

ゲノム創薬・創発フォーラム 第 10 回シンポジウム
The 10th Symposium of Genome Drug Discovery and Emergence Forum

「標的タンパク質分解誘導薬の可能性を探る」
“Drug Potentials of Targeted Protein Degradation”

2022 年 7 月 13 日 (水) 13:00 – 17:30

開催趣旨

ゲノム創薬・創発フォーラムはヒトゲノム解明が進みつつあった 1998 年に発足したゲノム創薬フォーラムに源流をもちます。2013 年には創薬だけでなく様々な医療分野への展開を目指したゲノム創薬・医療フォーラムとなり、2019 年より、異なる分野の専門家の議論によるイノベーションを誘発したいという思いが「創発」という言葉に込められ、新たにゲノム創薬・創発フォーラムとして発足しました。

発足から 4 年目を迎え、記念すべき第 10 回シンポジウムとして、近年に大きな進展を示した 2 つの興味深いトピックを選定しました。まず、「KRAS 阻害剤の創薬」に関して UCSF の Frank McCormick 先生に特別講演をしていただき、次に「標的タンパク質の分解誘導薬」に関して特集を組むことにしました。

今回のメインテーマである標的タンパク質分解誘導薬は細胞内タンパクをケミカルノックダウンする新しい創薬手法であり、これまでの創薬技術ではアプローチが難しかった標的タンパク質での創薬が期待できることからアカデミアや企業において盛んに研究が行われています。

PROTAC/SNIPER に代表される標的タンパク質分解誘導薬は、標的タンパク質に結合するリガンドと E3 ユビキチンリガーゼに結合するリガンドをリンカーで繋いだキメラ分子で、細胞内で標的タンパク質をユビキチン化してプロテアソームでの分解を誘導します。本技術分野は本邦に端を発する革新部分も多く、標的タンパク質リガンドの設計やタンパク質分解誘導の技術開発、耐性など創薬課題に対する研究が精力的に行われている状況です。

そこで「標的タンパク質分解誘導薬の可能性を探る」というコンセプトで以下の視点からプログラムを構成致しました。

- ・標的タンパク質分解誘導薬の概念と新規モダリティとしての期待
- ・標的タンパク質分解誘導薬の実際の取組み
- ・標的タンパク質分解誘導薬の課題や今後の展望

今回は会場とオンラインの併設開催となりますが、多くの皆様にご参加いただき、専門家との意見交換を通じて、新たな気付き「創発」が得られる会になりますと幸いです。

オーガナイザー：

田辺三菱製薬株式会社 創薬本部フロンティア創薬ユニットマネジャー 田中 実

第一三共株式会社 研究開発本部トランスレーショナルサイエンス第 2 部長 吉ヶ江 泰志

Organizing Purposes:

Genome Drug Discovery and Emergence Forum is originated from Genome Drug Discovery Forum organized in 1998 amid the progress of human genome analysis. In 2013 the forum was broadened to Genome Drug Discovery and Medical Therapy Forum for expansion to a variety of medical fields beyond drug discovery. In 2019 the forum was further reorganized as Genome Drug Discovery and “Emergence” Forum to induce innovation by promoted discussion of experts in different specialties.

For the memorable 10th symposium in the 4th year we have selected two interesting topics which recently showed significant progresses; special lecture on “KRAS Targeting Drugs” by Dr. Frank McCormick in UCSF and special session on “Target Protein Degradation Drugs”.

The target protein degradation is a novel drug discovery technology which chemically knockdowns intracellular target protein. Since it is expected that the technology is applicable to target proteins which were difficult in conventional drug discovery methods, its research has been very active both in academia and industry.

Target protein degradation drug, represented by PROTAC and SNIPER technology, is a chimera molecule of two ligands, connected by a linker structure, which binds to both target protein and E3 ubiquitin ligase. It induces ubiquitination of target protein and degradation by proteasome in the cell. Some of this technology was stemmed from Japan and its drug research is intensively ongoing including the design of ligand for target protein, technology development for inducing protein degradation and issue solutions of drug resistances.

We organized program for the session “Target Protein Degradation Drugs” with special focuses including:

- Concept and expectation of target protein degradation drugs as a novel drug modality
- Actual approach and progress of target protein degradation drugs
- Future prospects of target protein degradation drugs

The meeting will be held in-person and on-line and we hope your participation to create an opportunity for new awareness of Emerging ideas through the discussion with experts.

Organizer:

Minoru Tanaka, PhD, Director, Research Unit/Frontier Sohyaku, Innovative Research Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

Yasushi Yoshigae, PhD, Vice President, Translational Science Department II, R&D Division, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

ゲノム創薬・創発フォーラム 第10回シンポジウム

The 10th Symposium of Genome Drug Discovery & Emergence Forum

日時：2022年7月13日 13:00-17:30 / Time & Date: 13:00-17:30, July 13th, 2022

会場：第一三共株式会社品川研究開発センター・オンライン会議

Venue: Shinagawa R&D Center, Daiichi Sankyo Co., Ltd. and Web Meeting

主要テーマ：「標的タンパク質分解誘導薬の可能性を探る」

Main Theme: "Drug Potentials of Targeted Protein Degradation"

座長：田辺三菱製薬株式会社 創薬本部フロンティア創薬ユニットマネージャー 田中 実

第一三共株式会社 研究開発本部トランスレーショナルサイエンス第2部長 吉ヶ江 泰志

Chairs: Minoru Tanaka, PhD, Director, Research Unit/Frontier Sohyaku,
Innovative Research Division, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation
Yasushi Yoshigae, PhD, Vice President, Translational Science
Department II, R&D Division, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

13:00-13:05 「開会挨拶」東京理科大学 生命医科学研究所教授 松島 綱治

"Opening Remarks" Kouji Matsushima, MD, PhD, Professor, Graduate School
of Biological Sciences, Tokyo University of Science

13:05-14:00 「特別講演：KRASを標的とした創薬の進展と今後の展望」

UCSFがんセンター教授、NCI RAS特化プロジェクト教授 フランク マコーミック

"Special Lecture: Progress in Targeting KRAS and Future Prospects"

Frank McCormick, PhD, FRS, DSc (Hon), Professor, UCSF Helen Diller Family
Comprehensive Cancer Center, David A. Wood Distinguished Professor of
Tumor Biology & Cancer Research, Scientific Director, NCI RAS Initiative,
Frederick, Maryland

座長：ゲノム創薬・創発フォーラム事務局 赤羽 浩一

Chair: Kouichi Akahane, PhD, MBA, Genome Drug Discovery & Emergence
Forum

Break

14:10-14:15 「開催趣旨」田辺三菱製薬株式会社 創薬本部フロンティア創薬ユニットマネージャー
田中 実

"Organizing Purposes" Minoru Tanaka, PhD, Director, Research Unit/Frontier
Sohyaku, Innovative Research Division, Mitsubishi Tanabe Pharma
Corporation

14:15-15:00 1. 「ユビキチンコード研究の最前線～基本原理の理解と創薬～」

東京都医学総合研究所 基礎医学研究分野 プロジェクトリーダー・参事研究員／東京大学大
学院 新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻 客員教授 佐伯 泰

"Frontiers of Ubiquitin Code Research: Understanding Basic Principles for

Drug Discovery” Yasushi Saeki, PhD, Project leader, Director, Department of Basic Medical Sciences, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science / Visiting Professor, Department Computational Biology and Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo

15:00-15:45 2. 「効率的なタンパク質分解誘導剤探索プラットフォーム, RaPPIDSと新規 E3 リガーゼバインダー取得への応用」

ファイメクス株式会社 代表取締役 CEO, Co-Founder 富成 祐介

“Rapid and Efficient Degradation Discovery Platform, RaPPIDS, and Its Application for Identification of Novel E3 Ligase Binders” Yusuke Tominari, PhD, Co-Founder, CEO, FIMECS, Inc.

Break

15:55-16:40 3. 「Protein degrader の耐性メカニズムから考える E3 ligase 多様化の重要性」

帝京大学医学部内科学講座血液腫瘍研究室 講師/ダナファーバーがん研究所 客員研究員 白崎 良輔

“Importance of E3 Ligase Binder for Overcoming Resistance to Protein Degradation” Ryosuke Shirasaki, MD, PhD, Department of Hematology/Oncology, Teikyo University School of Medicine, Senior lecturer / Department of Medical Oncology, Dana-Farber Cancer Institute, Visiting scientist

16:40-17:25 4. 「標的タンパク質分解技術と創薬」

東京大学大学院薬学系研究科 タンパク質分解創薬社会連携講座 特任教授 内藤 幹彦

“Technologies to Induce Targeted Protein Degradation and Their Application for Drug Development” Mikihiko Naito, PhD, Project Professor, Social Cooperation Program of Targeted Protein Degradation, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo

17:25-17:30 「閉会挨拶」 第一三共株式会社 研究開発本部トランスレーショナルサイエンス第2部長 吉ヶ江 泰志

“Closing Remarks” Yasushi Yoshigae, PhD, Vice President, Translational Science Department II, R&D Division, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

Progress in Targeting KRAS and Future Prospects

Frank McCormick, PhD, FRS

University of California, San Francisco - Helen Diller Family Comprehensive Cancer Center, 1450 3rd Street, Box 0128, San Francisco, CA 94158-9001

Activating mutations in KRAS occur frequently in lung adenocarcinoma, pancreatic cancer and colorectal cancer. These mutations are usually at codons 12 or 13, and render the KRAS protein resistant to inhibition by GTP Activating Proteins (GAPs). As a result, they accumulate in their active, GTP bound states and signal persistently through the RAF-MEK-ERK and the PI 3' Kinase pathways.

In 2021, the FDA approved the first drug targeting KRAS directly. Sotorasib binds covalently to GDP-bound form of KRAS G12C and so traps it in the inactive state. Sotorasib showed significant clinical benefit in patients suffering from lung adenocarcinoma with the KRAS G12C mutant, but was less effective in KRAS G12C mutant colorectal cancer. This is likely because high levels of EGF signaling push the KRAS G12C protein towards the GTP-bound state, thus reducing target engagement by sotorasib. Efforts to reverse this problem with EGFR inhibitors, or SHP2 inhibitors, are underway and will be discussed. In addition, second-generation KRAS G12C inhibitors are being developed that engage the GTP-bound form of the KRAS G12C protein.

KRAS G12C is common in lung adenocarcinoma because this specific mutation is caused by exposure to tobacco smoke. The KRAS G12D and V mutations are more common overall, especially in pancreatic cancer in which KRAS G12C is rare. Unfortunately, these mutant proteins cannot be targeted by covalent inhibitors in the same way as KRAS G12C, because their substitutions are not chemically reactive. Therefore, non-covalent inhibitors need to be developed: several examples of preclinical compounds targeting KRAS G12D have been disclosed, and are indeed highly potent inhibitors of cell lines driven by KRAS G12D, but their drug like properties are not yet ideal. However, it is likely that these issues will be solved, and that non-covalent inhibitors of various KRAS mutants will enter clinical trials in the near future.

Pan-KRAS inhibitors are also being developed. These compounds engage unique residues in the KRAS G-domain and therefore spare HRAS and NRAS. This is important, as normal cells cannot survive without any RAS proteins, but ablation of any one isoform is tolerated. Therefore, drugs that inhibit all forms of KRAS are expected to be well tolerated and effective against all KRAS variants to which they bind.

In addition to drugs that bind directly to the KRAS protein and block its function, attempts are underway to promote KRAS degradation, using synthetic techniques such as PRO-TAC, or by using endogenous degradation pathways such as the LZTR1-CUL3 pathway. These approaches will be discussed. Other ways of targeting KRAS include blocking the process by which RAS activates RAF kinase, and the process by which RAS activates PI3 Kinase. Both of these have been validated biologically, and recent structural studies have suggested specific approaches to inhibit these processes with appropriate specificity.

ユビキチンコード研究の最前線～基本原理の理解と創薬～

東京都医学総合研究所 基礎医科学研究分野 プロジェクトリーダー
東京大学大学院 新領域創成科学研究科 客員教授
佐伯 泰

細胞は内外の環境変化に応答して自らのタンパク質を機能変換させることにより、恒常性を維持し、生命活動を営む。リン酸化などの翻訳後修飾がタンパク質の機能変換に果たす役割はよく知られているが、近年、ユビキチン修飾系の重要性が大きくクローズアップされている。ユビキチン修飾は、プロテアソームによる分解だけではなく、シグナル伝達、膜タンパク質の輸送、DNA 修復、選択的オートファジーなど様々な細胞機能を司ること、本修飾系の構成因子の異常が種々の疾患の原因となることが明確となり、現在、ユビキチン研究は爆発的な発展を遂げている。ユビキチン修飾の大きな特徴として、タンパク質性の翻訳後修飾因子であること、ユビキチン自身がユビキチン化されることで数珠状のユビキチン鎖を形成すること、8 種類の異なる連結様式が存在しタンパク質の機能を様々に変換できること等が挙げられる。さらに最近では、枝分かれした分岐型ユビキチン鎖やリン酸化ユビキチンがみつき、それぞれプロテアソームによるタンパク質分解を強力に誘導したり、不良ミトコンドリアの選択的オートファジーを誘導したりすることがわかってきた。そのため、多種多様なユビキチン修飾の高次構造に内包された機能情報は「ユビキチンコード」と称されるに至っている。一方、ユビキチン・プロテアソーム系についても、基質タンパク質の選別や運搬に関わる分子群の解析が進み、プロテアソーム基質はユビキチン化されれば一義的に分解されるわけではないこと、さらに、液-液相分離による時空間的な制御が存在することがわかってきた。本講演では、まず、ユビキチンコードの作動原理について概説し、次いで、ユビキチン・プロテオミクス解析法の開発状況（1）やプロテアソームによるタンパク質分解の新知見（2, 3）など我々の研究成果を紹介する。最後に、ユビキチン・プロテアソーム系の基礎研究者の視点から、標的タンパク質分解誘導薬の開発において、効率的なタンパク質分解誘導を実現するためには何が必要かについて提案し議論したい。

1. 佐伯 泰ら、「ユビキチンコード研究の最前線」MEDCHEM NEWS 第 31 巻第 3 号 136-142 (2021)
2. Kaiho-Soma A, et al., TRIP12 promotes small molecule-induced degradation through K29/K48 branched ubiquitin chains. Mol. Cell 81, 1411-1424.e7 (2021)
3. Yasuda S, et al., Stress- and ubiquitylation-dependent phase separation of the proteasome. Nature 578, 296-300 (2020)

効率的なタンパク質分解誘導剤探索プラットフォーム, RaPPIDS と新規 E3 リガーゼバインダー取得への応用

“Rapid and Efficient Degradation Discovery Platform, RaPPIDS, and Its Application for Identification of Novel E3 Ligase Binders”

ファイメクス株式会社 代表取締役 CEO、Co-Founder
富成 祐介

標的タンパク質分解誘導剤は、近年非常に注目を集めており、既存の手法では創薬が困難なことから“Undruggable”とされてきた標的タンパク質を直接分解に導くことで医薬品創出につながると期待されている。一方で、Bi-functional 型の標的タンパク質分解誘導剤は、一般的に分子量が大きく、化合物の合成に多段階を要することに加えて、化合物プロファイルが課題である。

我々はこの課題を解決するため、独自のプラットフォーム技術 RaPPIDS™ を用いて標的タンパク質分解誘導剤の開発を進めてきた。RaPPIDS™ は 1) 独自の E3 ligase binder 2) 標的タンパク質分解誘導剤を効率的に合成・探索する技術 3) リンカーを含む Bi-functional 化合物のプロパティを改善するためのノウハウ の構成要素から成る。

我々は、既に 3 種類の E3 ligase に対する独自の binder をそれぞれ複数ケモタイプ有しており、経口投与を可能とするものや組織特異的に発現している E3 ligase の binder など魅力的なプロファイルを有している。これらの E3 binder およびリンカーをフラグメント化し、それらを自動合成を用いた Diversity-Oriented Synthesis により組み合わせることで、多様性に富んだ多くの化合物を短期間で合成することができる。これらの技術と自社独自のノウハウを活用して、医薬品候補化合物を短期間で創出できる。

さらに、最近では本技術のさらなる改良・発展を試みており、第二世代 RaPPIDS™ としてより生産性の高い合成・評価のプラットフォームを確立し、さらには新規 E3 ligase binder の取得にも応用可能な技術として検討を重ねている。

本発表では、社内プログラムに適用した実例とともに、当社のタンパク質分解誘導剤の研究について紹介する。

Protein degrader の耐性メカニズムから考える E3 ligase 多様化の重要性

帝京大学医学部内科学講座

白崎 良輔

Thalidomide を始めとする IMiDs は binding pocket が無い Transcription factor である IKZF1/3 など E3 ligase である CRBN に recruit し、ubiquitination を起こす。このような "Protein degrader" では現在までに 9 種類以上の E3 ligase が protein degrader に応用可能であると報告されている。

我々の Collaborator は、多発性骨髄腫に対して臨床で使用されているレナリドマイドとポマリドマイドの耐性メカニズムを、CRISPR-KO screening を行い耐性機序についての検討を行った。この結果、直接の E3 側ターゲットである CRBN を含め CUL4A, COP9 signalosome を始めとした Cullin-Ring ligase (CRL) complex の遺伝子群の KO が薬剤耐性を起こす事を発見した。また、我々は CRBN に接着する構造を有し BRD4 を degradation する dBET6, CDK9 を degradation する Thal-SNS-032 を用い、CRISPR-KO screening を行い同様の結果を得た。この事からこれら Thalidomide 構造を持つ薬剤の耐性メカニズムはかなりの部分共通していることが判明した。同様に VHL に接着する構造を有し BRD4 を degradation する 2 つの薬剤 MZ-1 及び ARV-771 を用いた CRISPR screening では直接のターゲットである E3 ligase の VHL の他、Cul2 を含む CRL complex 及び COP9 signalosome の KO が耐性メカニズムに関与することを報告した。(1)更に我々は CRBN, VHL を使用した protein degrader の耐性メカニズムの一致は限定的であるため、異なる E3 ligase を使用する protein degrader を交互に投与することにより耐性化の抑制が可能である事を報告した。一方で、併用療法においては同じ標的 protein (BRD4) に対し違う E3 ligase (CRBN と VHL) を使用すると競合が起こる事を報告し、Hook effect が起こっていると考えられた。

このように、薬剤耐性の観点から同一の E3 ligase を用いた protein degrader の継続投与は耐性を引き起こしやすい事を報告し、E3 ligase を変化させた交替療法の必要性、また、併用するためには標的タンパクが違うものを使用する事が望ましいと結論付けた。このため可能な限り沢山の E3 ligase を使用した Protein degrader の開発が望まれる。今回発表ではこれら degrader に適した E3 ligase の characterization も含め発表する。

1. Shirasaki R, Matthews GM, Gandolfi S, de Matos Simoes R, Buckley DL, Raja Vora J, et al. Functional Genomics Identify Distinct and Overlapping Genes Mediating Resistance to Different Classes of Heterobifunctional Degraders of Oncoproteins. Cell Rep. 2021;34(1):108532.

タンパク質分解技術と創薬

東京大学大学院薬学系研究科タンパク質分解創薬社会連携講座
特任教授 内藤幹彦

近年、細胞内の標的タンパク質を分解する技術が開発され、この技術を基盤とする創薬研究が活発に行われている。2020年の世界での医薬品売り上げTOP20に名前を連ねるレブラミド（一般名レナリドミド）はE3モジュレーターとして作用する医薬品で、CRL4CRBN ユビキチンリガーゼの基質認識を変化させIKZF1等の転写因子を分解する。E3モジュレーターはE3 ユビキチンリガーゼとネオ基質タンパク質の接着を仲介することから分子糊（Molecular Glue）と呼ばれることも多い。もう一つのタイプのタンパク質分解医薬品はPROTAC（Proteolysis Targeting Chimera）、SNIPER（Specific and Nongenetic IAP-dependent Protein Eraser）に代表されるキメラ化合物である。我々はcIAP1の自己ユビキチン化を誘導するメチルベスタチン（MeBS）を基にSNIPER化合物を考案し、これまでにさまざまなタンパク質を分解するPROTAC/SNIPER化合物を開発してきた。

PROTAC/SNIPERは標的タンパク質に結合するリガンド（標的リガンド）とE3 ユビキチンリガーゼに結合するリガンド（E3リガンド）とをリンカーで繋いだハイブリッド化合物である。標的リガンドを置換することによって目的とする標的タンパク質を分解するキメラ化合物を合理的にデザインすることができる。E3リガンドは、初期にはCRBN、VHL、IAPに結合するリガンドがPROTAC/SNIPER開発に利用されてきたが、最近では他のE3 ユビキチンリガーゼをリクルートするリガンドの利用も増えてきた。またリンカーは、最初はPEG等のフレキシブルなリンカーを使うことが多いが、その長さや組成を最適化することは医薬品として開発を進めるためには不可欠である。

講演では、標的リガンド、E3リガンド、リンカーそれぞれの改変によって、どのような活性を示す化合物ができるかについて、我々が開発してきたPROTAC/SNIPERを例に紹介する。またタンパク質分解医薬品と従来の創薬モダリティとの比較、基礎研究への応用などについても紹介したい。