

ゲノム創薬・創発フォーラム 第13回シンポジウム
The 13th Symposium of Genome Drug Discovery and Emergence Forum

「スプライシング制御機構の解明と創薬への挑戦」
“Elucidation of Splicing Machinery and Drug Discovery”

2023年7月20日(木) 13:00 – 17:25

第一三共株式会社品川研究開発センター

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。

今回のメインテーマであるスプライシングは、DNAから転写されたmRNA前駆体から不要な配列を除き、タンパク質の翻訳に必要な情報を持つRNAへと編集する反応です。スプライシングは高度に保存されており、遺伝子発現制御機構の中でも最も重要な反応の一つと見なされています。近年、スプライシングに関する因子の変異や制御機構の破綻が原因となり、様々な疾患が引き起こされることが明らかになってきました。そのため、異常なスプライシングを標的とした新たな薬剤開発や疾患関連マーカーの同定を目指し、多くの研究が行われています。

今回のシンポジウムでは、このような観点で研究と薬剤開発を進めているアカデミアおよび企業の第一線の研究者をお招きし、最新の知見を紹介していただきます。スプライシングの調節機構と疾患の関連性を解明する基礎研究から、得られた知見を薬剤開発へとトランスレーションした実例まで幅広いトピックをカバーすることで、この領域での新薬創出の議論が活性化することを期待しています。

今回も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：

東京大学大学院 医学系研究科 教授 石川 俊平
アステラス製薬株式会社 イムノoncロジー部門長 吉田 卓

ゲノム創薬・創発フォーラム 第13回シンポジウム

The 13th Symposium of Genome Drug Discovery & Emergence Forum

日時：2023年7月20日 13:00-17:25 / Time & Date: 13:00-17:40, July 20th, 2023

場所：会場およびオンライン会議 / Venue: On-site and Web Meeting

第一三共株式会社品川研究開発センター / Shinagawa R&D Center, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

主要テーマ：「スプライシング制御機構の解明と創薬への挑戦」

Main Theme: "Elucidation of Splicing Machinery and Drug Discovery"

座長：東京大学大学院 医学系研究科 教授 石川 俊平

アステラス製薬株式会社 イムノオンコロジー部門長 吉田 卓

Chairs: Shumpei Ishikawa, MD, PhD, Professor, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

Taku Yoshida, PhD, Unit Head, Immuno-oncology, Astellas Pharma Inc.

プログラム： / Program:

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, Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science

13:05-13:15 「開催趣旨」東京大学大学院 医学系研究科 教授 石川 俊平

"Organizing Purposes"

Shumpei Ishikawa, MD, PhD, Professor, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

13:15-14:00 1. 「がんのシス配列およびトランス制御因子を標的としたがん治療」

国立がん研究センター研究所 がんRNA研究分野・分野長 吉見 昭秀

"Targeting cis- and trans-regulations of RNA splicing in cancer"

Akihide Yoshimi, MD, PhD, Chief, Division of Cancer RNA Research, National Cancer Center Research Institute

Break

14:10-14:55 2. 「スプライシング異常細胞を排除する細胞の品質管理機構」

富山大学大学院 医学薬学研究部遺伝子発現制御学講座 准教授 甲斐田 大輔

"The cell quality control mechanisms to eliminate splicing deficient cells"

Daisuke Kaida, PhD, Associate Professor, Department of Gene Expression and Regulation, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama

14:55-15:40 3. 「デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソン・スキップ薬の開発」

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所遺伝子疾患治療研究部 部長 青木 吉嗣

"Development of exon skipping drugs for Duchenne muscular dystrophy"

Yoshitsugu Aoki, MD, PhD, Director, Department of Molecular Therapy, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry

Break

15:50-16:35 4. 「がんの新しいホールマークである RNA 制御ストレスを標的とした抗がん剤開発」

Chordia Therapeutics 株式会社 研究統括 森下 大輔

“Development of anti-cancer drugs targeting RNA deregulation stress, a novel hallmark of cancer” Daisuke Morishita, PhD, Chief Scientific Officer, Cordia Therapeutics, Inc.

16:35-17:20 5. 「がん領域におけるスプライシング制御薬の可能性」

エーザイ株式会社 DHBL Cell Lineage & Differentiation ドメイン コ・ヘッド 横井 晃

“Targeting splicing machinery as a therapeutic opportunity for cancer”

Akira Yokoi, PhD, Co-Head, Cell Lineage & Differentiation domain, DHBL, Eisai Co., Ltd.

17:20-17:25 「閉会挨拶」

アステラス製薬株式会社 イムノオンコロジー 部門長 吉田 卓

“Closing Remarks”

Taku Yoshida, PhD, Unit Head, Immuno-oncology, Astellas Pharma Inc.

Targeting cis- and trans-regulations of RNA splicing in cancer

Akihide Yoshimi, MD, PhD

**Chief, Division of Cancer RNA Research, National Cancer Center
Research Institute**

Dysregulations of RNA splicing by recurrent mutations in genes encoding key splicing factors have been discovered in a variety of cancers. These aberrant "trans-acting" regulations of splicing cause global mis-splicing, which contributes to the cancer pathogenesis. The observations that spliceosomal mutant cells depend on wild-type splicing machinery for their survival strongly implies that pharmacological inhibition of splicing leads to synthetic lethality of cancer cells bearing these mutations. On the other hand, a genetic mutation affecting a splice site functions as a "cis-acting" element that affects the mutant gene itself. We comprehensively screened for such a splicing-associated variant (SAV) by analyzing >230,000 RNA-seq data and identified that SAVs are predominantly enriched in many cancer-associated genes. We have confirmed that an aberrant splicing by such a SAV can be corrected by an antisense oligonucleotide, which would create an opportunity to target previously "undruggable" gene mutations in cancers. Overall, the high prevalence of these cis- and trans-regulators of splicing in multiple cancers makes splicing machinery a hallmark of cancer and an attractive therapeutic target.

スプライシング異常細胞を排除する細胞の品質管理機構

富山大学大学院

医学薬学研究部遺伝子発現制御学講座 准教授

甲斐田 大輔

ヒトをはじめとした高等真核生物では、90%以上の遺伝子がイントロンを持っており、スプライシング反応によりイントロンが取り除かれ、エキソンどうしがつなぎ合わされることにより成熟型の mRNA が産生される。したがって、スプライシングの異常は、フレームシフトによる正常なタンパク質の減少や異常なタンパク質の産生を引き起こす可能性があり、個体レベルではさまざまな疾患を引き起こすことも知られている。一方、選択的スプライシングによるプロテオームの多様性に貢献するなど、スプライシングをすることのメリットも存在している。したがって、スプライシングのメリットを享受し、デメリットを最小化するために、我々のからだにはスプライシング異常細胞を排除し、体内の恒常性を維持するという「細胞の品質管理機構」が備わっていると考えられる。

私たちの以前の研究から、非常に強力な抗がん活性物質である FR901464、ならびにその誘導体である SSA はスプライシングの阻害剤であることが明らかとなった。さらに、これらの化合物は細胞周期を停止させることがわかり、この細胞周期停止が抗がん活性の原因であると考えられた。細胞周期停止の分子メカニズムを解析する中で、スプライシング阻害により蓄積した一部の pre-mRNA が翻訳され、イントロンが翻訳されたトランケート型タンパク質が産生されることを見出した。そのようなトランケート型タンパク質の中には、CDK インヒビター-p27 のトランケート型（以下 p27*）も含まれており、この p27* が G1 サイクリンや M 期サイクリンを阻害することで細胞周期を G1 期ならびに G2/M 期に停止させることも明らかとなった。さらに、p27* は C 末端が欠けているため、ユビキチン化のトリガーとなるリン酸化部位を有しておらず、全長の p27 と比較して G2/M 期で非常に安定であることが明らかとなった。これらのことから、p27 遺伝子はスプライシング阻害時のみに p27* を産生することで細胞周期を停止させ、スプライシング異常細胞の増殖を抑えるという「細胞の品質管理機構」におけるセンサーの役割を果たしていると考えられる。また本発表では、p27* 以外の細胞周期停止機構についても概説したい。

Duchenne 型筋ジストロフィーに対するエクソン・スキップ薬の開発

国立精神・神経医療研究センター神経研究所
遺伝子疾患治療研究部 部長
青木 吉嗣

筋ジストロフィーは、骨格筋の変性、壊死、再生を主病変とし、臨床的には進行性の筋力低下をみる遺伝性の疾患である。筋ジストロフィーのうち、最も患者数が多く重症なデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は、X連鎖性の遺伝形式をとり、DMD 遺伝子の変異により、骨格筋形質膜からジストロフィンが欠損することで発症する希少難病である。ステロイド剤以外に確立された治療法はなかったが、近年、モルフォリノ化合物からなるアンチセンス核酸（モルフォリノ核酸）を用いてスプライシングを制御し、短縮型ジストロフィンの発現を誘導する、エクソン・スキップが注目されている。演者らは、同疾患のモデル動物である mdx52 マウスや DMD 患者の尿由来細胞等を対象に、モルフォリノ核酸の、最適な投与時期や筋細胞への取り込み分子機序に関する基盤研究に加えて、エクソン・スキップにより発現回復するジストロフィンの機能評価、効果と安全性に関する非臨床 POC の取得を重ねた。こうした基盤研究データをもとに、演者らは日本新薬（株）と共同で、DMD 患者の約 8%を治療対象にできるエクソン 53 スキップ薬（ビルトラルセン）の開発を進め、同薬は 2020 年 3 月に国産初の核酸医薬品として早期条件付承認された。DMD 患者は外来で週 1 回の頻度で継続的にビルトラルセンの点滴静注を受けるが、これまでに重篤な有害事象の報告はない。80 mg/kg/週投与群では、骨格肉で正常の約 5%のジストロフィンが回復し、歩行速度など運動機能の改善傾向も認められた。しかしながら、ビルトラルセンが適応にならない患者に対して、別のエクソンを標的とした薬剤の開発が喫緊の課題であった。そこで演者らは、DMD 患者の 6%を治療対象にできる世界初のエクソン 44 スキップ薬である、NS-089/NCNP-02 の医師主導第 1/2 相試験を進めた。本試験の 80 mg/kg を 24 週間投与された群では、世界で初めてヒトを対象に正常の 15%以上のジストロフィンタンパク質の発現回復に成功し、運動機能への有効性が十分に期待できる結果が得られた。今後は、より多くの DMD 患者を治療対象とするため、50 番や 51 番目等の様々なエクソンをスキップさせる薬剤の開発を進めると共に、DMD 遺伝子欠失変異のホットスポットであるエクソン 45 – 55 を狙ったマルチエクソン・スキップ薬の開発を進める必要がある。さらには、心筋および骨格筋の治療効果向上のため、細胞膜透過性モルフォリノ核酸のデリバリー研究も進めている。著者らは、こうしたエクソン・スキップ薬開発基盤を、他の遺伝性神経筋疾患を対象にした新規モダリティ開発のため戦略的に展開しつつある。

スプライシング阻害薬のこれまでの歴史と現在地

Chordia Therapeutics 株式会社
Chief Scientific Officer
森下 大輔

がんとスプライシング異常との関連は、2011年の京都大学小川誠司博士の報告により、骨髄異形成症候群をはじめとする造血器腫瘍において、スプライシング反応にかかわる因子群への遺伝子変異が認められたことに端を発する。その翌年には、Harvard大学のMeyerson博士により肺がんにおけるスプライシング因子への遺伝子変異が同定され、スプライシング因子異常はがん種横断的に広く認められる遺伝子変異と認知されるようになった。その後、これらのスプライシング因子異常による発がん機序が精力的に明らかにされてきたが、2019年には国立がん研究センター鈴木啓道博士により、スプライシングを担う因子のタンパク質コード領域ではなく非コード領域における変異が引き起こすスプライシング異常がさまざまな悪性腫瘍で特定され、新たなスプライシング異常も明らかにされつつある。医薬品開発の観点からは、これらのようながんにおけるスプライシング異常の理解が進むなかで、がんの病態の理解に基づいた薬剤標的分子の同定、同定した標的とする分子に対する阻害薬の創生、創生した阻害薬の適応最適化を可能とするバイオマーカー探索を含むトランスレーショナルリサーチを実施していくことになる。

スプライシング反応を直接的にあるいは間接的に標的とする開発品の多くは合成低分子化合物に由来するものであり、これらのなかで抗がん薬として承認および上市されているものは2023年7月時点では存在せず、医薬品開発の観点からは未開拓で今後治療標的としてさらなる検証が期待される研究領域となっている。スプライシング反応を担うスプライソソームを構成する300程度のタンパク質およびsnRNAをいかに標的化するかということが医薬品開発における重要課題となるが、低分子化合物の開発の観点からはtractability（druggability、薬剤による標的可能性）が高いタンパク質群を選定することが試みられてきた。具体的には低分子化合物による標的化が可能と想定されるATP結合ポケットを有しtractabilityが高いと期待されるキナーゼ、あるいは同様にATP結合ポケットを有するRNAヘリカーゼがその対象として検討されてきている。

今回は、スプライシング阻害薬のこれまでの歴史と現在地を概説し振り返ってみたい。

がん領域におけるスプライシング制御薬の可能性

エーザイ株式会社

DHBL Cell Lineage & Differentiation ドメイン コ・ヘッド

横井 晃

RNA スプライシングは、mRNA 前駆体からイントロンを除去して成熟 mRNA を産生する、遺伝子発現に必須の機構である。近年、様々ながんにおいて RNA スプライシングの異常が見つかるとともに、スプライシング因子遺伝子におけるホットスポット突然変異が特定の腫瘍に高頻度に報告されている。これらの事実は、RNA スプライシングの異常が、がんの発生と維持に関与することを強く示唆する。一方、RNA スプライシング機構は、数多くのスプライシング因子からなる巨大複合体スプライソソームがその反応を担い、低分子化合物による制御が難しく Undruggable Target と呼ばれている。

我々は、細胞株を用いた Phenotypic スクリーニングより、2つのタイプのスプライシング機構作用薬を見出してきた。RBM39 分解剤と SF3B モジューレーターである。RBM39 は選択的スプライシングを調整し、U2 snRNP 複合体と作用するスプライシング因子として知られている。抗腫瘍性スルホンアミド E7070 (indisulam)ならびに E7820 は、細胞周期抑制作用ならびに血管新生作用に着目した薬剤として開発されたが、その後のケミカルバイオロジー研究より、RBM39 分解活性を有することが明らかとなった。これら薬剤は、E3 ユビキチンリガーゼ複合体の構成因子である DCAF15 と RBM39 を新たに結び付けて、RBM39 を選択的に分解する作用を誘導する。また、我々は SF3B モジューレーターとして、天然物プラジエノライド誘導体である E7107 を創出した。本化合物は、VEGF 遺伝子のプロモーターの活性を阻害する化合物として見出されたが、後に U2 snRNP を構成する SF3B 複合体が標的であることが同定された。本系統の化合物は SF3B 複合体に結合し、U2 snRNP によるイントロンのブランチ部位配列の認識を阻害する活性を示すことが報告されている。

本講演では、これらスプライシング機構作用薬の研究開発の経緯について紹介するとともに、スプライシング機構作用薬の創薬応用の新たな可能性について議論したい。