

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：32305
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2017～2022
課題番号：17K15498
研究課題名（和文）PD-1抗体薬物動態、血清プロテオミクス、遺伝子多型解析に基づく個別化医療の確立

研究課題名（英文）Development of biomarkers to predict the efficacy of anti-PD-1 antibody

研究代表者
高橋 雄太（Takahashi, Yuta）

高崎健康福祉大学・薬学部・助教

研究者番号：70509918
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：肺癌に使用される高額な抗体医薬品であるニボルマブの最適な投与設計法を確立するために薬物血中濃度解析法、薬効と副作用のマーカー探索法について検討した。ニボルマブの薬物血中濃度を比較的簡便な方法で測定可能となり、ニボルマブ単独投与と患者の検体を解析することが可能となった。癌関連のたんぱく質のトリプシン消化により得たペプチドを解析したところ、常法の血清プロテオミクスでは感度不足により、マーカーを得ることが困難であると評価した。本研究の科研費申請以降、薬効および副作用についてのマーカー解析の報告が散見されており、これらのマーカーとニボルマブの血中濃度との関連を現在検討中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義
肺癌に使用される高額な抗体医薬品であるニボルマブの薬物血中濃度や血中の特定のタンパク質と薬効もしくは副作用に関連が認められることにより、薬効や副作用の予測方法の検討が可能となる。ニボルマブの薬効や副作用の予測方法を見出すことができれば適正使用を図ることが可能となる。さらには同様の薬効群の医薬品においても同様の検討を行うことにより、薬効や副作用の予測方法の検討を実施することが可能となる。

研究成果の概要（英文）：Methods for analysing drug blood levels and searching for markers of drug efficacy and side effects were investigated to establish optimal dosing design methods for nivolumab, a high-cost antibody drug used for lung cancer. The drug blood levels of nivolumab can now be measured in a relatively simple method and samples from patients treated with nivolumab alone can be analysed. Peptides obtained by trypsin digestion of cancer-related proteins were analysed, and it was assessed that it was difficult to obtain markers by the usual method of serum proteomics due to insufficient sensitivity. Since the application for the Grant-in-Aid for Scientific Research for this study, several marker analyses for drug efficacy and side effects have been reported, and the relationship between these markers and blood levels of nivolumab is currently under investigation.

研究分野：医療薬学

キーワード：抗体医薬品 血中薬物濃度 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

最近の統計では、日本人の 3.5 人に 1 人はがんで亡くなることが公表されているが、医学の進歩に伴い、早期発見に基づく外科的切除により、がんでさえも完治させることが可能になっている。さらに、IgG 抗体の一部を組み替えた抗体医薬品が新たな分子標的薬として注目されている。PD-1 抗体であるニボルマブは、非小細胞肺癌、悪性黒色腫および腎細胞がんにおいて、腫瘍免疫反応の改善による強力な抗がん作用を発揮するとともに、ごくまれな自己免疫性の重篤な副作用を惹起する (N Engl J Med, 366, 2012; 2443-2454.)。一方、一般的な抗がん剤同様、治療開始直後は効果が認められた場合でも、中和抗体や耐性化因子の発現による耐性化が生じることが予想される。また、ニボルマブをはじめとする抗体医薬品の価格が高額であることから、医療経済的な問題が生じている。したがって、ニボルマブをより有効で、副作用が少なく耐性化を回避する条件で継続投与するためには、投与設計法、患者選択法および耐性化の克服法が必要である。しかし、ニボルマブの薬効や副作用を予測するバイオマーカーや耐性化の詳細については未だ明らかにされていない。

一般的に、薬物血中濃度解析に基づく治療効果の向上や副作用の回避が実施されており、がん治療においても、一部の薬剤で可能である。抗体医薬品は分子量が大きいことから、薬物体内動態は分布容積(血液量)のみに依存し、個人差は少ないと考えられている。しかし、一部の臨床試験では薬物体内動態における性差や、遺伝子的因子では説明できない個人差が確認されており、副作用の発現についても同じく個人差が認められている。したがって、抗体医薬品の薬効や副作用を予測するために個人差等の影響を考慮した詳細な投与設計が必要である。抗体医薬品の定量において、結合親和性を利用した免疫測定法は高感度であるが、血液中の中和抗体や代謝物による妨害を受けることが問題とされている。一方、高速液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC-MS) は正確、高感度かつ低コストで測定可能であり、詳細な投与設計のための薬物動態解析に適している。

全遺伝子の解読に基づいたゲノム研究の進展により、薬物療法の効果に影響するとされる多くの遺伝的要因が明らかとなり、セツキシマブやパニツムマブなどの抗体医薬品は特定の遺伝子型を持つ患者に対して非常に有効であるが、それ以外の患者に対しては無効であることが知られている。遺伝子型に基づいた患者の選択は有効ではあるが、薬効や副作用の発現予測において説明できない個人差も多く、予測精度は不十分である。一方、ゲノム DNA から転写・翻訳を経て合成される最終産物であるタンパク質は受容体や細胞内外のシグナル伝達物質を構成しており、その発現量や機能が薬効や副作用の発現に直接関わっている。したがって、薬効や副作用の予測精度を高めるには、がん細胞やがん微小環境などのプロテオミクス解析が有効であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、ニボルマブの薬効や副作用を予測し、より有効かつ副作用を軽減した治療を

継続的に実施するために、ニボルマブ投与患者を対象として、薬物動態の個人差、遺伝子多型、標的分子としてのタンパク質の発現、および耐性を惹起する中和抗体と耐性化因子の発現を評価する。それらの項目を説明変数として、薬効、副作用および耐性の発現を目的変数とする重回帰分析、ロジスティック回帰分析を行い、薬効、副作用および耐性の発現に寄与する因子を評価する。以上の結果から、ニボルマブの最適な投与設計支援システムを構築することで、抗体医薬品全般の最適な投与設計支援システムを構築するための方法論を構築することを目的とする。

3 . 研究の方法

PD-1 抗体投与患者の血中濃度定量

血中ニボルマブ濃度は酵素結合免疫吸着測定法および高速液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC-MS) を併用して測定する。ニボルマブ由来ペプチド ASGITFSNSGMHWVR を標的ペプチドとして還元アルキル化トリプシン処理する方法にて前処理した後、Waters社の XevoTQ 質量分析計を用いる。その結果より、PD-1 抗体の体内動態を解析し、有効血中濃度の有無および濃度域、血中濃度と副作用の発現頻度もしくは重症度との相関性を明らかにする。

抗 PD-1 抗体投与患者の生体由来タンパク質を対象とした血清プロテオミクス解析とマーカー探索

がん関連タンパク質である stathmin および TGF- β 1 を常法にしたがって還元アルキル化トリプシン消化し、LC-TOFMS で分析した。

本研究の科研費申請以降に薬効および副作用についての可能性が報告されたマーカーについては酵素結合免疫吸着測定法などの直接的な解析に切り替えて、抗体医薬品の動態と治療効果や副作用のマーカー候補たんぱく質の関係について評価する。

4 . 研究成果

上述の目的において、結果を解釈しやすくするために、ニボルマブの単独投与を受けた患者の検体を解析することが重要である。しかしながら、利用可能なニボルマブ単独投与の患者検体の症例数と検体量が限られている。したがって、抗体医薬品の血中濃度測定および治療効果や副作用のマーカー探索に限定して研究を進め、遺伝子多型解析についてはこれらの検討後に実施する。

高速液体クロマトグラフィー質量分析計を用いた抗体医薬品の血中濃度解析方法を検討した。測定に必要な直線性および感度は確保されており臨床検体の測定は可能となっている。血液成分によると思われるピークが検出されており、血中濃度と治療効果について関連

の有無が論文によって分かれる結果となっていることから、従来の酵素結合免疫吸着測定法測定系を併用して解析中である。

癌関連のたんぱく質である TGF- β 1 や stathmin のトリプシン消化ペプチドの感度をターゲットプロテオミクスの手法で確認したところ、常法では感度が不足しており、血清プロテオミクスではマーカーを得ることが困難であると評価した。本研究の科研費申請以降に薬効および副作用についてのマーカー解析の報告が散見されている。これらの既報を参考にした直接的な解析に切り替えて、抗体医薬品の動態と治療効果や副作用のマーカー候補たんぱく質の関係については現在評価中である。

抗薬物抗体の解析については液体クロマトグラフィー飛行時間型質量分析と成分分析の手法を組み合わせた共同研究先の常法にて実施可能となっている。抗体医薬品の動態と治療効果の関係において抗薬物抗体の存在が示唆された場合に評価を加える。

詳細については学術論文として投稿を予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------