血管新生阻害剤も患者階層化の時代に！？

分子標的抗がん剤におけるバイオマーカー研究と患者階層化研究について —血管新生阻害剤レンバチニブを例に—

松井 順二¹⁾, 船橋 泰博²⁾

要約：この15年来、抗がん剤領域治療において分子標的薬の出現に伴い個別化医療が臨床の現場において進展してきた。その実現には分子標的薬の開発のみならず、コンパニオン診断薬の同時開発が不可欠になり、製薬会社はその両者の開発を鋭意進展させている。これらはがん細胞のheterogeneityへの対策であり、この間分子レベルでのメカニズムが解明されてきたことによることが大きい。一方ではこの間ベバシツマブなどの血管新生阻害作用を持つ分子標的治療薬も承認がなされているが、当初期待していたものとは異なり自然耐性化や獲得体制化の存在も報告されるようになってきた。したがって血管新生阻害剤に対してもがん細胞を標的とする分子標的治療薬と同様に効果が期待できる患者層を選別する必要性が明らかとなっている。そのため前臨床、臨床でのトランスレーショナル研究の重要性がますます高まっているため、本稿にてその必要性となる背景と前臨床研究にて実施した結果を記載する。

1. はじめに

日本人のがん罹患率の増加にともない、新たな抗がん剤開発の重要性はより大きくなっている。がんの発生はがん原遺伝子やがん抑制因子が多種・多様に関連しているため、その病態は多様性に富んだ疾患である。がんを克服するためには、原因分子の同定に加えて、その分子シグナルを阻害する分子標的薬の開発が不可欠であり、1990年代後半に承認されたリツキシサン（B細胞性腫瘍、抗CD20抗体）やハーセプチン（HER陽性乳がん、抗HER2抗体）を皮切りに、これまで30をも超える分子標的治療薬が承認されている。分子標的薬はその作用機序が明確なため、薬剤の開発と同時に

その薬剤が効果を示すコンパニオン診断薬の開発が進められ、患者ごとに最適の治療法を提供する個別化医療の確立が進展してきている。またがん細胞に対して作用する薬剤のみならず、2004年のベバシツマブ（大腸がん・非小細胞肺がん・グリオブラストーマなど、抗VEGF抗体）を皮切りにソラフェニブ（腎細胞がん・肝細胞がん、VEGF受容体キナーゼ阻害剤）、スニチニブ（GIST・腎細胞がんなど、VEGF受容体キナーゼ阻害剤）、パゾパニブ（腎細胞がん・軟部肉腫、VEGF受容体キナーゼ阻害剤）の血管新生阻害剤やイブリムマブ（メラノーマ、抗CTLA-4抗体）の免疫抑制剤が承認を獲得し、がんの進展に微小環境因子が重要であることを証明した。中でも血管新生阻害剤については、血管新生の活性化機構は多様性が著しいがん細胞のがん化過程と比較するとその数は限られているため、広範囲のがん腫に対する治療効果が期待されていたが、必ずしも万能に効果が期待できるわけではないこと、また一部のがんでは血管新生阻害剤に耐性化を示すケースも報告されてきた。したがって血管新生阻害剤に対してもがん細胞を標的とする分子標的治療薬と同様に効果が期待できる患者層を選別する必要性が明らかとなっている。そのため前臨床、臨床でのトランスレーショナル研究の重要性がますます高まっている。

2. 腫瘍組織の血管新生とその多様性

胎仔期での血管形成は未分化内皮前駆細胞の発生とその成熟化、管腔形成を経て原始的な血管叢の形成という脈管形成（vasculogenesis）が行われ、その後、血管壁への壁細胞（ペリサイト、平滑筋細胞）動員による血管構造の安定化や原始血管の再構築（血管の融合、

キーワード：血管新生阻害剤、レンバチニブ／E7080、バイオマーカー、患者階層化、個別化医療

¹⁾ エーザイ株式会社 オンコロジー創薬ユニット（〒300-2635 茨城県つくば市東光台5-1-3）

²⁾ エーザイインコーポレーテッド バイオマーカーパーソナライズドメディシン機能ユニット（4 Corporate Drive Andover, MA 01810, USA）
E-mail: j2-matsui@hhc.eisai.co.jp 原稿受領日：2013年7月2日、依頼原稿

Title: Preclinical biomarker research and patient stratification of molecular target agents: the anti-angiogenic inhibitor Lenvatinib mesylate (E7080). Author: Junji Matsui, Yasuhiro Funahashi

発芽型および埋入型血管新生)などの過程(血管新生: angiogenesis)を経て, 全身細部におよぶ血管網が張りめぐらされていく. がんの増殖や転移には血管新生が不可欠であるが(1), がんの血管新生は既存の血管からの血管内皮細胞の遊走・増殖といった angiogenesis や骨髄からの血管内皮前駆細胞の動因による血管新生が起こり, 血管網が張り巡らされることわがわっている.

既存の血管内皮細胞の遊走・増殖による血管新生は, VEGF, bFGF, HGF, IL-8 および PDGF などの古典的な血管新生促進因子と thrombospondin-1 などの血管新生抑制因子のバランスで制御されていることが報告されていたが, 昨今の遺伝子改変マウスでの解析からそれら古典的な血管新生因子のみならず, 発生段階に関与していることが明らかとなった tie-2 を受容体とするアンジオポエチン, KIT を受容体とする stem cell factor(2) のような分泌型血管新生因子や, EphB4 を受容体とする ephrin-B2 や NOTCH1-4 を受容体とする Dll4 や Jagged1 などの血管接着因子, あるいは CXCR4 を受容体とするケモカインなど新たな分子も腫瘍組織の血管新生に関わることが分かってきた.

腫瘍組織中の血管の生理学的な解析により, 未成熟な形で血管を維持している構造を持つ血管や, 壁細胞による血管構造の安定化が図られているもの, あるいは一部壁細胞は動因しているものの, 未成熟な形で安定化が図られる血管があることが分かってきている(3). また, 腫瘍組織中の血管は, その構成する細胞は限られてはいるものの, 単一構造ではなく, 多様な形態を示しており, 複数の血管因子や細胞が関与していることが明らかとなっている.

その中でもがんの増殖に中心的な役割を果たしているといわれている血管新生因子は VEGF であり, その中和抗体であるベバシツマブ(商品名: アバスタ)は腫瘍組織の血管を退縮させることで, 転移性大腸がんにも効果を示し, 世界各国で抗がん剤治療薬として承認を取得し, 腫瘍血管を標的とした薬剤ががん治療において有効であることを証明した. またその後, 大腸がんのみならず, 非小細胞肺癌やグリオブラストーマなど複数のがん腫でも抗がん剤治療薬として承認され, 多くのがん細胞が単一のシグナルを利用して血管新生を惹起していることが明らかとなった. 一方では臨床試験が進むにつれて, すべてのがんに対して有効性を示すことができないこと, 投与を続けていてもいずれば治療耐性が生じることも分かっており, がんの増殖への血管への依存性の変化や別の機構による血管新生が関与していることが示唆されている(4).

3. 血管新生阻害剤の開発ーレンバチニブを例にー

VEGF シグナル阻害剤は前述したベバシツマブといった VEGF を標的とする抗体製剤等のバイオリクスに加えて, ソラフェニブ(商品名: ネクサバル), スニチニブ(商品名: スーテント)を始めとする細胞膜上に発現する VEGF 受容体に結合する低分子化合物に大別され, さまざまながん腫に対する抗がん剤治療薬として既に承認, あるいは開発が進行中である(表1). 低分子化合物は VEGF 受容体の ATP 結合部分およびその近傍に結合することでその細胞内伝達に必要なキナーゼ活性を阻害し血管新生阻害効果を発揮する. キナーゼ阻害剤はその結合部位の特異性から VEGF 受容体以外のキナーゼに対する選択性や結合力が異なってくる. レンバチニブはキノリン・ウレア構造を基本骨格とした化合物で VEGF 受容体キナーゼに加えて, RET キナーゼ, FGF 受容体キナーゼ, KIT キナーゼに対して選択的かつ強活性を示すことが明らかとなっており(5, 6)(図1), 現在日米欧にて甲状腺がん, 肝がんでの第Ⅲ相試験が進行中である.

4. 分子標的治療薬の個別化医療に向けたバイオマーカーの取り組み

1997 年に米食品医薬品局(FDA: Food and Drug Administration)に承認された抗 CD20 抗体リツキシマブ(商品名: リツキサン), 同 1998 年の抗 HER2 抗体トラスツマブ(商品名: ハーセプチン), 同 2001 年の BCR-ABL キナーゼに対する低分子阻害剤イマチニブ(商品名: グリーベック)を皮切りに単一あるいは複数の標的を選択的に阻害する分子標的治療薬が抗がん剤治療として承認され, 今やクラシカルな殺細胞性薬剤をも凌ぐ勢いで各製薬会社が開発している. その作用機序の特異性から薬剤が効果を発揮する可能性の高い患者層を選別するための診断薬の開発は 2005 年の FDA による Drug Diagnostic Co-development 構想以降, 急速にその重要性が認識され, BRAF 変異メラノーマ治療薬として 2011 年に承認されたベムラフェニブ(商品名: ゼルボラフ)や ALK 陽性進行非小細胞肺癌治療薬クリゾチニブ(商品名: ザーコリ)のように治療薬の開発と同時にコンパニオン診断薬を承認取得する例が増えてきた(表2). メラノーマと診断される患者の中で約 50%~70% がベムラフェニブの治療対象となる BRAF 変異を有し, また非小細胞肺癌と診断される約 5% がクリゾチニブの治療対象となる ALK の融合遺伝子の発現が確認されている. これま

表1 VEGF 受容体キナーゼ阻害剤の開発状況

一般名	開発名	開発会社	承認	第Ⅲ相	第Ⅱ相
レンパチニブ	E7080	エーザイ	－	分化型甲状腺がん, 肝臓がん	子宮内膜がん, メラノーマ
ソラフェニブ	BAY 43-9006	バイエル	腎臓がん, 肝臓がん	分化型甲状腺がん, 肝臓がん, 乳がん, 非小細胞肺癌	大腸がん, 卵巣がん, など
カボサンチニブ	XL184	エクセリシス	甲状腺髄様がん		前立腺がん, 卵巣がん
バンデタニブ	ZD-6474	アストラゼネカ	甲状腺髄様がん	非小細胞肺癌	
レゴラフェニブ	BAY 73-4506	バイエル	転移性大腸がん	肝臓がん, 消化管間質腫瘍	腎臓がん
スニチニブ	SU-11248	ファイザー	腎臓がん, 消化管間質腫瘍, 脾内分泌がん	乳がん, 非小細胞肺癌, 大腸がん, 肝臓がん	多数
パゾパニブ	GW-786034	グラクソスミスクライン	腎臓がん, 軟部肉腫	乳がん, 非小細胞肺癌, 卵巣がん	メラノーマ, グリオーマ, 甲状腺がん
チボサニブ	AV-951 (KRN-951)	アベオ/アステラス	腎臓がん	腎臓がん	乳がん, 大腸がん
アキシチニブ	AG-013736	ファイザー	腎臓がん		肝臓がん, 前立腺がん, グリオブラストーマ, 非小細胞肺癌, など
ブリバニブ	BMS-582664	プリストル・マイヤーズ スクイブ	－	大腸がん	腎臓がん, 子宮内膜がん, 子宮頸部がん
セディラニブ	AZD-2171	アストラゼネカ	－	グリオブラストーマ	
－	BIBF-1120	ペーリンガーインゲルハイム	－	非小細胞肺癌, 卵巣がん	前立腺がん, 大腸がん, 乳がんなど,
ドビチニブ	TKI-258	ノバルティス	－	腎臓がん	多発性骨髄がん, 子宮内膜がん, 乳がん
モテサニブ	AMG-706	アムジェン/武田	－	非小細胞肺癌	乳がん, 甲状腺がん, 卵巣がん

レンパチニブの化学構造

4-[3-Chloro-4-(N'-cyclopropylureido)phenoxy]-7-methoxyquinoline-6-carboxamide

レンパチニブのキナーゼプロファイル

8キナーゼに対するキナーゼ阻害活性

RTK		K _i (nmol/L)	
		lenvatinib	solafenib
VEGFR	VEGF-R1	1.27	6.24
	VEGF-R2	0.74	3.89
	VEGF-R3	0.71	2.33
FGFR	FGFR1	21.8	31.3
	FGFR2	8.15	21.3
	FGFR3	14.6	77.0
RET		1.52	3.15
KIT		11.3	9.63

K_i = inhibition constant, RTK = receptor tyrosine kinase,
 VEGFR = vascular endothelial growth factor receptor,
 FGFR = fibroblast growth factor cell surface receptor.

図1 レンパチニブの化学構造とキナーゼ阻害活性

での抗がん剤治療は10%~40%程度の患者に対して効果を示したに過ぎなかったが、この個別化医療に対する取り組みは、コンパニオン診断薬を用いて層別化することで治療対象の半数以上もの患者に対して効果

を示すようになり、治療の質を革新的に変化させるに至っている。また治療を受ける患者側のメリットのみならず、開発する医薬品メーカーにとっても、開発早期の段階での効果の有無を判別することが可能となり、

表2 コンパニオン診断薬と薬剤の同時開発例とその適応

一般名	開発会社	適応がん	診断薬
クリゾチニブ	ファイザー	ALK 陽性非小細胞肺癌	ALK 遺伝子転座の FISH
パニツマブ	アムジェン	EGF 受容体陽性転移性大腸がん	EGF 受容体の IHC
トラスツマブ	ロシュ	HER2 陽性乳がん	HER2 の IHC
ベミラフェニブ	プレキシコン	BRAFV600E 変異陽性転移性メラノーマ	BRAF 遺伝子変異の PCR

その開発費用コストの面でもメリットがあると考えられている。しかしながら、この夢のような治療薬剤もこれまでの臨床試験での結果から一旦は劇的な治療効果を示すものの、その薬剤の投与開始から約1年以内にがんの再発あるいは効果不応となり、薬剤耐性が生じることが分かってきていることが大きな課題である(7,8)。

5. 血管新生阻害剤のバイオマーカー

血管新生阻害剤、とりわけ VEGF シグナル阻害剤はさまざまながん腫に対して治療効果を示すことが明らかとなってきたが、その開発が進むにつれて当初期待していたような「全てのがん患者に対して、永続的に効果を示し続ける」ことが可能な薬剤ではないことが明らかとなってきた。またベバシツマブのような抗体製剤は単剤で腫瘍血管の正常化作用を示す一方で、腫瘍縮小作用と明確な延命効果を伴った抗腫瘍効果を示すためには、化学療法剤との併用が必要であること、他方、活性が増強された VEGF 受容体阻害剤は、単剤で血管新生阻害作用を作用機序として十分な腫瘍縮小効果を示す一方で、化学療法剤との併用では副作用が増加し、VEGF 受容体阻害剤に対する薬剤耐性に対する感受性を高める可能性も考えられはじめている。VEGF 受容体阻害剤の臨床研究を通し、VEGF シグナル経路の活性化で誘導される腫瘍血管とがんの増殖および悪化の関連性、およびそのシグナル阻害による抗腫瘍効果との関連性は、血管新生阻害による抗がん剤の概念が形成された当初では想定できないほど複雑であることが判明してきており、血管新生阻害剤がその作用メカニズムに基づく効果の有無を評価するファーマコダイナミックマーカーやコンパニオン診断薬の必要性についても議論が開始されている。血液中の融解型 VEGF 受容体 2 の発現量やダイナミック造影 MRI (Dynamic Contrast Enhanced-Magnetic Resonance Imaging : DCE-MRI) による機能性血管の評価や血液中の VEGF やそのアイソフォームの発現量(9)、血液中の血管内皮前駆細胞量(10) など、さまざまな研究が行われているが、これまでに確定されたバイオマーカーは見つかっておらず、がん腫や薬剤の諸

性質に合わせた個別のバイオマーカーが必要とされている。

6. 前臨床メラノーマ皮下移植モデルでのレンバチニブ高感受性の作用メカニズムと特徴(階層化)について

13 株のヒトメラノーマ細胞株の皮下移植免疫不全マウスモデルでのレンバチニブの抗腫瘍効果、および主要ながん原遺伝子、がん抑制遺伝子およびレンバチニブ標的キナーゼの変異解析を次世代シーケンサー SolaXa で解析し、その抗腫瘍効果と分子変異解析の相関性を評価した。その結果、BRAF と PTEN の変異(一部 Loss) 状況と効果に相関があることが分かり、BRAF、PTEN いずれも正常型、あるいは BRAF が変異していたとしても PTEN が同時に変異(あるいは欠損)しているメラノーマに対してレンバチニブは高い抗腫瘍活性を前臨床がんモデルにおいて示すことが判明した(図2, 論文投稿中)。一方では BRAF のみを変異したメラノーマに対しては一定の効果は示すものの、BRAF 正常型と比較すると弱い効果であった。作用メカニズムについては、BRAF シグナルは下流遺伝子として血管の正常化(ペリサイトで覆われた血管の構築)に関わるアンジオポエチン 1 の発現を制御しているため、BRAF 変異タイプではその発現が亢進しているが、BRAF 正常タイプのメラノーマ細胞ではその発

図2 ヒトメラノーマ細胞株移植マウスモデルにおけるレンバチニブの抗腫瘍効果と BRAF/PTEN 変異との関係性

現が低いこと, その結果 BRAF 正常株では VEGF シグナルに依存した脆弱な血管が腫瘍組織中に主に構築されているためであることが分かってきた (論文投稿中). また BRAF が変異しているメラノーマにおいても PTEN が変異をしている場合においてはアンジオポエチン 1 に拮抗するアンジオポエチン 2 の発現が亢進されることから, BRAF 正常タイプと同様に VEGF シグナルに依存した脆弱な血管が腫瘍組織中に構築されているためレンバチニブの抗腫瘍活性が強いことが分かってきた. さらには BRAF 正常メラノーマの一部の細胞株にはレンバチニブが標的とする FGF 受容体 3 が発現し, がんのドライバー遺伝子として機能していることが判明し (論文投稿中), BRAF 正常タイプのメラノーマは VEGF に依存性の高い脆弱な血管の存在に加えて, FGFR3 を発現するがん細胞の存在が認められ, レンバチニブが効果を示しやすい傾向があることが明らかとなっており, BRAF 変異のステータスがレンバチニブの階層化につながるバイオマーカーになることが期待される.

7. さいごに

メラノーマ治療剤は 2011 年に BRAF シグナル阻害剤のベムラフェニブと免疫治療剤イピルミマブが続けて承認された. しかしながら, BRAF 変異のメラノーマ患者に 50% 程度の反応率で効果を示すベムラフェニブも 1 年以内には耐性化が起り患者を死に至らしめること, またメラノーマ患者の 30%~50% を占める BRAF 正常型メラノーマに対する治療薬剤の不足など,

未だ予後が極めて悪いがん腫である. 現在, 臨床サンプルを用いてベムラフェニブ耐性機構の研究が進展し, 多くの分子変異 (KIT, ERBB4, NRAS, GNAQ, RAC1, BRAF, MEK1, PIK3CA, AKT, MITF, b-catenin, CCND1/CDK4) /TS (PTEN, CDKN4) が一因であることが報告されている. 今後はそれらの耐性機構につながる分子変異を正確に評価するバイオマーカー診断薬の開発と薬剤の開発をセットで行う治療戦略やベムラフェニブの効果を高める併用治療薬の開発が重要である. またがん細胞を直接的に標的とする血管新生阻害剤においてもバイオマーカーを用いた感受性の高い患者層に提供されるべきで, 本稿の結果からは未だ画期的な治療薬が開発されていない BRAF 正常型メラノーマに対する阻害薬の一日も早い開発を現在第 II 相臨床試験中のレンバチニブに期待したい.

著者の利益相反: 松井順二 (エーザイ株式会社), 船橋泰博 (エーザイ インコーポレーテッド).

文 献

- 1) Folkman J. N Engl J Med. 1971;285:1182-1186.
- 2) Matsui J, et al. J Biol Chem. 2004;279:18600-18607.
- 3) Morikawa S, et al. Am J Path. 2002;160:985-1000.
- 4) Loges S, et al. Genes Cancer. 2010;1:12-25.
- 5) Matsui J, et al. Int J Cancer. 2008;122:664-671.
- 6) Matsui J, et al. Clin Cancer Res. 2008;14:5459-5465.
- 7) Smalley KS, et al. N Engl J Med. 2010;363:876-878.
- 8) Katayama R, et al. Sci Transl Med. 2012;4:120ra17.
- 9) Lambrechts D, et al. J Clin Oncol. 2013;31:1219-1230.
- 10) 小山則行, 他. 日薬理誌. 2008;132:100-104.