特集：創薬とMS

医薬品開発のためのバイオマーカー

Biomarkers for Drug Discovery and Development

小田吉哉

Yoshiya ODA

エーザイ株式会社

現在先進諸国では国内総生産（GDP）に対する総医療費の割合が8～11%，アメリカでは16%でその割合がさらに増え続けている¹⁾。したがって今後の経済成長と財政の健全化を目指すうえで医療費を抑制することは重要な課題であり，その施策の一つとして薬剤費の削減がある。医薬品市場においてジェネリック医薬品（後発医薬品）が占める割合はアメリカが約9割，ドイツが約8割に対して，日本はまだ5割未満なので²⁾，日本政府は2020年までに後発医薬品の割合を市場の8割まで増やすとしている³⁾。よって新薬メーカーは主力品の特許切れまでに次の新薬を市場に送り出したい。しかし新薬に必要な開発費は年々増加しており，2010年頃には一つの新薬を生み出すまでに約10億ドル，今では約15億ドルもの開発費用が必要とされている⁴⁾。そのため製薬会社は合併買収によって新薬開発に必要な資金を集めたり，優先度が低い事業領域を切り離して資源の集中を図ったりして，新薬の開発を急いでいる。患者側から見れば，現在十分な治療効果が得られる薬剤は安いほうが経済的に助かるが，既存薬がない，あるいは既存薬では効果が不十分な疾患では，頼れる存在は後発医薬品メーカーではなく，新薬メーカーである。したがって新薬メーカーの生産性，つまり成功確率の向上が急務である。

M. Ringelらは過去10年間の842件の新薬プロジェクト（205件が承認，637件が失敗）についてデータを精査した結果，研究開発の予算規模や会社の所在地，疾患領域や市場の大きさ，薬剤の標的や種類などは成功確率と相関がなく，最も高い相関を示したのはプロジェクトを早期に終結

させる決断であった⁵⁾。医薬品開発において開発ステージが先に進むほど費用が増大し，特に臨床第三相試験に至っては莫大な費用が必要となる。しかし臨床試験の成功確率は僅か10%である⁶⁾。そのために成功確率が高いプロジェクトのみを臨床導入すること，特に費用が高い臨床第三相試験の手前での判断が重要となる。ファイザー社は過去44件の臨床第二相試験の自社事例から3本の矢を提唱している⁷⁾。それは1) exposure at the target site of action, 2) binding to the pharmacological target, 3) expression of pharmacologyである。臨床第二相試験までに，この三つのうち一つでも確認できなければ，そのプロジェクトを臨床第三相試験に進めるべきではないとしている（表1）。アストラゼネカ社でも化合物選択から臨床第二相試験まで自社の過去142件のプロジェクトを吟味した結果，プロジェクトの成功を左右する五つの重要な因子（Right target, Right tissue, Right safety, Right patients, Right commercial potential）を見いだすことができた。さらに適切な意思決定を促進する文化（Right culture）も大切であると強調している⁸⁾。Peckらは正しい意思決定を阻害する要因として，プロジェクトの数が十分でないことと，バイオマーカーアッセイの信頼性が足りないことを強調している⁹⁾（表2）。イーライリリー社ではThe quick-win, fast-failモデルとしてChorusを立ち上げ実践している。ここでも鍵となるのがバイオマーカーの活用である¹⁰⁾。

さて一般的なバイオマーカーとは「通常の生物学的過程，病理学的過程，もしくは治療的介入に対する薬理学的応答の指標として，客観的に測定され評価される特性」と

表1. 後期臨床試験に進む意思決定をするバイオマーカー

Target engagement: proof-of-mechanism (POM)*	薬剤が標的分子に直接作用したか？
Target exposure: pharmacodynamic (PD) marker [#]	薬剤が標的に適切な濃度まで達したか？
Target modulation: POM/PD marker**	薬剤が標的の機能を変化させたか？
* POMを達成しない場合	プロジェクトの中止
* POMを達成したが，薬効がない場合	バックアップも含めプロジェクトの中止
[#] PDマーカーがない場合	適切な投与量，投与計画が設定できないため，臨床試験が肥大する危険がある

表2. 医薬品プロジェクトを成功させるための要因

Right target	標的と疾患を結ぶバイオロジーを十分理解できているか？
Right tissue	薬剤が標的に適切な濃度で作用し機能を変えたか？
Right safety	安全マージンは？ オフターゲットは？ 薬剤代謝物は？
Right patients	薬剤が効きやすい（副作用を起こしやすい）集団は？
Right commercial potential	標準治療との優位性は？ 市場に受け入れられるか？
Right assay	バイオマーカー測定法の特異性、再現性など信頼性は？
Right culture	意思決定、特に早期に断念することができる環境か？

定義されており、広義には日常診療で用いられるバイタルサインや、生化学検査、血液検査、腫瘍マーカーなどの各種臨床検査値や画像診断データなどが含まれるとしており¹¹⁾、FDA（米国食品医薬品局）はバイオマーカーの位置づけを、「正常なプロセスや病的プロセス、あるいは治療に対する薬理学的な反応の指標として客観的に測定・評価される項目」としている¹²⁾。ここでファイザー社が提唱する3本の矢のうち2)と3)を別の言葉に置き換えるとTarget engagementとTarget modulationとなり、これはproof-of-mechanism (POM) のことであり、すなわち薬剤候補化合物が目的の標的に結合し、期待どおりの作用を示したことをバイオマーカーで確認できれば、POMを達成したと考えられる（表1）。つまり前臨床試験でPOMを達成できれば臨床導入し、前期臨床試験でPOMを確認できれば後期臨床試験に進める判断指標となる。もしPOM確認試験をせず、化合物が薬剤効果を示さなかった場合、それは標的が間違っていたのか、化合物が標的に作用しなかったのか不明となり、教訓を次に活かすことができない。逆に臨床でPOMを達成したにもかかわらず、薬剤に効果がなければ、その疾患においては、その標的分子が重要でないことを意味している。したがってバックアッププロジェクトも必要ない。3本の矢のうち残る1本はpharmacodynamic marker (PD marker：薬力学マーカー)であり、薬剤候補化合物が標的部位に必要な濃度に到達したかについて、薬剤候補化合物自身を測るのではなくPDマーカーの増減をもって判断指標とする（表1）。なおPDマーカーの一つとして、またPOMの一つでもあるPET（ポジトロン断層法：positron emission tomography）イメージングで使われる受容体占有率（Receptor occupancy）は標的に対して何%薬剤候補化合物が占めているか測定することで適切な投与量を設定する。ヒトでのPOM確認の難しさは病変部位を容易に手に入れることができないことであり、血液など手に入る試料では化合物の標的が存在しないことのほうが多い。その点、PETイメージングによる受容体占有率試験ならヒトでの実施が比較的容易であるが、新規標的の場合PETプローブの特異性を確認することが非常に重要である。

アストラゼネカ社が提唱するRight targetはプロジェクトの最初に徹底的に検討すべき項目であるが、ヒトでPOMを達成し、かつ薬剤の効果も確認できて初めてRight targetであると言える。Right tissueについては、明確にTarget engagementを確認する必要があると述べられており、PDマーカーをきちんと測定することがRight tissueに

つながるとしている。Right patientは薬剤が効く患者を見いだすことが重要で、そのためには特定の薬剤による効果を予測する予測マーカー（predictive marker）を設定する必要がある。患者を見分けるという意味では層別化マーカー（stratification marker）と呼ぶこともある。つまり薬剤の標的に関連した分子を（多く）発現している、もしくは発現していない患者を選別することになる。アストラゼネカ社では後期臨床第二相試験の際に、層別化マーカーがあった場合は成功確率が90%だったのに対して、なかった場合の成功確率は僅か22%に下がった。なお予測（層別化）マーカーを用いて患者を選んで臨床試験を行う場合、層別化のための診断薬が必要になる。そして診断薬の承認のためには薬剤と同様に前向きな試験が必要になるので、薬剤と同時に診断薬の臨床開発の申請承認も必要になる（コンパニオン診断薬）。現在のコンパニオン診断薬は薬剤と診断薬の1対1の関係である（それぞれの表示に、対応する特定の薬剤あるいは診断薬が記載される）が、今後もこの関係性が維持されるか、規制当局の動きをしっかりと見ておく必要がある。Right safetyでは前臨床で安全性に懸念がある薬剤候補を臨床試験前に止めるだけではなく、必要に応じて安全性マーカー（safety marker）を設定することで副作用の回避、低減に役立てる（表2）。また臨床第二相試験を始める際に、薬剤の効果をモニタリングするマーカー（efficacy/monitoring marker）があった場合、アストラゼネカ社では成功確率が82%だったのに対して、なかった場合は成功確率が29%であった。薬剤の効果についてバイオマーカーにより長期間追跡できれば、治療から治癒に向かう場合と薬剤が効かなくなる（薬剤耐性になる）時期を把握できるかもしれない。このような薬効マーカーと疾患のメカニズムを詳細に調べることができれば、次の創薬プロジェクトにつながる。

ところで予測マーカー（predictive marker）とよく間違われるマーカーとして予後マーカー（prognostic marker）がある^{13), 14)}。予後マーカーは特定の治療によらない疾病の経過を予測するバイオマーカーのことであり、特定の薬剤の効果予測するマーカーではないため、創薬に必須とは言えないが、自分らが測定しているバイオマーカーは、予測なのか予後なのか注意して見極める必要がある。また予後マーカーは診断マーカー（diagnostic marker）とも関係している。診断マーカーは「今」を判断するバイオマーカーであり、予後マーカーは「今後」を予想するバイオマーカーである。診断マーカーには主に二つあって、一つは病気の有無を判断し、疾患を特定する診断マーカーと、

表3. 意思決定以外にも医薬品開発に有用なバイオマーカー

Predictive biomarker (Stratification marker)	予測マーカー 層別化マーカー	特定の薬剤が効きやすい集団を見分けるバイオマーカー、コンパニオン診断薬候補
Prognostic biomarker	予後マーカー	特定の治療に関係なく疾患の進行や回復を予想するバイオマーカー
Efficacy/monitoring biomarker	薬効マーカー	薬剤の効き具合、治療効果を診るマーカー、長期間モニタリングすることで薬剤耐性の原因解明のヒントにもなりうる
Diagnostic biomarker 診断マーカー（二つのタイプがある）		疾患の有無や疾患の種類を特定する診断マーカーと、疾患の重症度や進行度を判定する診断マーカーの2種類がある
Companion diagnostics	コンパニオン診断薬	特定の薬剤が効きやすい集団を見分けるための診断薬で、薬剤と一緒に開発し申請
Surrogate endpoint marker サロゲートエンドポイントマーカー		真のエンドポイントとの科学的な関係が証明されているマーカー。臨床試験で用いる場合は、許認可当局との事前合意が必要

表4. 医薬品開発の生産性を高める二つの要因

成功確度の低いプロジェクトを止める	薬剤候補化合物を確定した後の手段
プロジェクトの成功確度を高める	薬剤候補化合物を確定する前の手段、あるいは薬剤が効くであろう患者群を特定できるマーカーがあり、かつ先行品や優れた標準治療法がない領域を選ぶ場合

もう一つは疾患の状態、例えば進行度や重症度を判断する診断マーカーであり、定量的で、病気の進行具合を精度良く測定できるなら、これは薬剤の治療効果を見るモニタリングマーカーとしても使えるので、薬剤開発上意識しておくバイオマーカーである（表3）。

医薬品開発におけるバイオマーカーとして忘れてはいけないものとしてサロゲートエンドポイントマーカー（代替エンドポイントマーカー：surrogate endpoint marker）がある^{15), 16)}。これは臨床試験の真のエンドポイントを代替するマーカーで、真のエンドポイントとの科学的な関係が証明されているマーカーのことである。例えば真のエンドポイントが「心疾患による死」なら、サロゲートマーカーは「コレステロール値」や「血圧」である。通常臨床試験の期間内で真のエンドポイントの評価することは難しい場合は、サロゲートエンドポイントが採用される。ただしあらかじめサロゲートマーカーについて臨床での有用性が確認されていなければならないことと、FDAや厚生省との事前相談が必須となる。なお臨床でバイオマーカーの有用性を再現するのは容易ではない。例えば乳がんにおけるER/PR、HER2や大腸がんでのG13D変異以外のK-ras変異、非小細胞肺癌におけるEGFR変異とEML4-ALK融合遺伝子については臨床で使うのに有用であり推薦できるとされているが、これまで有用と思われてきた乳がんでのOncoType DXや大腸がんのEGFR遺伝子の発現、非小細胞肺癌におけるK-ras変異などは現時点では推奨できるものではないとされている¹⁷⁾。

これまで述べてきた医薬品開発におけるバイオマーカーは、臨床試験あるいは臨床試験開始時におけるバイオマーカーの役割であり、成功確率を上げるというよりは成功の見込みが低いプロジェクトを終結させる判断に使うバイオマーカーである（表4）。薬剤候補化合物を決めてしまったなら、その後に成功確率を上げる方策は、その薬剤に適した患者のみに焦点を当てた臨床試験を実施すること、つ

まり予測（層別化）マーカーを設定することである（表3）。成功確率を高めるためには薬剤候補を決める前に薬剤の特異性を十分に評価して、最も優れた化合物を選びたい。例えば標的が酵素である場合、その基質と産物を確認することが一般的である。しかし複数の酵素が同じ基質を標的としている場合もあるので、特定の基質—産物の変化を調べることが必ずしも特異性を評価したと言い切れない。放射性リガンド置換アッセイは受容体に対して化合物がどの程度結合したか調べるのに使われるが、その結果については、リガンドの特異性に大きく依存する。したがって新規の標的の場合、そのような信頼できるリガンドを手に入れることが最初の難関となる。リン酸化キナーゼ阻害剤に関しては、インビトロで多数のキナーゼをパネル化したキナーゼ阻害プロファイルが行われている。しかしある種のキナーゼは生きた細胞内でしか活性を示さないこともあるため、真に特異性を評価したとは言い難い^{18)~20)}。

前臨床、特に化合物選択の前では、薬剤候補化合物に対する評価を網羅的に実施して、可能な限り特異性が高い化合物を選ぶようにしたい（表5）。例えばリン酸化プロテオミクスとケミカルプロテオミクスを合わせたKinobeadsによる解析やActivity based protein profilingを用いた分析では、組換えキナーゼアッセイとは異なる結果が得られており、生きた細胞で特異性を確認する大切さが認識されつつある。基質と酵素が異なる組織で産生されることもあるので単純な細胞系のみでの確認は危険が伴うし、動物・ヒトレベルでは、一つの基質が複数の酵素の影響を受けることもあるので、やはり網羅的に検討することが重要である。またリガンドと標的タンパク質の相互作用解析にはケミカルプロテオミクスや免疫沈降—質量分析解析が有用であり、さらにLC/MSによって複数のリガンドを同時に測定することも行われていて、臨床試験に比べて圧倒的に費用が安い前臨床試験で、可能な限り多くのデータを出して薬剤候補化合物の評価を行っておくことが結果的に費用の

表5. 薬剤候補化合物に対して質量分析を駆使して詳細に検討すべきこと

酵素阻害剤の特異性を評価する場合	複数の酵素が同じ基質を標的としている場合もあるので、基質と産物の変化について網羅的に検討
薬剤の特異性評価として放射性・蛍光リガンド置換アッセイを使う場合	使用するリガンドの特異性について要確認
薬剤のPOMやPDマーカーとしてPETイメージングによる受容体占有率を使う場合	PETリガンドの特異性について要確認
リン酸化キナーゼ阻害剤の特異性を評価する場合	インビトロのパネル化したアッセイではなく生きた細胞を使つての網羅的な検討
細胞レベル、個体レベルにおける薬剤候補化合物の特異性について評価する場合	クロス反応が予想される標的以外にも off targets がないか網羅的に検討
薬剤候補化合物の真の標的を探索する場合	化合物が作用する標的や標的周辺分子探索、標的に対する化合物の結合部位の特定
薬剤候補化合物の細胞内濃度、組織内分布、体内分布を検討する場合	薬剤候補化合物を（放射性元素や蛍光）標識せずに、薬剤代謝物も含めて検討
トランスレーショナル研究をする場合	表1,3のバイオマーカーについて臨床で入手可能な試料での測定を検討
バイオマーカーを分析する場合	測定方法の確からしさ（例えばイムノアッセイの特異性）について検討

表6. 標的分子と疾患との関係について質量分析を駆使して検討すべきこと

標的分子の機能・役割を知る	標的分子周辺と疾患部位、疾患部位と正常部位の相違について網羅的に検討
標的分子の分布挙動について知る	細胞内分布、組織内分布、体内分布を検討
標的分子のアイソフォームや翻訳後修飾の有無について知る	細胞レベル、動物レベルだけでなくヒトレベルや、局在する場所での違いも検討
標的分子に対する内在性リガンド、あるいは受容体、基質、複合体について知る	標的分子に対応する分子の特定とそれらの疾患時における変化について検討
標的分子の疾患時と正常時の寿命を知る	標的分子の生体内での半減期などを検討
標的分子の疾患時と正常時の違いを知る	標的分子の生体内での発現や修飾を検討
標的分子に対する塩基配列変化の影響について知る	塩基配列の変化による標的分子の機能変化や薬剤候補化合物の反応性の違いを検討

削減、つまり生産性の向上につながる^{21)~25)}。

標的分子の確からしさについて、競合他社が同じ標的について検討しているなら、その情報は役に立つが、他社に先駆けて開発している場合は、その標的の妥当性が不確かな場合も多い。例えばがん領域では、ゲノム解析の大幅な進展によって、標的候補となるがん遺伝子やがん抑制遺伝子が次々に見つかってきている。さらには腫瘍内での多様性の存在や分子標的薬に対する遺伝子変化を伴う抵抗性の獲得なども明らかになってきた。しかし細胞をがん化に導く遺伝子変化（Driver mutation/alteration）の頻度は思ったほど多くはなく、遺伝子変化の多くは細胞の表現型を変えるには至らない、あるいは機能変化がないと思われている変化（Passenger mutation/alteration）である^{26), 27)}。そして一つの遺伝子の変化だけでは説明できないこともあり、例えば疾患部位に対する生体側の反応なども調べる必要がある。つまり標的分子とその周辺を網羅的に調べるのが標的分子の確からしさにつながる。最近では標的バリデーションにケミカルプロテオミクスが有力であることが再認識されつつある。例えばタンパク質-タンパク質相互作用

を低分子化合物で阻害することは困難とされてきたが、最近、低分子化合物がBETファミリーに作用してタンパク質-タンパク質相互作用を阻害することが確認され、LC/MSによってプロモドメインが阻害剤の標的であることも明らかになった^{28), 29)}。また標的タンパク質の半減期が長ければ、標的と共有結合を作る化合物も有望になるなど、化合物の設計に影響を与えうる³⁰⁾。このように標的を遺伝子レベルだけでなくタンパク質レベルで評価することも重要であり、さらには標的の下流に位置する分子群を精査する必要もある（表6）。

生命科学の大幅な進歩によって症状や解剖学、組織学によって疾患を分類する時代から遺伝子など分子レベルで分類する時代になってきている。それに伴って、これまでのOne-size-fits all clinical trialという考え方からPrecision Medicineの時代となり、そのためには仮説検証型が重要で、そこではバイオマーカーに基づいた臨床試験が必須である。創薬におけるバイオマーカーとは、薬剤の作用メカニズムに基づいた明確な理由づけができるバイオマーカーのことであり、そのバイオマーカーは検出かつ定量でき、

たとえ複数のバイオマーカーを同時に測定する場合であっても、測定データの質を確保することが求められている。また新規バイオマーカーには分析バリデーションに加えて臨床バリデーション、臨床での有用性、そして既存のバイオマーカーに対する優位性によって、初めて創薬で「使える」バイオマーカーとなる。このようにバイオマーカーは医薬品開発の色々な場面で必須項目になっている。

文 献

- 1) <http://kff.org/health-costs/issue-brief/snapshots-health-care-spending-in-the-united-states-selected-oecd-countries/>
- 2) http://apps.who.int/prequal/trainingresources/pq_pres/meetings_generics_22May2013/Richard_Laing.pdf
- 3) <https://www.kantei.go.jp/jp/singi/gskaigi/working/dai6/siryou3.pdf>
- 4) J. W. Scannell *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **11**, 191 (2012).
- 5) M. Ringel *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **12**, 901 (2013).
- 6) M. Hay *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, **32**, 40 (2014).
- 7) P. Morgan *et al.*, *Drug Discov. Today*, **17**, 419 (2012).
- 8) D. Cook *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **13**, 419 (2014).
- 9) R. W. Peck *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **14**, 663 (2015).
- 10) P. K. Owens *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **14**, 17 (2015).
- 11) Biomarkers Definitions Working Group, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **69**, 89 (2001).
- 12) <http://www.pharm.or.jp/dictionary/wiki.cgi?%E3%83%90%E3%82%A4%E3%82%AA%E3%83%9E%E3%83%BC%E3%82%AB%E3%83%BC>
- 13) K. P. Pritzker, *Expert Rev. Mol. Diagn.*, **15**, 971 (2015).
- 14) K. V. Ballman, *J. Clin. Oncol.*, **33**, 3968 (2015).
- 15) J. K. Aronson, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **59**, 491 (2005).
- 16) <http://www.fda.gov/downloads/NewsEvents/Newsroom/Fact-Sheets/UCM455106.pdf>
- 17) C. Chung and M. J. Christianson, *Oncol. Pharm. Pract.*, **20**, 11 (2014).
- 18) G. M. Simon *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, **9**, 200 (2013).
- 19) M. E. Bunnage *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, **11**, 368 (2015).
- 20) T. B. Durham and M. J. Blanco, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 998 (2015).
- 21) C. P. Paweletz *et al.*, *PLoS ONE*, **6**, e26459 (2011).
- 22) R. E. Moellering and B. F. Cravatt, *Chem. Biol.*, **19**, 11 (2012).
- 23) M. Bantscheff and G. Drewes, *Bioorg. Med. Chem.*, **20**, 1973 (2012).
- 24) M. E. Bunnage *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, **9**, 195 (2013).
- 25) E. W. Tate *et al.*, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **24**, 48 (2015).
- 26) B. Vogelstein *et al.*, *Science*, **339**, 1546 (2013).
- 27) J. Zhang *et al.*, *Brief Bioinform.*, **15**, 244 (2014).
- 28) P. Filippakopoulos *et al.*, *Nature*, **468**, 1067 (2010).
- 29) P. V. Fish *et al.*, *J. Med. Chem.*, **55**, 9831 (2012).
- 30) B. R. Lanning *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, **10**, 760 (2014).