

総括研究報告書

1. 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
2. 研究開発代表者：本庶 佑（国立大学法人京都大学）
3. 研究開発の成果

本年度は、昨年度確立した高感度 PD-L1 エライザーを用いて、手術前後のがん患者の血漿中に含まれる可溶性 PD-L1 を測定し、高感度 PD-L1 エライザーの有用性の検証を行った。その過程で PD-1 抗体治療の有効性を判断するバイオマーカーとして、血漿中 PD-1, CTLA-4 タンパク量も測定した方が良いことが判明し、血漿中 PD-1, CTLA-4 タンパクを測定するための高感度エライザーの開発にも着手し始めた。まずは市販の PD-1, CTLA-4 を用いて、市販がん患者と健常者間で血中濃度に差が出るかを予備検討した。下記に実施内容の概要を述べる。

(a) サンプルの収集：

腫瘍の切除により、腫瘍由来の血中 PD-L1 量が減少するか検討するため、泌尿器科、産婦人科、呼吸器外科の協力体制のもと、腎癌、卵巣癌、非小細胞性肺癌患者から、それぞれ術後前後の血漿を回収した。予定では今年度1年をかけ、腎癌、卵巣癌、非小細胞性肺癌それぞれ6、10、10症例を集める予定であった。結果、それぞれの患者 13、17、18 症例集まった。後半で新規に参入した患者もあり、現在も解析を進行中である。

(b) 手術前後の血中 PD-L1 量測定による PD-L1 エライザーの有効性の検証：

昨年度シスメックスとの共同開発で確立した高感度エライザーによって、微少な血中 PD-L1 を検出し、手術前後の血漿サンプルに差があるか否か検討した。その結果、予想に反し、手術の影響による血中 PD-L1 量の上昇が見られた。血中 PD-L1 量の増減を検出することができたので PD-L1 エライザーの有効性は実証することができた。この結果は血中 PD-L1 量はがん以外の免疫反応（術後炎症）にも影響を受ける可能性を示している。術後炎症の影響を除くため、術後数ヶ月の検体も順次回収している。しかし、これらの結果より、血中 PD-L1 量と腫瘍量は必ずしも一致しない可能性を得たため、さらに詳細に効果を予想するマーカーの候補として、免疫側とくに T 細胞の活性化状態を予想できる可溶性 PD-1 と CTLA-4 の測定の開発も着手することに決定した（計画変更認可済み）。

(c) 癌組織の PD-L1 発現と血中 PD-L1 発現の相関性：

はじめに、癌組織の PD-L1 抗体を用いた免疫染色法を確立し、発現量の標準化を行なった。この条件で、癌組織の PD-L1 発現を確認し、その結果と血中 PD-L1 量の相関性を検討した。さらに血中 PD-L1 量を、前年度確立したエライザーを用いて測定した。ある程度相関する可能性があるが、サンプル数が少ないため、症例数をさらに集めた。本年度後期と来年度初期に得られた検体も含めた解析は来年度の前半期までには報告できる見込みである。

(d) 血中 PD-1, CTLA-4 タンパクを測定するための高感度エライザーの開発の開始。

(e) がん患者と健常者間における血中 PD-1, CTLA-4 の差異の検証：

市販の PD-1, CTLA-4 を用いて、市販がん患者と健常者間で血中濃度に差が出るかを予備検討した。その結果、可溶性 PD-1 と可溶性 CTLA-4 の間で、がん患者の方が健常者よりも高値を示す傾向が得られた。3種のエライザー結果の組み合わせにより、がん疾患か否かを区別できる可能性を示すデータが得られたので特許出願を行った。また市販エライザーでは予想通り感度が悪く、低値の領域が小さくなっていた。このことは、可溶性 PD-1 と可溶性 CTLA-4 においても高感度エライザーの開発の必要性を強く示している。

(f) PD-1 抗体治療前後における悪性黒色腫患者の検体の収集： 京都大学皮膚科の協力を得、患者検体を収集するための倫理委員会書類を作成し、審査承認を得た。