (on line)

Ishida H, Isami S, Matsumura T, Umehara H, Yamashita Y, Kajita J, Fuse E, Kiyoi H, Naoe T, Akinaga S, Shiotsu Y, Arai H. Novel and orally active 5-(1,3,4-oxadiazol-2-yl)pyrimidine derivatives as selective FLT3 inhibitors. Bioorg Med Chem Lett. 2008 Oct 15;18(20):5472-7.

Kiyoi H, Shiotsu Y, Ozeki K, Yamaji S, Kosugi H, Umehara H, Shimizu M, Arai H, Ishii K, Akinaga S, Naoe T. A novel FLT3 inhibitor FI-700 selectively suppresses the growth of leukemia cells with FLT3 mutations. Clin Cancer Res. 2007 13:4575-82.

4

実用化にあたっての 今後の課題及び研究方針

臨床開発が始まっているKW-2449

我々は本剤のFLT3変異白血病治療におけるPOC (proof of concept) が証明されたと考えている。これらの結果に基づき、協和発酵キリン株式会社は米国において第一/二相試験を施行中であり、臨床応用への展開を進めている。将来、日本でも臨床試験へと進める予定である。また、現在は前臨床試験の段階であるが、既存の全ての阻害剤が無効なT315I変異を含む難治性のフィラデルフィア陽性白血病に対する耐性克服薬としても期待がもたれる。一方ごく最近、Cephalon社は、FLT3活性化変異を発現している再発急性骨髄性白血病(AML)患者のピボタル試験でlestaurtinib (CEP-701)の生存ベネフィットを示せなかったと発表したとのニュースがインターネットに流れた。詳細は未発表であるが、化学療法に対する上乗せ効果がないとすれば、その理由は、副作用の増強にあるかもしれなし。学会等を通じて情報の収集を行うと共に、基礎的にもさらに検討していきたい。

臨床開発されたFLT3阻害剤	薬剤名	FLT3 (IC50 nM)	Stage	Targets
第一世代FLT3阻害剤	MLN513	220	P-II	PDGFR, KIT
	CEP-701	2-3	P-III	PKC, TRK, RET, KIT, PDGFR
	PKC412	<10	P-III	PKC, KIT, KDR, FGFR, PDGFR
	sunitinib	<10	P-II	KDR, KIF, PDGFR, RET,
	sorafenib	2.8	P-II	RAF, KDR, KIT, PDGFR
第二世代FLT3阻害剤	ABT-869	4	P-I	KDR, FLT1
	CHI-258	1	P-I	KIT, KDR, FGFR
	KW-2449	6.6	P-III	ABL, FGFR, Aurora
	AC220	<1	P-I	KIT, FMS, RET, PDGFR

▲臨床開発されたFLT3阻害剤を示す。世界的に多くの阻害剤が競合している。