

日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業 事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 核内移行する抗体への RNA ポリメラーゼ II 阻害分子の結合による
がん分子標的療法の開発

(英語) Molecular target therapy against cancers using nuclear
transportable-antibody conjugated with RNA polymerase II
inhibitor.

研究開発実施期間: 令和3年10月1日～令和6年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 山田 健人
(英語) Taketo Yamada

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 学校法人埼玉医科大学・医学部 病理学・教授
(英語) Department of Pathology, Saitama Medical University Professor

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

目的

がん細胞に広く発現する CD26 に対する ADC (Y-TR-1) は、がん細胞特異的に核内移行するヒト化 MoAb (世界初) へ RNA polymerase II (POLII) 阻害剤を結合させた ADC であり、抗体自体が CD26 核内移行を介して POLII 転写抑制し直接的な抗がん作用を発揮するとともに POLII 阻害剤が強力な抗癌効果を発揮する。これまで POLII 阻害剤は、毒性が極めて強く抗がん剤とはなりえなかったが、核内移行 ADC としたため、POLII 阻害剤を核内へ効果的に輸送でき、サイトゾール中、及び血液中等での POLII 阻害剤濃度を低く抑えることで、高い安全性を有する有効な抗がん剤となることが期待される。本研究は Y-TR-1 について、薬効薬理の検証、薬理動態解析、安全性試験の実施を通し、本 ADC の難治性がんおよび希少がん (中皮腫等) に対する有用性を検証し、その検証結果、並びに非臨床試験パッケージデータを揃え、かつ臨床試験の実施体制を整えることで、CD26 陽性難治性がんに対する治験の開始を目指すものである。

本研究のこれまでの成果

1) 化合物の最適化：YS110(GMP)と POLII 阻害剤 triptolide (非 GLP) から Y-TR-1 の合成条件の検討を行い、合成効率 71%、DAR 4.93、単量体 97%、free TR-1 0.55%、エンドキシン 0.1EU/mg 以下での合成が可能となった。GLP 合成に向けて Triptolide 中間体 (TR-1 1.5g) 合成を行い、純度 99%で合成に成功した。これらの研究活動を通して、GLP、GMP 規格での原薬合成・供給に向けた体制を確立することができた。

2) 製造、製剤関連：上記の合成条件で、非 GLP の Y-TR-1 (1.5g)を合成 (WuXi 社へ委託) し、以下の薬効試験および毒性予備試験に使用した。

3) 薬効関連：生体内外における抗腫瘍活性評価を進め、ヒト白血病 Karpas299 細胞株では、マウス移植当日から Y-TR-1 投与した場合には、最低濃度群 0.1mg/kgwt にて腫瘍形成がほぼ完全に抑制され、また腫瘍が 150mm³ に成長してから Y-TR-1 投与した場合にも最低濃度群 0.1mg/kgwt にて腫瘍の 90%縮小を示した (ハムリー社委託)。細胞株 (中皮腫 H226,肺癌 NIH-H1993, 大腸癌 RKO) では、30mg/kgwt にて腫瘍形成がほぼ抑制された (ハムリー社、CrownBio 社委託)。一方、CD26 発現ヒト正常細胞では細胞傷害作用は見られなかった。Y-TR-1 の作用機序を解析し、Y-TR-1 は細胞膜 CD26 に結合後、ラフト・カベオリン経路で細胞質エンドゾームから核内へ移行するが、CD26C 末端 30 アミノ酸が核移行に必須であり、CD26 抗原決定基に依存することを明らかにした。がん細胞での核移行 CD26 との会合検証から importin・VOR 複合体分子を見出した。また Y-TR-1 が核内で RNA polymerase II(POL II)を直接抑制していることを生細胞で証明するために、活性型 POL II 抗体発現ベクターのがん細胞への遺伝子導入を行ない POL II 活性の定量的観察に成功した。

4) ADME、毒性関連：ペイロードである triptolide の LC-MS/MS 測定系並びに抗 YS110 抗体モノクローナル抗体と抗 TR-1 モノクローナル抗体の開発により Y-TR-1 の ELISA 測定系を確立した (積水メディカル委託)。YS110 は齧歯類とは交差しないためカニクイザル単回漸増試験 (雄雌各 1 匹ずつ、3, 10, 30, 90mg/kgwt 漸次増量、ボゾリサーチ社委託) を行った。その結果、雄雌共に軽度の血小板増加とヘモグロビン低下を認めた以外に全ての臓器で毒性や病理学的変化を認めなかった。また開発に成功した各種測定法により、カニクイザル・ヒト血清中 Y-TR-1 とそのペイロード triptolide、ペイロードが外れた YS110 抗体の測定系を確立した。

5) 実用化 (企業導出等)、知財関連：Y-TR-1 の特許は、日本、EU、米国、中国、ロシア、インド、シンガポールで承認され、韓国で審査中である。

意義

本 ADC (Y-TR-1)は、がん細胞特異的に核内移行するヒト化モノクローナル抗体に、これまで毒性が強く臨床応用できなかった POLII 阻害剤を結合させたユニークな ADC である。また POLII サブユニットである POLR2A 遺伝子がヘテロ欠失するがんが知られており、これらのがん細胞では POLII 阻害剤に高感受性であり (Nature 520:626,2015)、本 ADC (Y-TR-1)はこの POLR2A 欠失がん細胞に極めて有効であること、ADC が IgG1 由来であり、本来の免疫機構によるがん細胞への細胞障害能 (ADCC(Antibody-Dependent-Cellular-Cytotoxicity) や CDC (Complement-Dependent Cytotoxicity)) があることから、がん細胞に対して多段階での作用機序があるため、相乗・相加作用が期待されるとともに、副作用の低減化ならびに薬剤耐性や治療抵抗性の原因と考えられているヒトがんの多様性・複雑性を乗り越える可能性があることと期待される。

ADC (Y-TR-1) against CD26 antigen, which is widely expressed in cancer cells, is a humanized MoAb YS110 (first in the world) that translocates to nucleus of cancer cells and is conjugated with an RNA polymerase II (POLII) inhibitor. YS110 antibody itself suppresses POLII transcription through CD26 nuclear translocation and has a direct anticancer effect, and the POLII inhibitor exerts a strong anticancer effect. POLII inhibitors were extremely toxic and could not be used as anticancer reagents clinically. Y-TR-1 is expected to be an effective anticancer agent with high safety by keeping low concentration of POLII inhibitor in patient sera by cancer specific manner of nuclear translocation of Y-TR-1. In this study, Y-TR-1 is verified the efficacy for refractory cancers and rare cancers (such as mesothelioma) through pharmacological verification, pharmacokinetic analysis, and toxicity examination. We aim to start clinical trials for CD26-positive refractory cancer by arranging the verification results, non-clinical trial package data, and establishing a clinical trial implementation system. The results are as follows.

Compound optimization: Synthesis conditions for Y-TR-1 were examined from YS110 (GMP) and POLII inhibitor triptolide (non-GLP). As a result, synthesis efficiency 71%, DAR 4.93, monomer 97%, free TR-1 Synthesis of 0.55% and 0.1EU/mg of endotoxin was possible. Triptolide intermediate (TR-1 1.5 g) was synthesized for GLP grade with a purity of 99%. It was established a system for synthesizing and supplying APIs under GLP and GMP standards.

Manufacturing and formulation: Non-GLP Y-TR-1 (1.5 g) was synthesized under the synthesis conditions described above, and used for the following efficacy tests and preliminary toxicity tests.

Medicinal effects: Evaluation of antitumor activity in vivo and in vitro was progressed. In the human T-cell leukemia Karpas299 cell line, when Y-TR-1 was administered to immunodeficient mice from the day of transplantation, tumor formation was almost completely suppressed at the lowest concentration group of 0.1mg/kgwt. Y-TR-1 administration after tumor growth to 150mm³ showed a 90% tumor reduction at the lowest concentration group of 1 mg/kgwt. In the mesothelioma cell line H226, lung carcinoma cell line NIH-H1993, colon carcinoma cell line RKO, tumorigenesis was weakly suppressed at 30 mg/kgwt. The analysis of molecular mechanism of Y-TR-1 function was done. As a result, after binding to CD26 on cell membrane, Y-TR-1 reaches endosomes via raft-caveolin pathway and translocates into nucleus. We clarified that it is essential for nuclear translocation and depends on the antigenic determinant, intermediate region of CD26. Furthermore, we found importin and VOR complex molecules as CD26-associated molecules in nucleus. In order to demonstrate in living cells that Y-TR-1 directly suppresses RNA polymerase II (POL II) in cancer cell nucleus, an active POLII-specific antibody expression vector was transfected into cancer cells. Gene transferred clones were established, and it became possible to quantitatively observe POL II inhibition by Y-TR-1 by confocal microscopy and flow cytometry.

ADME, Toxicity-Related: Anti-YS110 antibody and anti-triptolide antibody were developed, and an ELISA system for Y-TR-1 was established. In addition, it became possible to measure the blood concentration of triptolide by the LC-MS/MS method. Since YS110 does not cross-react with rodents, a single escalation-dose test in cynomolgus monkeys (gradual increase to 90mg/kgwt) was performed as a preliminary study. As a result, very mild thrombocytosis and slightly decreased hemoglobin were observed but no pathological alterations. The development method has established a measurement system of the Y-TR-1 in the monkey/human serum, its payload triptolide.

Practical application (out-licensing to companies, etc.), IP-related: Participated in 2022 BioJapan and conducted online interviews with 17 companies. Y-TR-1 patents have been granted in Japan, EU, US, China, Russia, India, and Singapore and are pending in South Korea.