

次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業
患者層別化マーカー探索技術の開発
中間評価報告書

公募研究開発課題名	医療ニーズの高い特定疾患・薬剤に対する患者層別化基盤技術の開発
研究開発課題名	アミノ酸プロファイルによるがん免疫微小環境の代謝プログラミング評価とがん免疫治療患者層別化技術の開発
代表機関名	地方独立行政法人神奈川県立病院機構 神奈川県立がんセンター 臨床研究所
研究開発代表者名	笹田 哲朗
役職	がん免疫療法研究開発学部 部長
全研究開発期間	令和元年度～令和5年度終了予定

【研究開発中間進捗／研究成果概要】

免疫チェックポイント阻害薬（ICI：抗 PD-1/PD-L1 抗体）が各種がんに対して臨床応用され、がん治療におけるパラダイムシフトが起こりつつある。ただし、ICI の奏効率は 20-30%と報告され、患者間で臨床効果が一定でないうえに重篤な免疫関連有害事象を合併する可能性があるため、効果の期待できる患者を的確に選別するための層別化技術の開発が望まれている。本研究の目的は、血中アミノ酸プロファイル解析により ICI 治療患者の層別化を可能とする高精度マーカー・技術を開発することである。現在までの成果は以下のとおりである。

研究開発項目①：アミノ酸プロファイルを用いた ICI 治療患者層別化技術の最適化

ICI 治療患者層別化のためのアミノ酸代謝物による判別アルゴリズムを構築するために、令和2年2月に進行・再発肺がん患者を対象とした探索的臨床試験を開始した。令和3年2月に計画通りに104名の患者登録を終了し、令和3年8月に経過観察期間を終了した。現時点での臨床データをもとに ICI 治療効果を予測する判別アルゴリズムを構築した結果、全体集団、あるいは ICI 単剤治療と ICI・化学療法併用治療の治療レジメン別に、腫瘍縮小効果（RECIST 評価）や全生存率と相関する精度の高い多変量判別式を複数作成可能であった。今後、最新の生存データ（最低追跡期間6か月の固定データを令和3年9月15日に取得予定）を用いて、無増悪生存率・全生存率を予測する多変量判別式を確定し、知財化（特許申請）する予定である。また、臨床試験登録患者より採取した血液・腫瘍組織・便検体を用いて、①末梢血単核球の遺伝子発現解析（RNA-Seq）、②末梢血単核球の単一細胞 RNA-seq 解析、③血漿中液性因子の網羅的解析、④末梢血免疫細胞の phenotype 解析、⑤末梢血レパトア解析、⑥循環腫瘍細胞解析、⑦腫瘍組織の遺伝子解析、⑧腸内細菌叢メタゲノム解析、等を実施し、アミノ酸プロファイルと ICI 効果の相関メカニズムに関するデータが得られた。

研究開発項目②：マウス移植腫瘍モデルでのアミノ酸プロファイルと ICI 効果の相関メカニズムの解明

アミノ酸プロファイルと ICI 効果の相関をマウス移植腫瘍モデルで再現し、メカニズムを詳細に検討することにより、アミノ酸プロファイルによる層別化の理論的裏付けを確立する計画である。マウス移植腫瘍モデルを用いて、①食餌介入、薬物介入によるアミノ酸変化と ICI 効果への影響、②アミノ酸代謝関連遺伝子を欠損した腫瘍細胞株でのアミノ酸変化と ICI 効果への影響、③ICI 治療によるアミノ酸代謝・腫瘍微小環境への影響、等を検討中である。

研究開発項目③：アミノ酸プロファイルを用いた ICI 治療患者層別化技術の実用化

ICI 治療患者層別化技術の実用化に向けて、アミノ酸代謝物分析系を臨床 GLP 認証検査会社に技術移管しバリデーションデータを取得するとともに、採血手順・分析手順など検体 SOP を構築・確認した。また、医療機器（疾

病診断用) プログラムとして薬事申請できるように PMDA 相談を繰り返して実施し、助言・指導を受けた。さらに、層別化技術の汎用性を高めるために、ICI 治療をうける進行・再発胃がんを対象とした探索的臨床試験を令和 3 年 2 月に開始し、現在患者登録中である。

研究開発項目④：高精度または簡便・低コストなアミノ酸プロファイル新規診断薬・医療機器の開発

微量アミノ酸代謝物の高精度測定法として LC-MS/MS 質量分析法を開発し標準化した。さらに、標準化した分析法を用いて、研究開発項目①の臨床試験登録患者から採取した血液検体のアミノ酸代謝物分析を実施した。今後、研究開発項目①で層別化因子として選択されたアミノ酸代謝物に関して低コストの onsite 分析を可能とするために、アミノ酸代謝酵素を用いた簡易測定系を開発する計画である。

【評価結果】

良い／総合的には計画どおりに進捗したと認められる

【評価コメント】

免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) 療法は、奏効率が限定的で、高額であるため、医療経済学の観点から効果の期待できる患者を選別できる層別化技術の開発が望まれている。本研究の目的は低侵襲の血液検体を用いて代謝物を含むアミノ酸プロファイル解析から層別化を可能とするマーカー探索技術を開発・特定し、実用化することにある。肺癌患者を対象とした臨床効果を予測するアミノ酸代謝物の多変量判別式を作成し、抗腫瘍効果のみならず生存率予測のための判別式の確定に向かっており、中間目標を概ねクリアしている。また、研究成果を実用化するための技術移転や PMDA との綿密な相談、医療機器メーカー・検査会社との連携等に着手している。血液サンプルの保存や取扱いに精通した分担企業も参画しており、得られた結果の信頼性も担保できる。このアミノ酸代謝物のメタボミクスをがんの診断等に用いる手法は、国内企業によって見出された画期的なものであり、国際的に競争力のある本邦独自の治療アルゴリズムの確立が期待できる。

一方、血漿中液性因子の網羅的解析、末梢血免疫担当細胞のフェノタイプ解析、末梢血 T 細胞レパリア解析、循環腫瘍細胞解析、腫瘍細胞の遺伝子解析、腸内細菌叢メタゲノム解析などは現時点ではあまり充実したデータは得られていない。また、アミノ酸や関連遺伝子の現状分析結果に基づいた層別化の解析であるため、ICI の治療効果や免疫状態とアミノ酸の変動の関係性に関する理論的な背景が明確でない。

予定されている検証的試験では、本マーカーの活用が非小細胞肺癌における ICI とプラチナ系抗がん剤の併用推奨の判定という適応に限定的となることが想定される。ICI の使用の有無の判断への活用可能性を追求していただくことを期待する。また、併用推奨に用いようとしても判別式の結果によらず併用療法が推奨されるのではないかとの疑念があり、今回開発される判別式に基づき、臨床医によって薬剤の使用に関する判断に活用されるのか不明な点が残る。さらに、観察期間、検証に利用できる症例数が少なすぎる可能性がある。可能であれば、既存のバイオバンクの活用も検討すると良い。

知財については、同様のバイオマーカー研究は世界的にも多く実施されており、競合性の高い分野であるため、早期の特許出願が望まれる。また、先行する既存特許を侵害せず、かつ他者が容易に模倣・改良できないような知財を確立するため、用意周到な特許戦略が重要である。

薬事申請に向けては、生存期間との相関が一番重要なデータとなるが、薬事申請までをリードできる人材、がんの臨床評価に精通した検証試験を設計できる人材のサポートが必要と思われる。

実用化にむけては、生存期間との相関が薬事申請に向けた一番重要なデータとなる。このデータが薬事申請、今後のICI臨床試験で製薬会社がコンパニオン診断薬開発を含めた開発計画に興味を持つか否かの鍵となる。今後、例えばマウス移植腫瘍モデル試験など十分なデータが得られていない研究ではなく、最終年度までに成果が得られる研究にフォーカスを絞り、優先順位をつけて取り込むこと及び出口戦略の具体性を明確化することが必要である。