

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「効果的な複合免疫療法の確立」（抗 PD-1 抗体免疫療法における有効性・非有効性の原因解明とその克服に向けた手法の開発）
2. 研究開発代表者：濱西潤三（国立大学法人京都大学 大学院 医学研究科）
3. 研究開発の成果

京都大学で行った卵巣癌に対する医師主導第 II 相治験で得られた患者検体を用いた統合的解析から、臨床情報に関連する新しい因子の候補を複数個抽出することを本研究の目標とし以下①～⑤を行った。

① 統合的オミックス解析の実施：当科で行ったプラチナ抵抗性進行/再発卵巣がんに対する抗 PD-1 抗体（Nivolumab）を用いた医師主導第 II 相治験（以下医師治験）の患者から採取した保存採血検体や腫瘍を用いたゲノム解析、網羅的遺伝子発現解析、タンパクの網羅的解析などを行った。それらの結果これまでに腫瘍の網羅的遺伝子発現解析にて、医師治験薬の有効例と無効例によって発現が異なる遺伝子あるいは、治療効果の判定によって発現が異なるスコアを示す遺伝子群（シグネチャー）を抽出した。さらにゲノムワイドな遺伝子変異解析を行った結果、有効例で特徴的な遺伝子変異を同定した。② 血液細胞を用いた治療有効・無効例での変化の探索：京大医師治験患者から採取した保存採血検体から抽出した免疫細胞のゲノム DNA を抽出した。さらに、同医師治験患者血清検体を用いたガスクロマトグラフィー-質量分析計（GC-MS）による代謝物の網羅的解析を行った。測定データより、アミノ酸、有機酸、糖類を中心とする 103 種類の代謝物を同定・定量し、有効例と無効例によって定量値に差のみとめられた代謝物の抽出を行った。加えて、同一患者について、投与前、投与後 1 日、投与後 14～28 日の 3 点で取得した血清を用いて、同様の GC-MS 代謝物解析を行った。この時系列データについては今後解析を進める予定である。一方で採血検体から免疫細胞を抽出した DNA から特にがん免疫に重要な役割を担う T 細胞や B 細胞の抗原受容体の塩基配列を、次世代シーケンス技術により網羅的に解析（免疫細胞レパトア解析）を行った。その結果、有効例（完全奏効、部分奏効、不変例）にのみ特徴的な変化を示すことを同定した。③ 細胞株やモデル動物による検討：上述の②で得られた候補遺伝子やタンパク質の機能的意義を確認・解析するため、PD-1 シグナル阻害治療に感受性・非感受性を示すマウスモデルの作成を行った。どのような細胞株とマウスの組み合わせが PD-1 抗体治療の感受性/非感受性を決定するか検討するため、様々な異なった腫瘍を異なった系統のマウスに接種し、PD-1 抗体治療に対する感受性を決定した。その結果、C57BL/6 マウスでは大腸癌 MC38, Balb/c マウスでは腎癌 RENCA で感受性が高いことが明らかになった。MC38 モデルにおいて PD-1 阻害治療を行っている際に、血清中のケモカイン・サイトカインを網羅的に調べると、IFN- $\gamma$  で誘導されるケモカイン X が顕著に高いことが明らかになった。Xreceptor である Y 受容は活性化 CD8<sup>+</sup> T 細胞 CD44 high<sup>+</sup>に高く発現しており、抗 Y 抗体で X/Y 相互作用を阻害すると、PD-1 阻害抗体効果は全くなかった。これらのことは、血中におけるサイトカイン X が有効性・非有効性を決定する因子になりうることを示した。④ 臨床情報作成と統合的オミックス解析との比較解析：「京大医師治験」で行った被験者 20 人の治験は、平成 26 年 12 月に終了し、医師主導治験で得られたデータをもとに総括報告書を平成 27 年 3 月に作成した。さらに医師治験でプロトコールに従い収集した CRF データ以外の臨床情報も収集し比較解析をおこなった。⑤ 知財管理と渉外交渉：当科医師治験の終了後に、同治験検体を用いた解析に係る検体採取、データ解析、知財管理等について京大と当該企業との間で協議を行い、一定の取決めを行った。また企業主導の次相試験（企業治験）を行う予定であるが、その際に同時並行して行うトランスレーショナルリサーチ（TR）研究について当該製薬企業に渉外交渉を行った。