

2017 年 9 月 13 日
大原薬品工業株式会社

国立がん研究センターとの共同研究について

国立がん研究センター研究所エピゲノム解析分野（分野長：牛島俊和）と大原薬品工業株式会社（本社：滋賀県、代表取締役社長：大原誠司、以下「大原薬品」）は、エピジェネティック異常の改善を目的とした創薬活動において、現在共同研究を行っています。

エピジェネティクスは、塩基配列によらない遺伝情報の発現制御であることは広く知られており、DNA のメチル化修飾は最も早く見出されたエピジェネティック要因です。このメチル化は、通常 DNA メチル基転移酵素（DNA Methyltransferase：DNMT）によって制御されていますが、がん患者において、重要ながん抑制遺伝子が DNA メチル化異常により不活性化されていることから、エピジェネティック異常もがん化の原因となることが示されています。中でも造血器腫瘍では、この異常が関与していると考えられている腫瘍が多く、骨髄異形成症候群（MDS）や急性骨髄性白血病（AML）に対しては DNMT 阻害剤が臨床応用されています。このうち、MDS 治療薬として国内で販売されているアザシチジン（販売名：ビダーザ®）は、注射用製剤として 2011 年に発売されており、また米国をはじめとして全世界的にはこのアザシチジンに加え、デシタビン（販売名：Dacogen®、注射用製剤）も使用されています。さらに、これらに続く新薬も現在各社にて開発中です。

最近、牛島先生らは、DNMT 阻害剤に対する新しい評価システムの開発に成功し、公表しました（Epigenetics, 2016 Dec 9:0. doi:10.1080/15592294.2016.1267887. [Epub ahead of print]）。また、その評価システムを用いて、大原薬品が創薬した DNMT 阻害剤の候補化合物と、既に臨床応用されている DNMT 阻害剤を比較検討したデータを発表しています（EORTC-NCI-AACR 2016, ミュンヘン：添付資料参照）。

牛島先生らは、「DNA メチル化異常をターゲットにした場合、デシタビンよりも血中濃度の安定性が高く、かつ経口投与が可能な新薬に大きな期待を寄せています。エピゲノム薬の適応は現在のところいずれも血液がんを対象としていますが、実は大きなポテンシャルがあるからです。実際、DNMT 阻害剤における新薬開発の最近の動向をみると、脳腫瘍、鼻咽喉頭がん、頭頸部がんなどの固形がんを対象にした臨床開発も行われています。また、がん以外でも、糖尿病、免疫疾患、アルツハイマー病、統合失調症など、エピジェネティック異常の存在が認められている疾患にも適応が広がる可能性も含んでいます。

このため、新薬開発には、治療の最適化のための投与スケジュールや投与量の調整が容易な経口剤の登場を待ち望んでいます。」とコメントしています。

大原薬品は、核酸医薬の合成および製剤技術のノウハウを駆使し、新規 DNMT 阻害剤を開発中ですが、臨床導入に向けた最適な経口剤の開発については牛島先生らのグループだけではなく、佐賀大学：創薬科学講座との共同研究のもとでも進めており、有効性を発揮できる投与スケジュールや投与量の選択について議論を進めています。

今後、両者は DNA メチル化異常のがん診断および最適な治療薬・治療法の開発を試み、速やかに臨床応用が可能となるよう継続的な研究に取り組んでまいります。

詳細については、国立がん研究センターの以下のリンク先をご覧ください。

<http://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/epigenomics/project/020/20170906143626.html>

本件に関するお問い合わせ先

大原薬品工業株式会社
オーファン及び創薬事業担当
殿村 英郎（取締役）

TEL:03-6740-7701 FAX:03-6740-7702

医薬開発研究所
中田 嘉孝（執行役員）
TEL:0748-88-2200 FAX:0748-88-2300





257 : Development of Novel DNA Demethylating Agents with Greater Stability and Less Toxicity

○ Naoko Hattori¹, Magoichi Sako², Kana Kimura¹, Akiko Mori¹, Eriko Okochi-Takada¹, Hideo Tonomura³, Toshikazu Ushijima¹

¹Div. of Epigenomics, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, JAPAN; ²Drug Development Laboratories, OHARA Pharmaceutical Co., Ltd., Shiga, JAPAN;

³Orphan Drug and New Business Development, OHARA Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, JAPAN

Conclusion

Two novel DNA demethylating agents with strong demethylation activity and less toxicity were developed.

Background

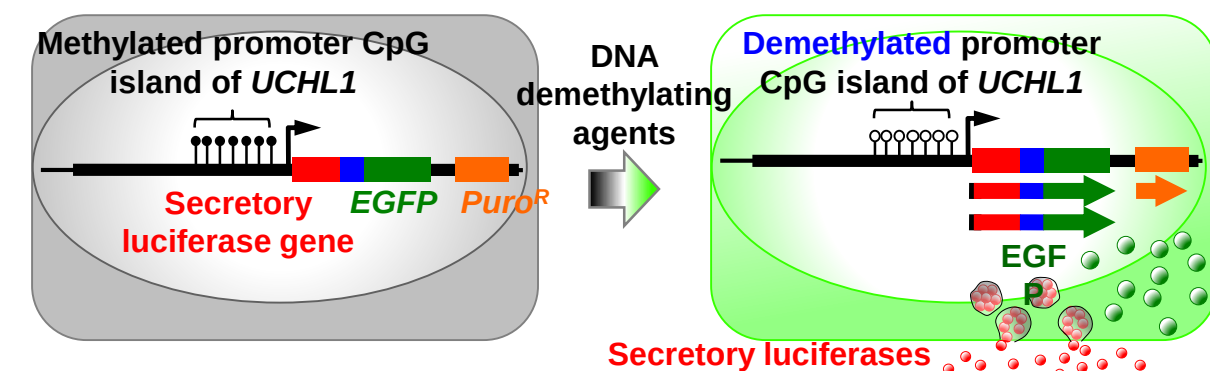
- ◆ Epigenetic therapy is expanding from hematological tumor to solid tumor.
- ◆ Two approved DNA demethylating agents, 5-azacytidine (azacitidine, AZA) and 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine, DAC), suffer from rapid deamination by cytidine deaminase and hydrolytic ring-cleavage of the base moiety.
- ◆ This rapid elimination in plasma makes it challenging to determine the maximum biological dose for individual patients.

Materials & Methods

Screening system

- ◆ Quantification of DNA demethylation by luciferase activity
- ◆ Isolation of optimal subclones with high S/N ratio
- ◆ Suitable system for high throughput screening

[Okochi-Takada, Hattori et al., Epigenetics, Revision Submitted]



DNA methylation and apoptosis analyses

- ◆ qMSP and Illumina Infinium HumanMethylation 450K
- ◆ TF-1 : a cell lines of AML developed from MDS
- ◆ Apoptosis assay : Caspase-Glo® 3/7 assay

Identification of novel agents

- ◆ Cell viability assay : Cell Count Reagent SF (WST-8)
- ◆ SGI-110 : second generation demethylating agent that is resistant to cytidine deaminase

In vivo drug tolerability

- ◆ Female athymic nu/nu mouse
- ◆ Evaluation of body weight, morbidity, leukocyte count, and hematocrit

Objective

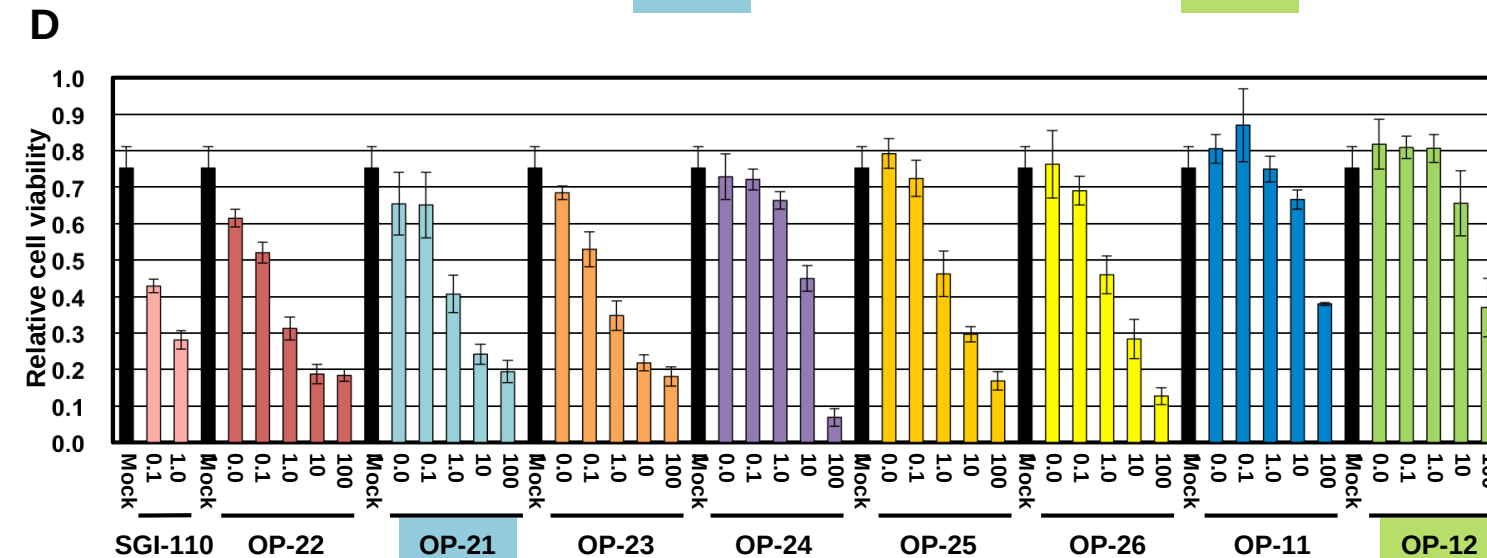
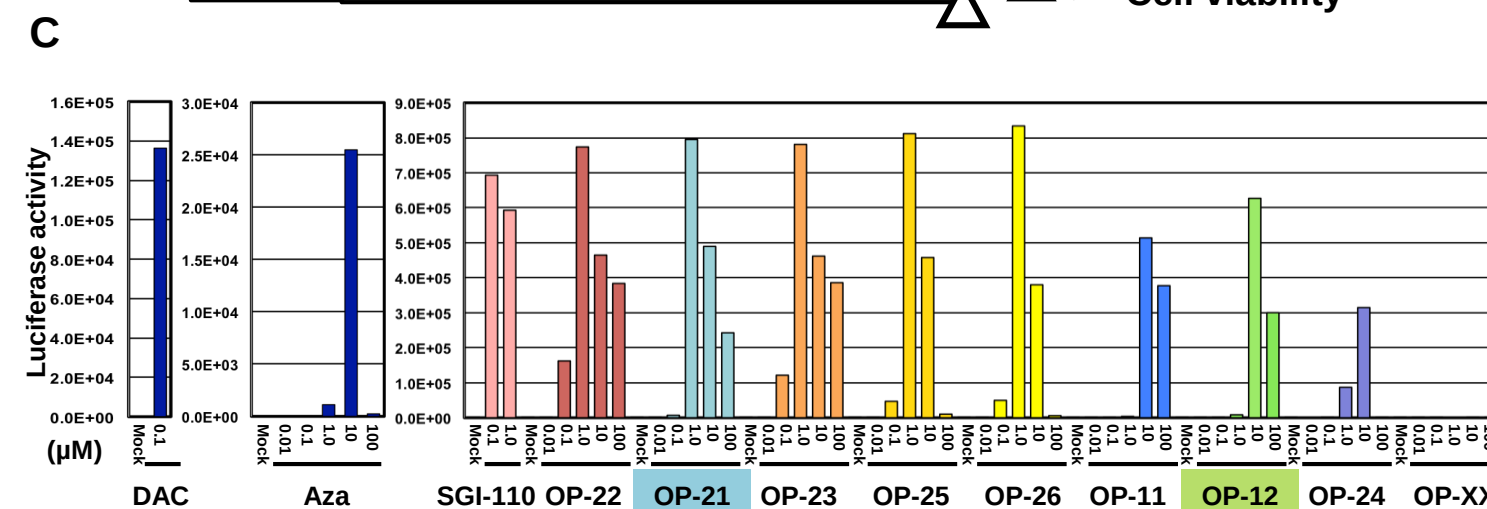
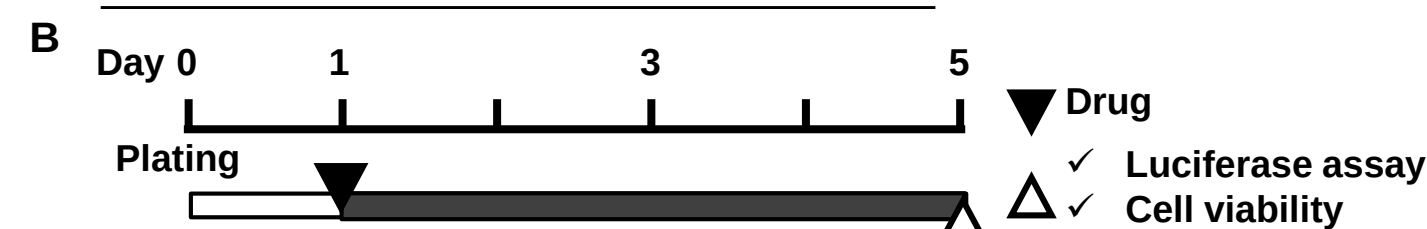
To develop novel and stable DNA demethylating agents

Result

Identification of two compounds as novel and stable demethylating agents

Original backbone	No. of compounds	No. of hits*
Azacitidine	33	7
Decitabine	14	12
Others	12	0
Total	59	19

*Compounds showing the luciferase activity equal to or more than that of Aza or one-tenth of that of DAC



(A) Fifty-nine derivatives of AZA and DAC were synthesized as potentially more resistant to the deamination by cytidine deaminase and/or hydrolytic ring-cleavage. Nine-teen compounds among the 59 were considered to have DNA demethylating activity.

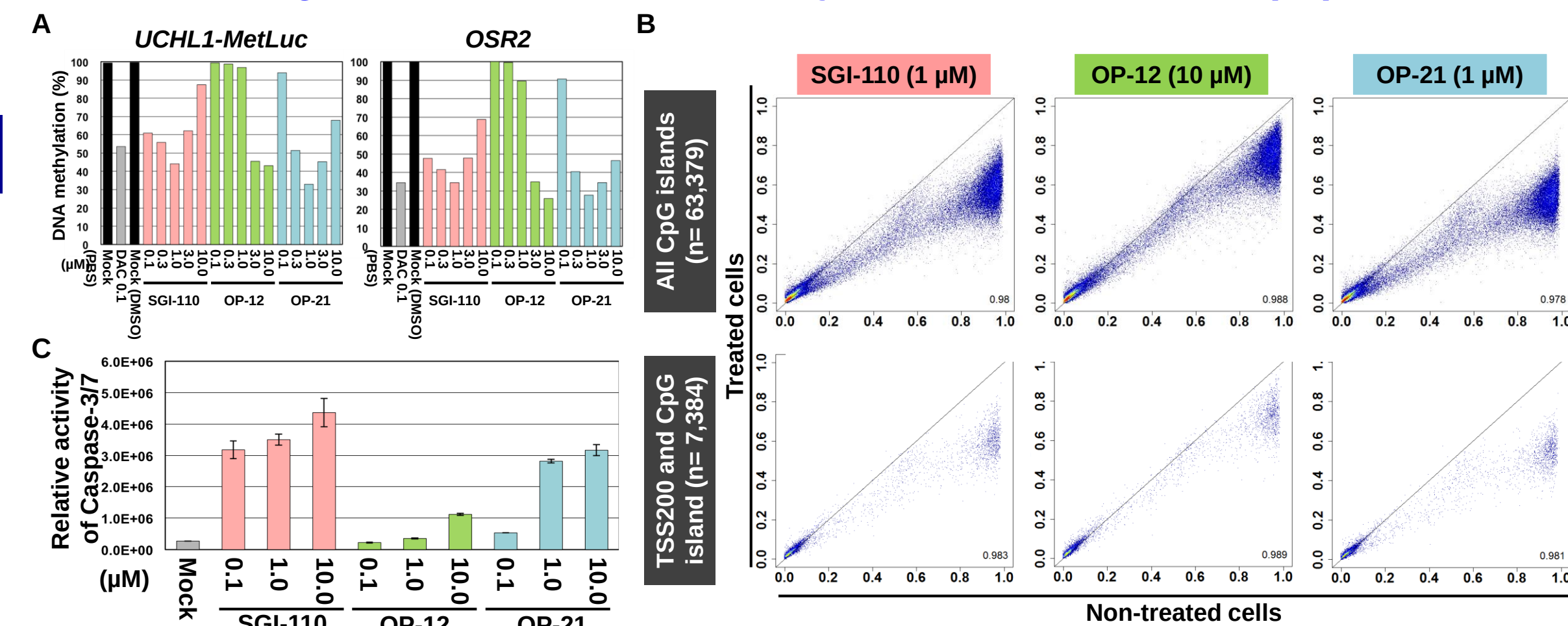
(B) Schedule of drug treatment.

(C) Seven compounds showed luciferase activity equal to that of SGI-110.

(D) OP-12 and OP-21 showed a moderate and a strong cell-growth suppressive effect, respectively.

Result

Induction of genome-wide DNA demethylation and moderate apoptosis

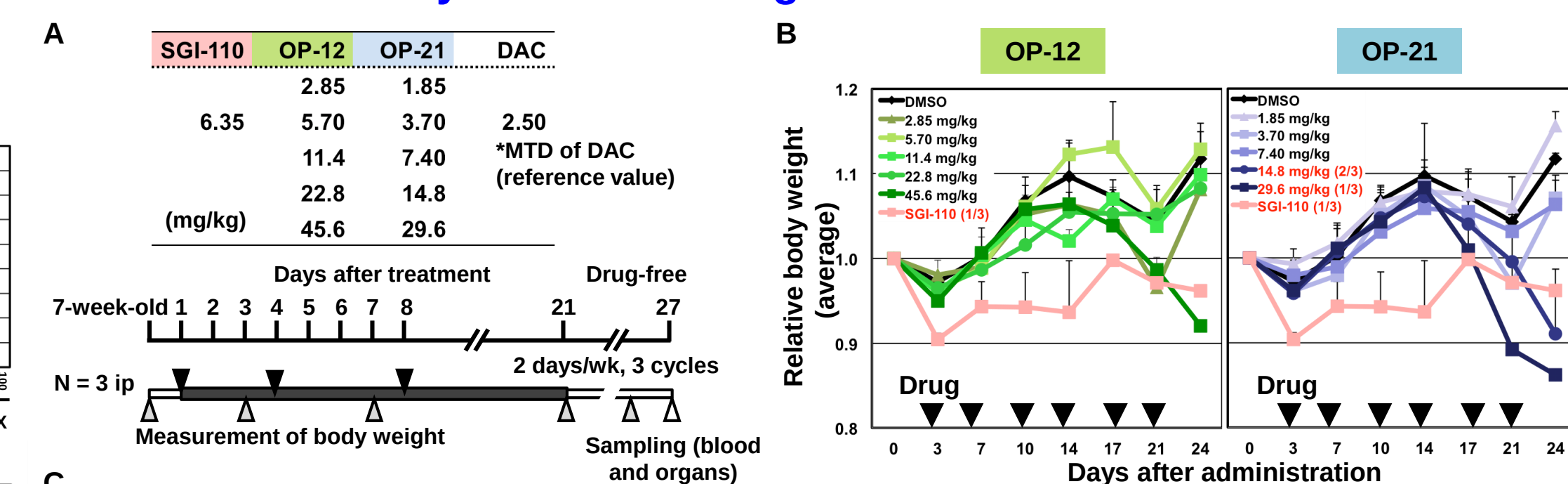


(A) Demethylation of marker genes was observed in the cells treated with OP-12 or OP-21.

(B) Genome-wide DNA demethylation was induced by treatment of OP-12 or OP-21.

(C) Apoptosis was induced by SGI-110 or OP-21 but not by OP-12 in TF-1 cells.

Low in vivo toxicity of two novel agents

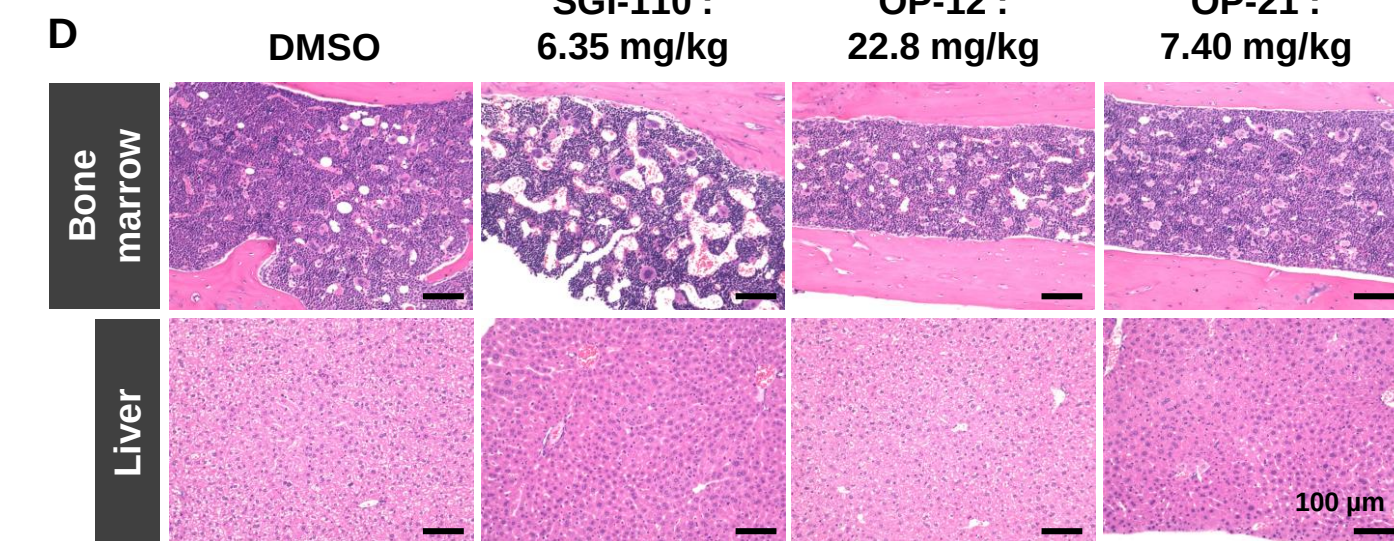


(A) Administration doses (upper panel) and schedule (lower panel) of SGI-110, OP-12, and OP-21.

(B) Severe body weight loss and increase of mortality were observed in 6.35 mg/kg of SGI-110 and high-doses of OP-12 and OP-21 groups.

(C) Leukopenia was absent in mice with OP-12 and OP-21 without body weight loss. Doses with severe body weight loss are marked with red rectangles.

(D) Myelosuppression and hepatotoxicity were absent in mice with OP-12 and OP-21 without body weight loss.



Summary & Discussion

- ◆ OP-12 and OP-21 showed strong demethylating activities with less toxicity than SGI-110 and DAC.
- ◆ OP-12 might have a distinct mode of demethylating action.
- ◆ Anti-tumor activities of OP-12 and OP-21 are evaluating using xenografts of a colorectal cancer cell line (HCT116), and preliminary assessment showed that OP-12 and OP-21 were equally effective to DAC.