

日本医療研究開発機構
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)
事後成果報告書

I 基本情報

研究開発課題名：

(日本語) 免疫応答モニタリングによるがん免疫の全容理解に基づく新規層別化マーカーの開発
(英語) The development of novel biomarkers stratifying cancer patients based on comprehensive understanding of cancer immunity with immunomonitoring strategies

研究開発実施期間：令和元年 10 月 30 日～令和 6 年 3 月 31 日

研究開発代表者 氏名：(日本語) 上田 龍三
(英語) Ryuzo Ueda

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

(日本語) 一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム・特別顧問
(英語) Japan Biological Informatics Consortium・Advisor

II 研究開発の概要

近年がん治療分野で大きな発展を遂げてきた免疫療法、とりわけ免疫チェックポイント阻害(ICI)療法は多くのがん種に対して長期持続的な臨床効果を示すことが明らかになったが、奏効する患者の割合は 20% 程度である。有害事象回避や医療経済の観点もあり、適応患者群を絞り込む層別化マーカーの開発が行われている。PD-L1 検査や MSI 検査がコンパニオン診断として ICI 療法の適応判定に用いられているが、層別化マーカーとして十分な感度・特異度は得られていない。様々な免疫併用療法の治験も進められていることから、個々のがん患者の免疫状態を統合的に把握し、適切な治療介入を行うための層別化マーカーが求められている。また、ICI 治療は、単剤で実施されるだけでなく、化学療法薬や抗 CTLA-4 抗体との併用で用いられる場合が増加している。このような治療環境の変化は、層別化バイオマーカーの探索と社会実装に影響を与えるので、十分に留意が必要である。

ICI 療法の層別化マーカー探索研究では、従来の病理的腫瘍組織解析や腫瘍遺伝子解析により宿主の免疫応答を正確に推定することが難しいことが示されており、免疫細胞そのものの詳細な解析が重要であることが示唆されている。研究分担者の各務、西川らは、本研究開発課題のスタート時に、肺癌患者末梢血中の CD62L^{low}CD4⁺ T 細胞数と制御性 T 細胞(Treg)数の比率、および腫瘍局所における PD-1⁺CD8⁺ T 細胞と PD-1⁺ 活性化 Treg の比率により ICI 治療効果予測が可能であることをそれぞれ見出していた。さらに、末梢血およびがん局所免疫モニタリングによる免疫細胞解析のバイオマーカーへの応用は、米国においても緒についたばかりであった。本研究グループは、上記の様にマーカーシーズを持っており、末梢血とがん組織の両面から免疫応答メカニズムを解明する

機能、情報共有のためのセキュアなデータベース構築機能、AI 解析ツール開発機能、さらに、出口を見据えた診断・製薬企業による開発機能等の各分野の最先端技術を保有しており、十分な競争力を有して、本研究開発課題への取り組みを開始した。

本研究開発課題では、課題 1：がん患者末梢血免疫細胞解析による免疫システム全容の数理的理解、課題2：がん局所免疫評価による腫瘍微小環境 (TME) 解析に基づくがん免疫応答調節機構の解明、課題3：1～2で取得したデータについて体系的がん免疫データベースとデータ解析ツールとの一体化システム開発、課題4：1～2で見出された患者層別マーカー実用化のための診断機器開発と検証を実施する事とした。これにより、低侵襲で経時的解析可能な末梢血検体を解析し層別化マーカーを同定し、がん組織免疫評価によりマーカーの生物学的・病理学的意義を明確にすると共に、がん局所検体を用いたマーカーも検討する事とした。さらに、データベース構築と解析により、個々の患者の治療法最適化を進めるためのアルゴリズム作成に繋げ、新規がん免疫療法診断システムを開発する事も考慮する事とした。また、診断システムの上市等に向け当該分野の層別化マーカーの研究開発状況等の調査を実施し、研究開発成果の創薬等での円滑な利活用、橋渡しのためユーザーフォーラムとしての企業コンソーシアムを組織する計画を持って研究開発を開始した。

以下に、課題 1 から課題 4 の成果について述べる。

課題 1「がん患者末梢血免疫細胞解析による免疫システム全容の数理的理解」

研究開始当初から保有していたバイオマーカー K-index に加えて、新規バイオマーカー Th7R を見出した。両バイオマーカーについて、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果との関係性を明確にするとともに、癌腫横断的な前向き臨床研究および抗 PD-1 抗体併用臨床研究において更なる検証を進めている。

課題 2「がん局所免疫評価による腫瘍微小環境 (TME) 解析に基づくがん免疫応答調節機構の解明」

CD8+T 細胞と制御性 T 細胞 (Treg) に発現する PD-1 の発現強度の違いが抗 PD-1/抗 PD-L1 抗体の治療効果と相関する精度の高い効果予測バイオマーカーとなることを報告した。層別化バイオマーカーとしての有用性を評価するため、バイオマーカーの企業治験を開始した。さらに、生検検体を用いた解析手法ならびに解析に関わる試薬を企業導出し、これまでに複数の企業の臨床試験で解析手法が活用されると共に、試薬については商品化に繋げ、グローバル販売をするに至った

また、腫瘍局所の解析から、Treg 細胞によって腫瘍免疫機能が低下するメカニズムを複数明らかにした。くわえて、Treg 細胞の腫瘍組織内活性化メカニズムの研究を進め、重要な転写因子 BATF を見出した。

課題 3「体系的がん免疫データベースとデータ解析ツールとの一体化システム開発」

がん免疫ビブリオテカの構築を完了し、埼玉医科大学で取得した肺癌 100 症例程度の情報を格納した。今後、他癌腫や他施設のデータを含めて、症例格納数を増加させる予定である。製薬企業を招いて、がん免疫ビブリオテカの説明会を実施した。参加企業の中には、このシステムに興味を持つ会社が多かった。一方、データ数の拡充やデータ使用权の確認を気にかける意見もあった。

課題 4「患者層別マーカー実用化のための診断機器開発と検証」

K-index の社会実装に向けて、複雑な手技手法で実施されていた K-index の測定を全自動で実施可能とした自動染色装置を完成させた。臨床ニーズの調査と PMDA 全般相談の結果を踏まえて、K-index の用途を明確にするために、抗 PD-1 抗体単剤治療の効果予測データだけではなく、種々の抗 PD-1 抗体併用治療の効果予測データも必要と考えている。既に、抗 PD-1 抗体との併用コホートを含む臨床研究を開始してデータの拡充を図っている。

リン酸化反応計測機器については、試作機の作製・評価を経て、開発機の作製と性能評価を実施した。ニーズ調査の結果からバイオセーフティレベルを向上させた仕様に変更している。事業性調査にも着手をしている。今後、ユーザーの要望に応えるエビデンスの準備、サンプル調整終了までのリン酸化状態の安定性確認、細胞取得プロセス構築等、追加の情報創出が必要と認識している。

II Outline of Research and Development

Immunotherapy, especially immune checkpoint inhibition (ICI) therapy, has made significant progress in the field of cancer treatment in recent years and has demonstrated long-term durable clinical efficacy against many types of cancer, but only about 20% of patients respond to the therapy. From the viewpoints of adverse event avoidance and healthcare economics, stratification markers are being developed to narrow down the patient population for ICI therapy; PD-L1 and MSI tests are used as companion diagnostics to determine the indication for ICI therapy, but they do not have sufficient sensitivity and specificity as stratification markers. As clinical trials for various immunotherapy combinations are underway, stratification markers are needed to comprehensively understand the immune status of individual cancer patients and to provide appropriate therapeutic intervention. In addition, ICI therapy is increasingly used in combination with chemotherapeutic agents and anti-CTLA-4 antibodies, in addition to being administered as a single agent. These changes in the therapeutic environment will affect the search for stratification biomarkers and their implementation in clinical and require careful attention.

In a stratified marker search study for ICI therapy, it has been shown that it is difficult to accurately estimate the host immune response by conventional pathological tumor tissue analysis and tumor gene analysis, suggesting the importance of detailed analysis of the immune cells themselves. At the start of this research and development project, research members Drs. Kagamu and Nishikawa found that the ratio of CD62L^{low} CD4⁺ T cell counts to regulatory T cell (Treg) counts in the peripheral blood of lung cancer patients and the ratio of PD-1⁺ CD8⁺ T cells to PD-1⁺ activated Tregs in the local tumor area could predict ICI treatment response, respectively. Furthermore, the application of immune cell analysis to biomarkers by peripheral blood and local cancer immune monitoring was just getting started in the United States. This research group has the marker seeds as described above, and possesses cutting-edge technologies in various fields, such as functions to elucidate immune response mechanisms from both peripheral blood and cancer tissue, functions to construct a secure database for information sharing, functions to develop AI analysis tools, and development functions by diagnostic and pharmaceutical companies with an eye on the future. The company possesses the following capabilities, and has started work on this R&D project with sufficient competitiveness.

In this R&D project, we will conduct the following four tasks: 1) mathematical understanding of the immune system by analyzing peripheral blood immune cells of cancer patients; 2) elucidation of the regulatory mechanism of cancer immune response based on tumor microenvironment (TME) analysis by assessing local cancer immunity; 3) development of a system to integrate data obtained from tasks 1 and 2 with a systematic cancer immunity database and data analysis tools; 4) development and validation of diagnostic equipment for practical use of patient-specific markers found in tasks 1 and 2. These will allow us to identify stratification markers by analyzing minimally invasive peripheral blood samples that can be analyzed over time, and to clarify the biological and pathological significance of the markers by immunological evaluation of cancer tissues, as well as to examine markers using local cancer samples. In addition, the database construction and analysis will lead to the creation of an algorithm to optimize the treatment for each patient, and the development of a novel cancer immunotherapy diagnosis system will also be considered. In addition, the research and development were started with a plan to conduct a survey on the research and development status of stratified markers in the field for the launch of the diagnostic system, and to organize a corporate consortium as a user forum for appropriate utilization of the research and

development results in drug discovery.

The following describes the results of Tasks 1 through 4.

Task 1: "Mathematical Understanding of the Immune System by Analyzing Immune Cells in Peripheral Blood of Cancer Patients.

In addition to the biomarker K-index, which has been in our possession since the beginning of the study, we discovered a new biomarker Th7R. The relationship of both biomarkers to the therapeutic effect of immune checkpoint inhibitors has been clarified, and further validation is underway in a prospective clinical study across cancer tumors and in a clinical study of anti-PD-1 antibody combination.

Task 2: "Elucidation of Regulatory Mechanisms of Cancer Immune Responses Based on Tumor Microenvironment (TME) Analysis by Evaluation of Local Immunity in Cancer"

We reported that differences in PD-1 expression intensity on CD8+ T cells and regulatory T cells (Treg) are accurate predictive biomarkers that correlate with therapeutic efficacy of anti-PD-1/anti-PD-L1 antibodies. To evaluate the usefulness of the biomarker as a stratified biomarker, we have initiated a corporate clinical trial of the biomarker. Furthermore, we licensed out the analysis method using biopsy specimens and reagents for the analysis to a company, and the analysis method has been used in clinical trials by several companies to date.

In addition, local analysis of tumors has revealed several mechanisms by which Treg cells reduce the immune function of tumors. In addition, we have studied the activation mechanism of Treg cells in tumor tissues and found an important transcription factor, BATF.

Task 3: Development of a system for integrating a systematic cancer immunology database with data analysis tools.

The construction of the Cancer Immuno-Vibriothea has been completed, and information on about 100 lung cancer cases obtained at Saitama Medical University has been stored. In the future, we plan to increase the number of cases stored, including data on other carcinomas and data from other institutions. We invited pharmaceutical companies to a briefing session on Vibriothea for Cancer Immunology. Many of the participating companies were interested in the system. On the other hand, some expressed concern about expanding the number of data and confirming data usage rights.

Task 4: "Development and Validation of Diagnostic Equipment for Practical Application of Patient Stratification Markers"

Toward the social implementation of K-index, we have completed an automated staining system that enables fully automated measurement of K-index, which had been conducted by complicated manual methods. Based on the results of the clinical needs survey and PMDA general consultation, we believe that not only efficacy prediction data of anti-PD-1 antibody monotherapy but also efficacy prediction data of various anti-PD-1 antibody combination therapies are needed to clarify the use of K-index. We have already started a clinical study including a cohort of patients treated with anti-PD-1 antibodies to expand the data.

For the phosphorylation reaction measurement instrument, after fabrication and evaluation of a prototype, a development machine was fabricated and its performance was evaluated. Based on the results of the needs assessment, the specifications were changed to improve the biosafety level. A feasibility study has also been initiated. In the future, we recognize the need to generate additional information, including the preparation of evidence to meet user needs, confirmation of the stability of the phosphorylation state until the end of sample preparation, and construction of a cell acquisition process.