

**創薬基盤推進研究事業 研究開発課題
事後評価報告書**

研究開発課題名	血中PD-1リガンド検出エライザー法によるPD-1抗体がん治療法の有効性診断薬開発
代表機関名	京都大学
研究開発代表者名	本庶 佑
全研究開発期間	平成26年5月16日～平成29年3月31日

1. 研究開発成果

PD-1抗体が2014年に、悪性黒色腫の治療薬として初めて承認されて以来、肺がん、腎癌、頭頸部腫瘍等、様々ながんでがん治療役として認可されている。将来的には、PD-1抗体がさらに多くのがんに対する治療薬として承認されることが予想される。近年、PD-1抗体の高額な治療費が日本の医療費問題として取り上げられており、PD-1抗体治療の治療効果を見分けるバイオマーカーを同定することが緊急課題となっている。本研究では、血中PD-1、PD-1リガンド(PD-L1)、CTLA-4を高感度で検出するエライザー法を開発し、PD-1抗体治療前後の患者由来血液検体を用いて、PD-1抗体治療の治療効果バーカーになり得るか確認することが目的である。

1年目)

はじめに高感度ヒトPD-L1エライザーを確立した。様々なPD-L1抗体の組み合わせとSysmex社の化学発光酵素免疫測定法をベースとしたHISCLの技術を組み合わせ、市販より20倍以上感度が高いPD-L1エライザーを開発することに成功した。このエライザーの精度を検証するため、京都大学大学院産婦人科、泌尿科、呼吸器科、病理診断科の協力の下、がん患者の手術前後の血液を集め血中における可溶性PD-L1を測定し腫瘍組織におけるPD-L1発現量と比較した(卵巣癌患者13人、腎臓癌患者17人、肺がん18人)。その結果、ある程度の腫瘍のPD-L1発現と相関する可能性が示されたがそうでない患者もいた。この結果は、腫瘍側のマーカーだけに注目するのは不十分であるという可能性を示しており、T細胞側の活性化も検討する必要があると考えた。

2年目)

そこで血中PD-1、CTLA-4タンパクの高感度エライザーにも着手した。すでにPD-L1エライザーの開発でノウハウを有しているため、2年目でこれらの高感度エライザーを完成させることができた。高感度エライザーの開発と同時並行し、まずは高感度エライザーの比較群として市販エライザーを用い、市販のがん患者と健常人の血漿における可溶性PD-1、PD-L1、CTLA-4の値を検討した。また高感度エライザー検定の一環として自己免疫疾患(甲状腺異常患者)の血中における可溶性PD-1、PD-L1、CTLA-4も測定したところ、特徴的なパターンを捉えることができた。

3年目)

2年目で用いた市販がん患者の血漿サンプルを用いて高感度エライザーで検討したところ、PD-L1とPD-1はがん腫によって健常者より高くなる傾向が得られた。市販のエライザーでは検出限

界以下の多くを検出することができた。このことはやはり高感度エライザを用いることの必要性を示している。またこの結果は、生体内にがんが存在するかどうか検定できる可能性を示しており、特許出願した (PCT/JP2016/088978)。さらに血中における可溶性 PD-1, PD-L1, CTLA-4 の動態を詳細に検討するため、1年目の健常人、術前・術後のがん患者由来血液サンプルを検証した。その結果、癌腫、術後の時期によって可溶性 PD-1, PD-L1, CTLA-4 の値が変化することが明らかになった。次に京都大学大学院皮膚科、産婦人科の協力の下、悪性黒色腫 (4 患者)、腎癌 (4 患者) のがん患者のニボルマブ投与前後の血中における 3 つの値を検討したところ、治療前後において特徴的なパターンが示された (未発表)。3 年目には国立がんセンターとの協力体制も確立することができた。28 年度にて本プロジェクトは終了するが、引き続き検体数を増やし可溶性 PD-1, PD-L1, CTLA-4 の値とニボルマブの有効性を検討する。

2. 総合評価

- ・優れている

【評価コメント】

- ・血中の微量 PD-L1 測定のため、エライザ法の高感度化に成功した。また、血中の可溶性 PD-1, CTLA-4 の高感度エライザ法も追加開発できた点が優れている。ただし、PD-1 抗体の効果予測マーカーとしての検討が十分にできているとは言えない。
- ・がん研究に対する研究ツールを提供した、貴重な研究である。

以上