

バイオマーカーの使用目的別の分類と対象

- **診断マーカー (diagnostic marker) : 疾患の診断に用いる**
- **予後マーカー (prognostic marker) : 特定の治療によらない疾病の経過を予測する**
- **薬力学マーカー (pharmacodynamic marker) : 薬剤の作用機序を見る**
- **予測マーカー (predictive marker) : 特定の治療による効果を予測する**
- **代替マーカー (surrogate marker) : 臨床試験の真のエンドポイントを代替する**
- **モニタリングマーカー (monitoring marker) : 疾患の判断や、治療への反応を見る**
- **患者層別マーカー (stratification marker) : 薬剤に関連した特定の分子を発現している患者を選別する**
- **安全性・毒性マーカー (safety/ toxicity marker) : 薬物の安全性、毒性を評価**

これらのバイオマーカーの測定には、**遺伝子 (DNA、RNA) 、タンパク、ペプチド、イメージング (CT、PET、MRI等) 等が用いられる。**

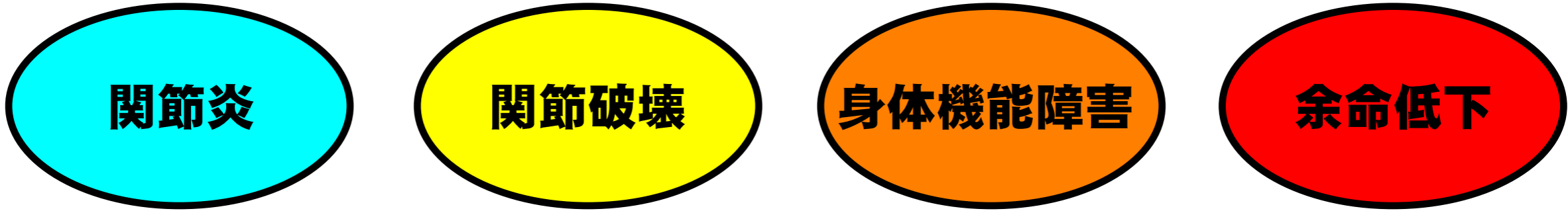
バイオマーカーの課題

1. 検体：種類（血液、尿、便、脳脊髄液、浸出液、骨髄、組織など）と、その採取法、保存法
2. 測定系：感度・特異度、手技の複雑性
3. 標準化：標準検体（陽性・陰性コントロールの標準化）
4. 結果の迅速性：至急検査vs通常検査
5. 対象集団による影響
 - ・ 治療薬による差異（非生物製剤vs生物製剤、TNF阻害薬vsIL-6R阻害薬）
 - ・ 病期による差異（早期vs進行期vs晩期）
 - ・ 病型による差異（ACPA陽性vs陰性）
6. 評価法による影響
7. 機能・病態との関係
8. 対照バイオマーカーとの比較
9. どれくらいの性能をもとめるか (Minimum requirement)
10. コスト

リウマチ・膠原病領域のバイオマーカー

- **急性期反応物質: ESR, CRP, フェリチン、血清アミロイドA蛋白、血清プロカルシトニン、など**
- **免疫グロブリン&自己抗体: IgG,補体,免疫複合体,抗dsDNA抗体,抗リン脂質抗体, MPO-ANCA, PR3-ANCA, リウマトイド因子、IgG-RF, anti-CCP, など**
- **骨代謝: I型コラーゲン架橋N-テロペプチド(NTX),オステオカルシン、など**
- **薬剤レベル (経口無機化合物):タクロリムス、MTX-PG**
- **病態関連バイオマーカー: 滑膜増殖→MMP-3, 間質性肺炎→KL-6**
- **生物学的製剤関連バイオマーカー:**
 - **血清サイトカイン: IL-6, TNF α , など**
 - **生物学的製剤血中濃度:**
 - **抗製剤抗体:**
- **副作用関連バイオマーカー: b-d-グルカン**
- **その他:**

関節リウマチの病態と評価・治療目標



炎症の程度 **炎症の総和** **早期：関節炎
晩期：関節破壊** **全事象の総和**

評価項目

腫脹関節数
疼痛関節数
患者全般評価
医師全般評価
炎症反応 (ESR/CRP)
MMP-3

骨びらん
関節裂隙狭小化

日常生活動作
労働生産性

感染症
心・血管系事象
悪性リンパ腫

評価指標

DAS, DAS 28
SDAI, CDAI

Steinbrocker stage
vdH-Sharp Score
genant-Sharp Score

Steinbrocker class
HAQ-DI
SF-36, EQ-5D
WPAI-RA

治療目標

臨床的寛解 **構造的寛解** **機能的寛解**

RA: 疾患活動性指標の利点と課題

評価項目	利点	課題
血液検査		
赤血球沈降速度 (ESR)	測定単純	貧血等の影響、自動化困難、集中測定困難
C反応性蛋白 (CRP)	反応が迅速で鋭敏	感染症、組織障害でも上昇
マトリックスメタロプロテアーゼ3 (MMP-3)	炎症マーカーとは異なる意義	男女でカットオフが異なる
疾患活動性指標		
ACRコアセット(SJC, TJC, Pt-VAS, Dr-VAS, ESR/CRP, X-P, HAQ)	薬剤有効性評価の基本	実地臨床では煩雑
DAS 28-ESR/CRP	実地臨床で頻用	各要素の重み付けに偏り
DAS 44	足趾を含めた広範な評価	同上、DAS 28よりより煩雑
SDAI	簡便	CRPを必要とする、正規分布しない
CDAI	最も簡便	正規分布しない

寛解を目指した生物学的製剤治療アルゴリズム

厚生労働省 免疫アレルギー疾患予防・治療事業
『関節リウマチに対する生物学的製剤の作用機序、投与方法、治療効果等に関する研究班』 主任研究者：竹内 勤

MTX+抗TNF薬で治療開始を考慮する症例: 高疾患活動性+ 予後不良因子あり
★ HOPEFUL-1試験&サブ解析

機能的寛解を目指すためには、発症1-3年以内に関節破壊の進行を抑止する必要がある。
★SAMURAI試験 ★RISING試験 ★GO-FORTH試験 ★GO-MONO試験
★ETN-315試験 ★HOPEFUL-1試験 ★J-RAPID試験 ★HIKARI試験

MTX使用ガイドライン: 予後不良因子ありの症例は、第一選択薬として使用

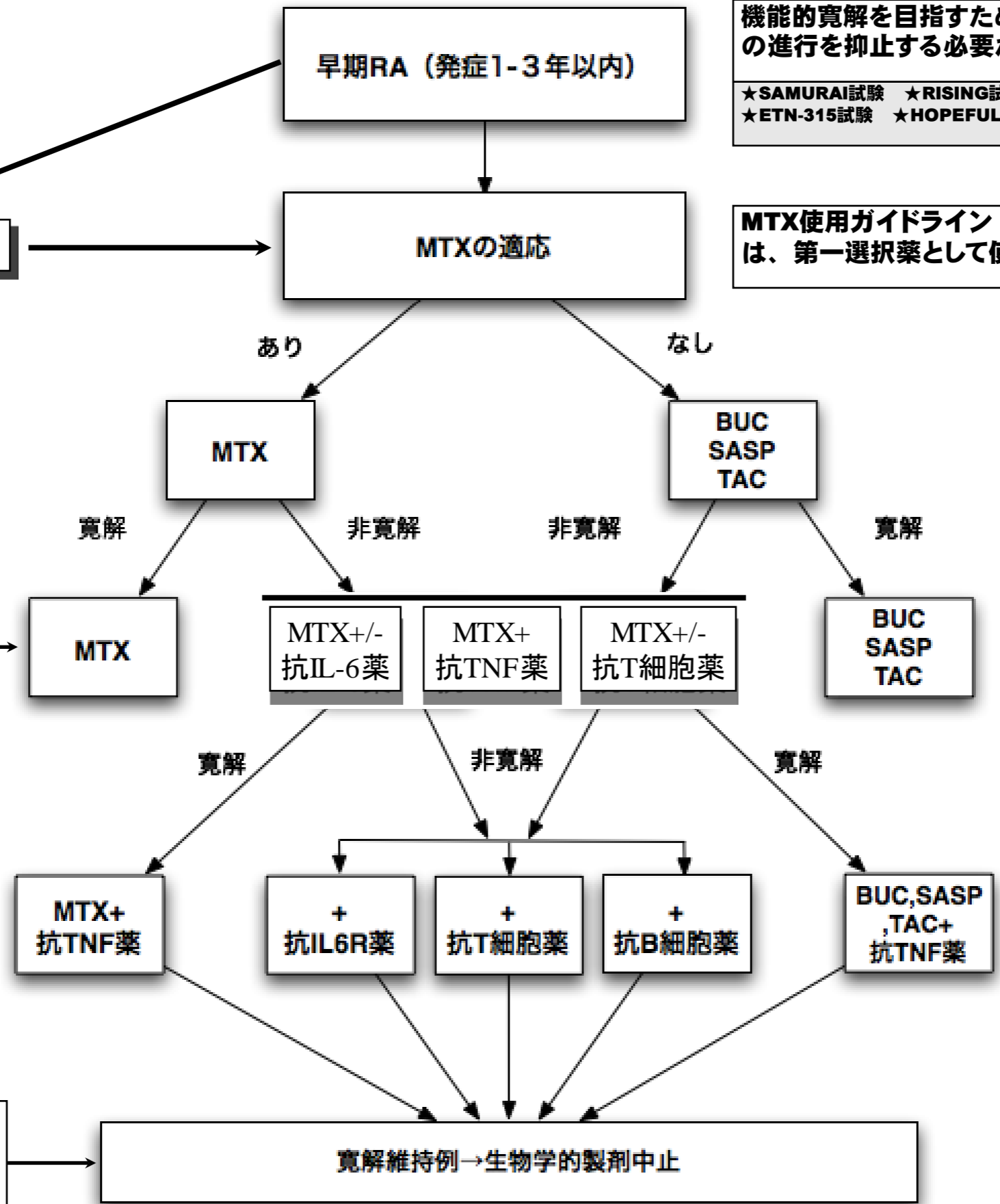
第1選択薬の種類および、用法・用量の個別化:
有効性- IFXでは、ベースラインTNF量による用量・投与間隔調整
安全性- IFX&ADAの注射時反応とFcγRIIIB多型、ステロイド併用感染症と患者背景

★ RECONFIRM研究
★ RECONFIRM-2研究
★ RECONFIRM-2J研究
★ RISING試験
★ JESMR研究
★ ENRICH研究
★ HARMONY研究

★ SAMURAI試験
★ SATORI試験
★ STREAM試験
★ REACTION研究
★ ORBIT研究

★ RRR研究
★ HONOR研究
★ BRIGHT研究
★ ORION研究

寛解/低疾患活動性維持の症例では、約20-40%で1年間のバイオフィリーが可能



リウマチ・膠原病領域のバイオマーカー

- ・ 急性期反応物質: ESR, CRP, フェリチン、血清アミロイドA蛋白、血清プロカルシトニン、など
- ・ 免疫グロブリン&自己抗体: IgG, 補体, 免疫複合体, 抗dsDNA抗体, 抗リン脂質抗体, MPO-ANCA, PR3-ANCA, リウマトイド因子、IgG-RF, anti-CCP, など
- ・ 骨代謝: I型コラーゲン架橋N-テロペプチド(NTX), オステオカルシン、など
- ・ 薬剤レベル (経口無機化合物): タクロリムス、**MTX-PG**
- ・ 病態関連バイオマーカー: 滑膜増殖→MMP-3, 間質性肺炎→KL-6

生物学的製剤関連バイオマーカー:

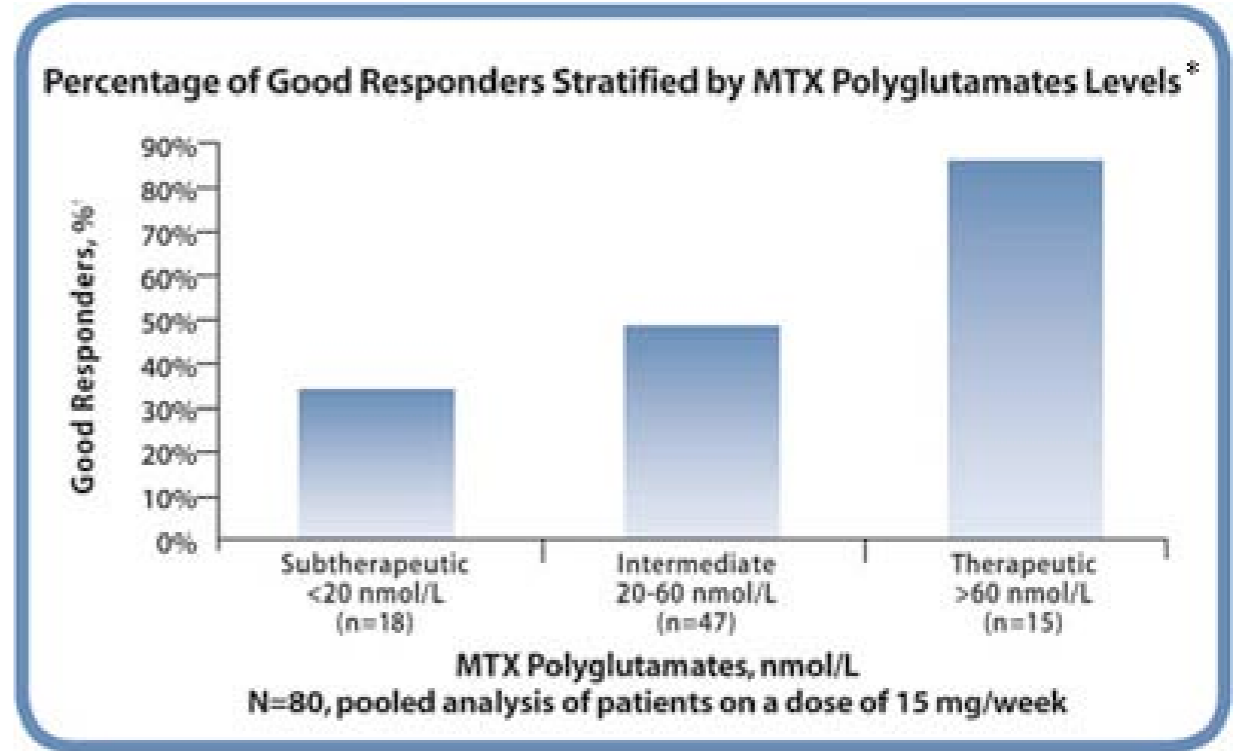
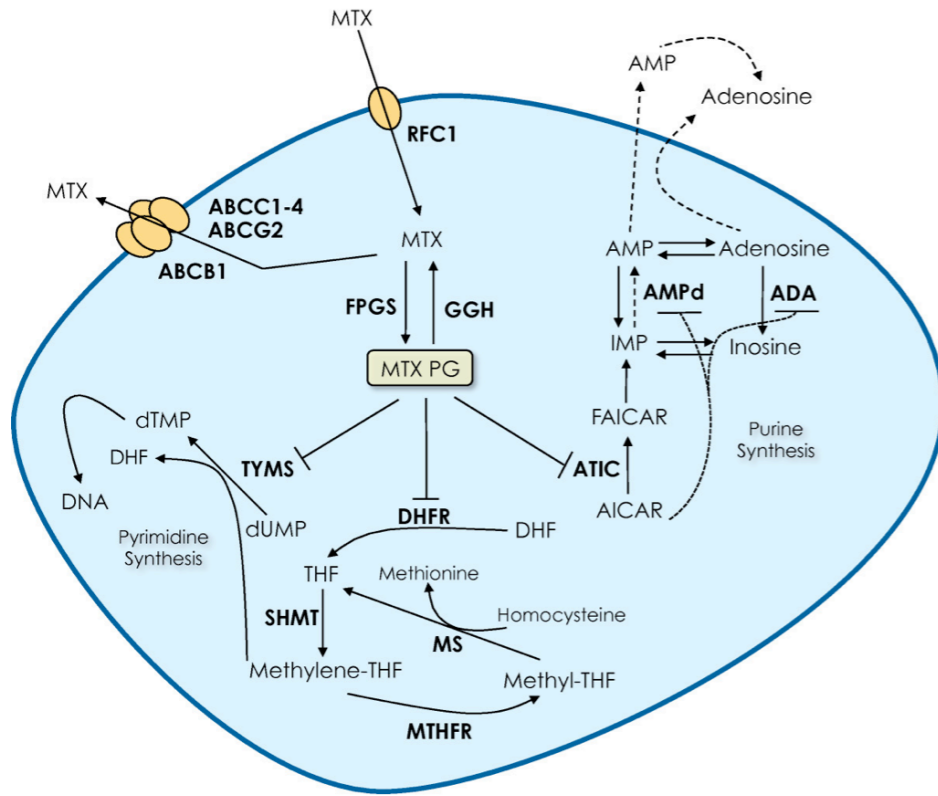
- 血清サイトカイン: IL-6, TNF α , など
- 生物学的製剤血中濃度:
- 抗製剤抗体:

副作用関連バイオマーカー: b-d-グルカン

- ・ その他:

関節リウマチのアンカー薬: MTX

ポリグルタメート化MTX濃度測定 (USA)による至適投与量の決定



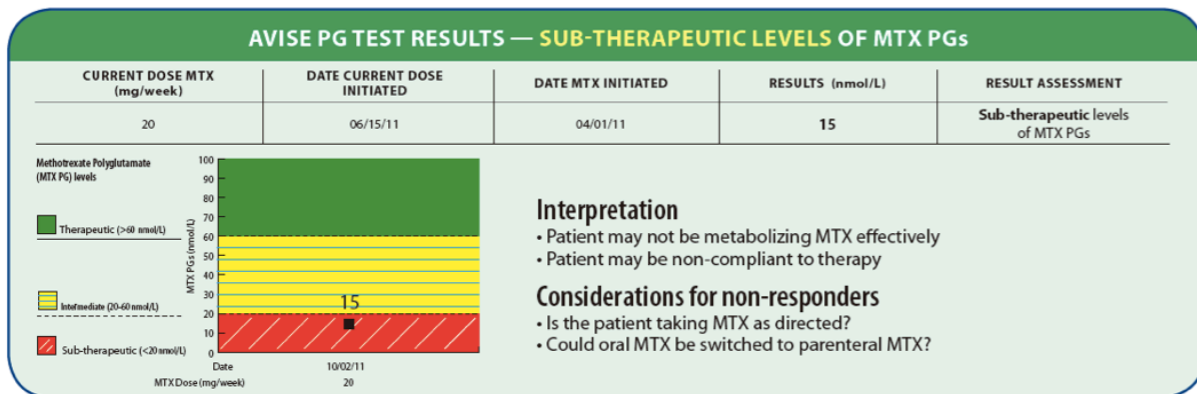
SAMPLE REPORT & INTERPRETATION AID

The attached Avise PG test report is being provided in response to your recently submitted test requisition.

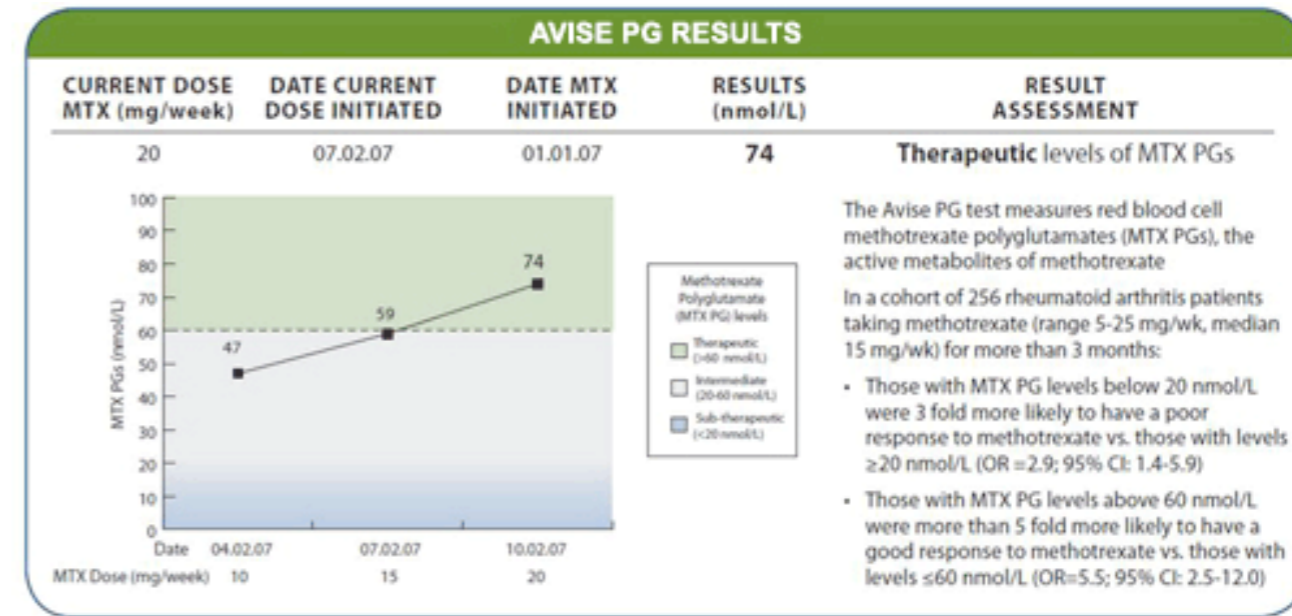


PATIENT AND ORDER INFORMATION			REQUESTING PHYSICIAN	
Order ID: 9999999A	Sample ID: 3333333C		Example Physician, M.D.	
Patient Name: Susan S. Sample			St. John's Hospital	
DOB: 01/01/1960	Gender: Female		1234 Main Street	
Patient ID / Medical Record #: 7777777B			San Diego, CA 92121	
Date of Collection: 10/05/2011	Date Received: 10/07/2011	Date Reported: 10/09/2011	Phone: 999.999.9999	Fax: 777.777.7777

Supported Treatment Options (for patients who have been treated with MTX for a minimum of 3 months):
 Methotrexate PG Levels: Sub therapeutic <20 nmol/L • Intermediate 20-60 nmol/L • Therapeutic >60 nmol/L



1検体=\$115



初発MTXナイーブRA患者におけるMTX治療の治療効果 とそれに関連するバイオマーカー

主に当科のSAKURAコホートを用いて

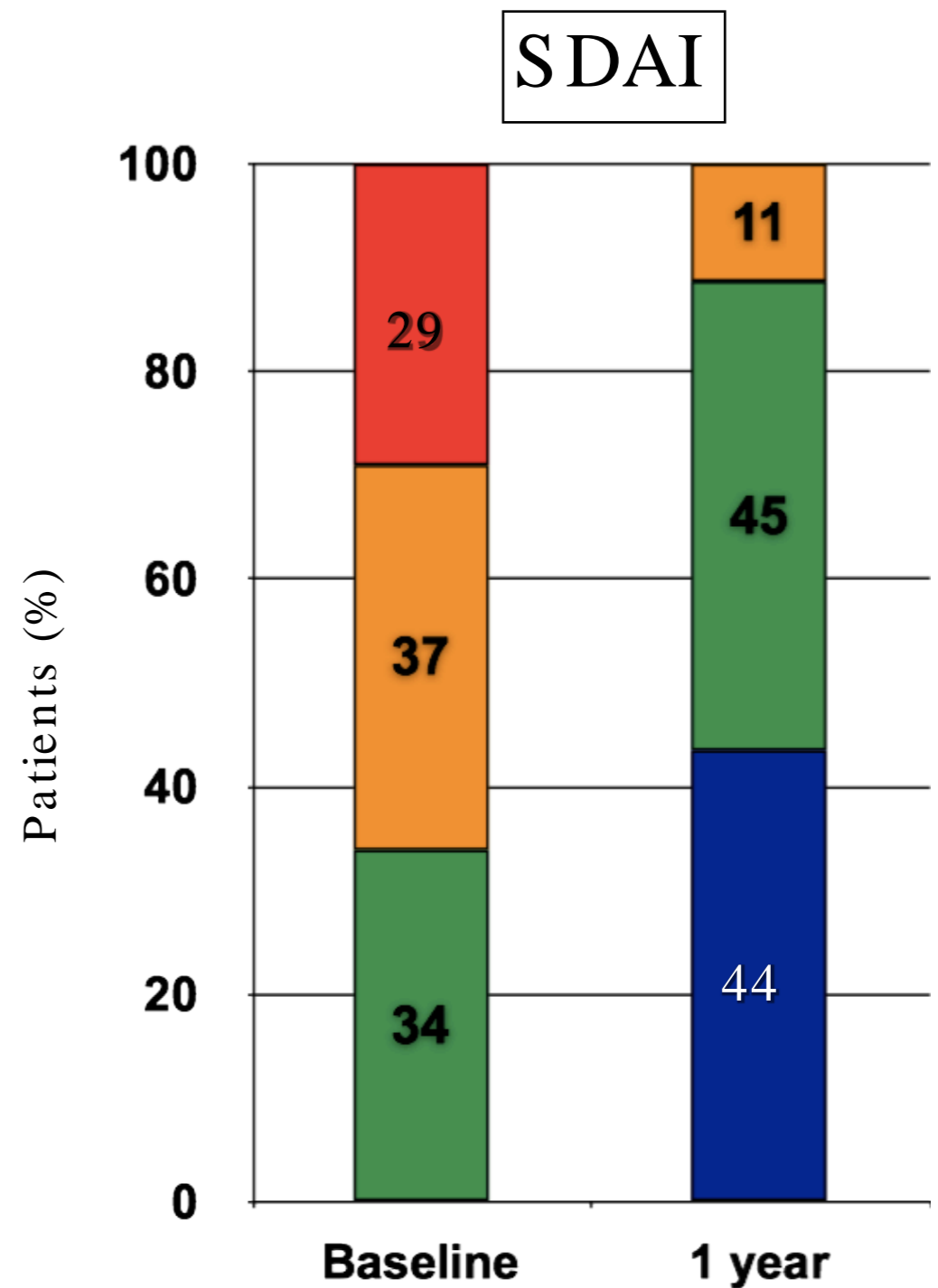
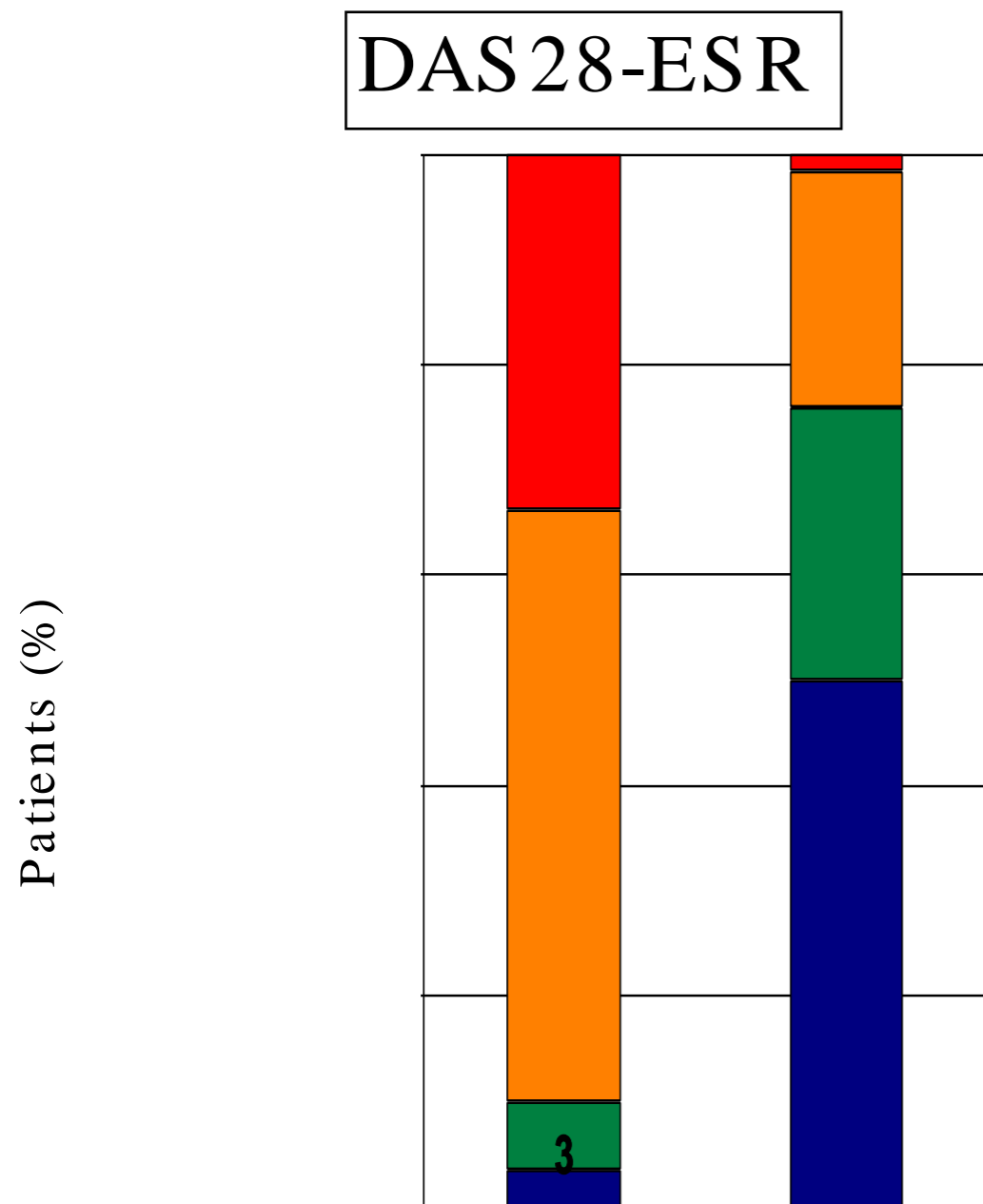
1. 推定RA発症から3年以内
2. MTX開始前後の血漿サンプルが保存
3. 治療後サンプル採取までに生物学的製剤不使用
(PSLや他のDMARDsの使用は除外せず)

に合致した62例を解析対象。

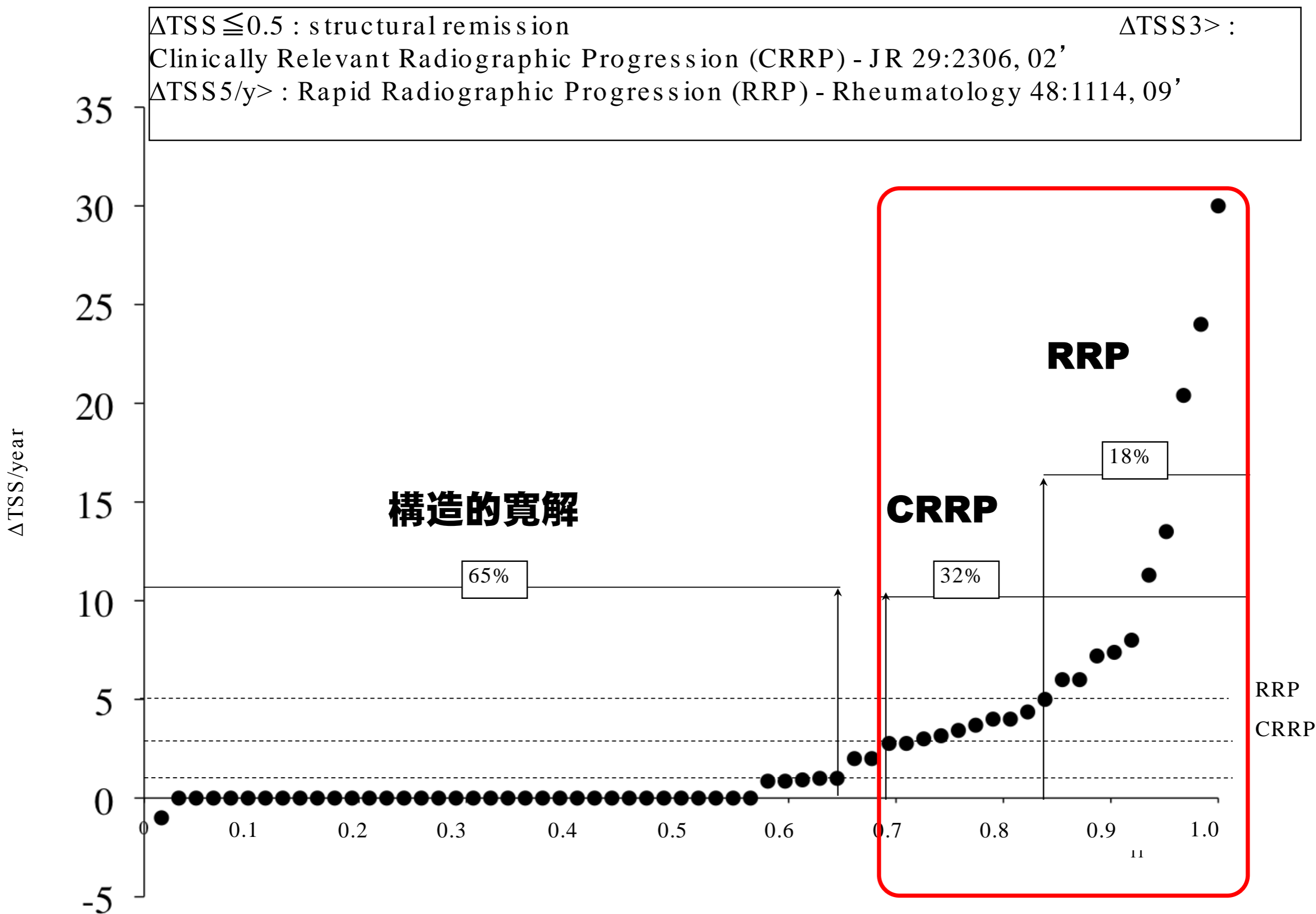
治療開始前と開始5-18カ月後(中央値11カ月)に下記を測定。

- 血漿IL-6 (CLEIA; QantiGlo ELISA Kit)
- 血漿TNF- α (CLEIA; QantiGlo ELISA Kit)

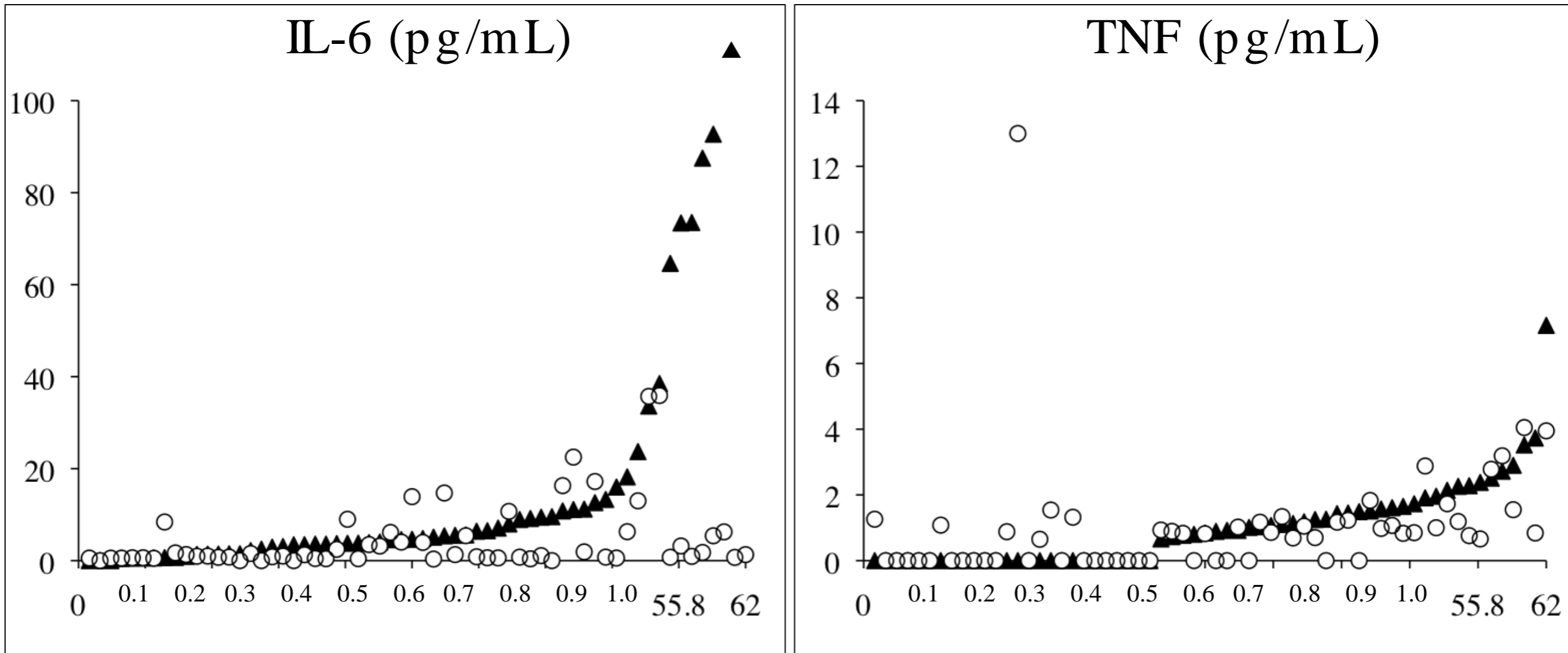
早期RA: MTX投与前と投与1年後の疾患活動性



MTX治療後の関節破壊の進行：累積プロット解析



MTX治療前後の血漿サイトカインの変化



▲治療前 ○治療後

4.72 **78%抑制** → 1.04

[<0.30-307] [<0.30-35.9]

▲治療前 ○治療後

0.87 **5%抑制** → 0.83

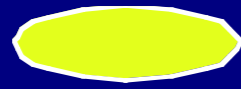
[<0.55-7.16] [<0.55-13]

MTXによって低下するサイトカインは、主としてIL-6

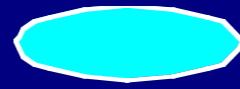
中央値 [range]で表示. 赤字: p<0.001 Wilcoxon 順位和検定

生物学的製剤の構造とその標的

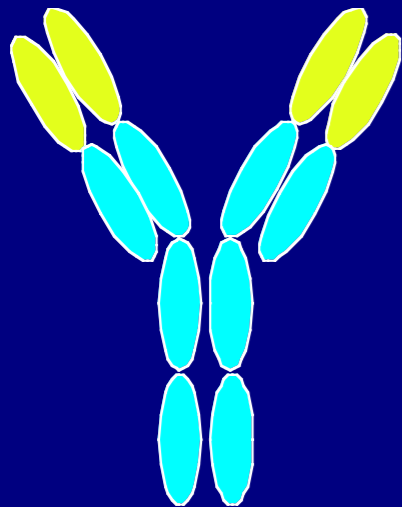
抗体製剤



マウス蛋白

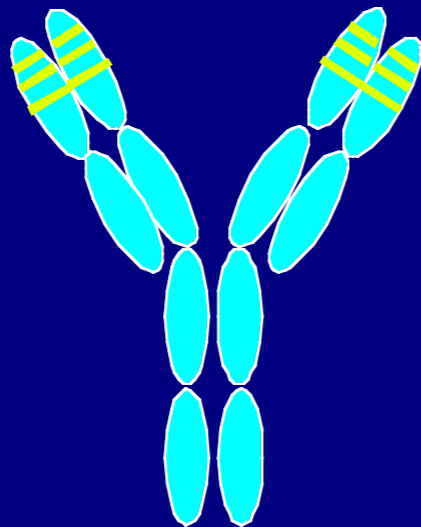


ヒト蛋白



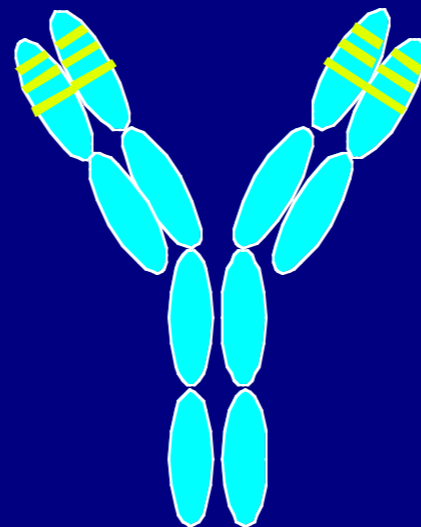
キメラ型
抗TNF α 抗体
インフリキシマブ
IFX

レミケード[®]



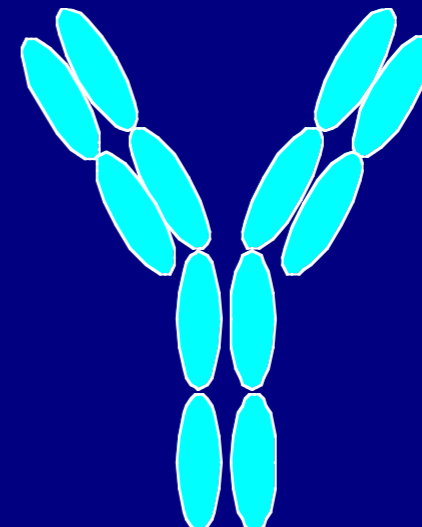
ヒト化
抗IL-6R抗体
トシリズマブ
TCZ

アクテムラ[®]

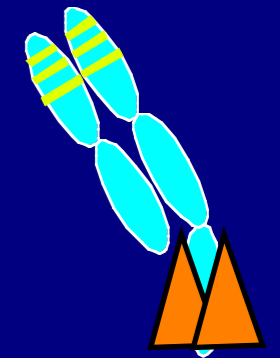


ヒト化
抗CD20抗体
オクレリツマブ

ヒュミラ[®]
シンポニー[®]



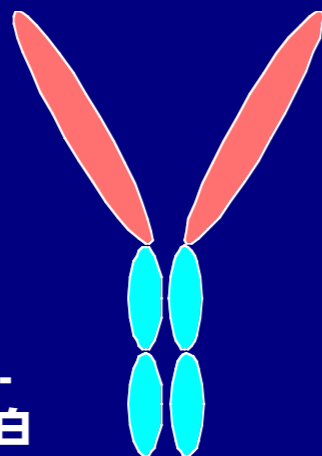
ヒト型抗体
抗TNF α 抗体
アダリムマブ ADA
ゴリムマブ GLM



ヒト化抗体
抗TNF α Fab'
セルトリツマブ
CEZ

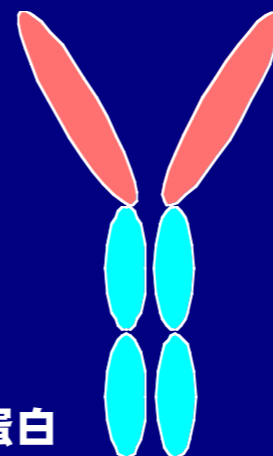
シムジア[®]

受容体-Ig 融合蛋白など



TNFR2(p75)-
IgG Fc 融合蛋白
エタネルセプト
ETN

エンブレル[®]



CTLA-4-
IgG Fc 融合蛋白
アバタセプト
ABT

オレンシア[®]

IL-1-受容体
アンタゴニスト
アナキンラ

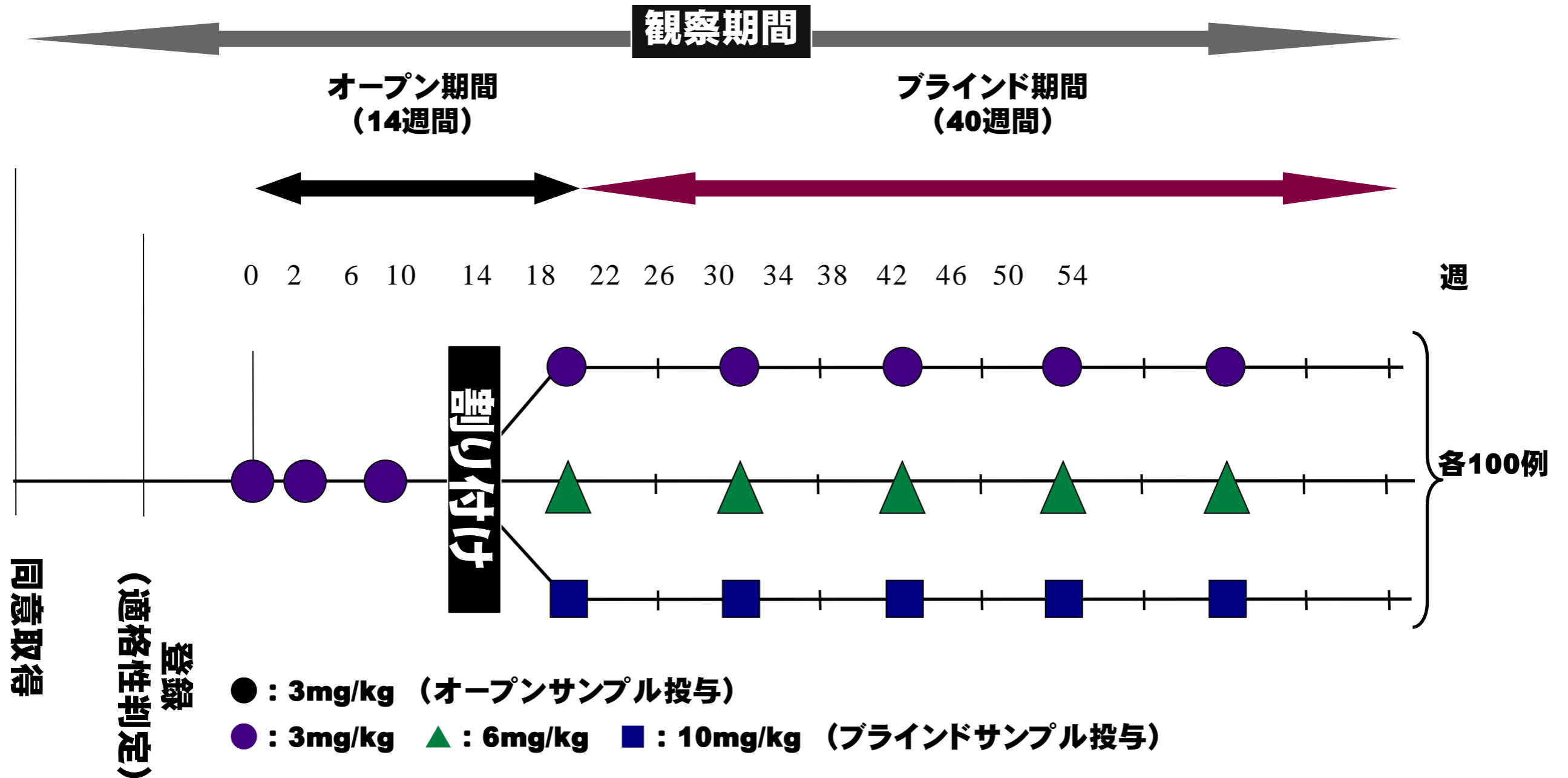


生物学的製剤の有効性を規定する因子？

- ・ **適切な標的分子** (例：TNF α , IL-6R, CD80/86, CD20のどれか?)
- ・ **トラフ値 > 最低有効血中濃度**
- **トラフ値を規定する要因**
 - ・ 標的分子量
 - ・ 投与量と投与間隔
 - ・ 併用薬
 - ・ Fc受容体親和度
 - ・ 抗バイオ抗体
- ・ **投与中止に至る副作用** (注射時反応など)
- ・ **製剤の組織移行** (滑膜への移行)

RISING試験デザイン

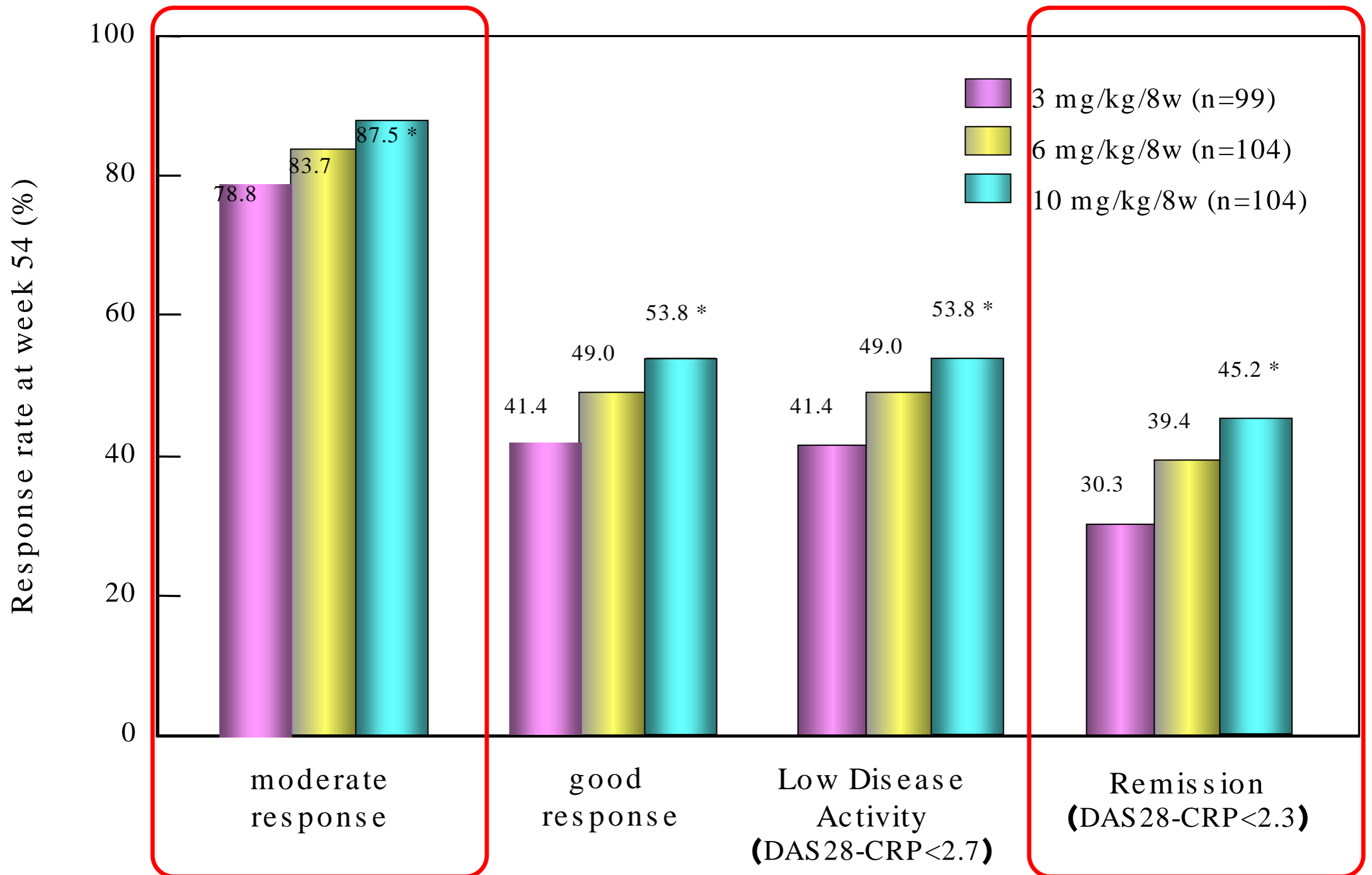
Takeuchi T, et al. Mod Rheumatol, 19:478-87, 09'



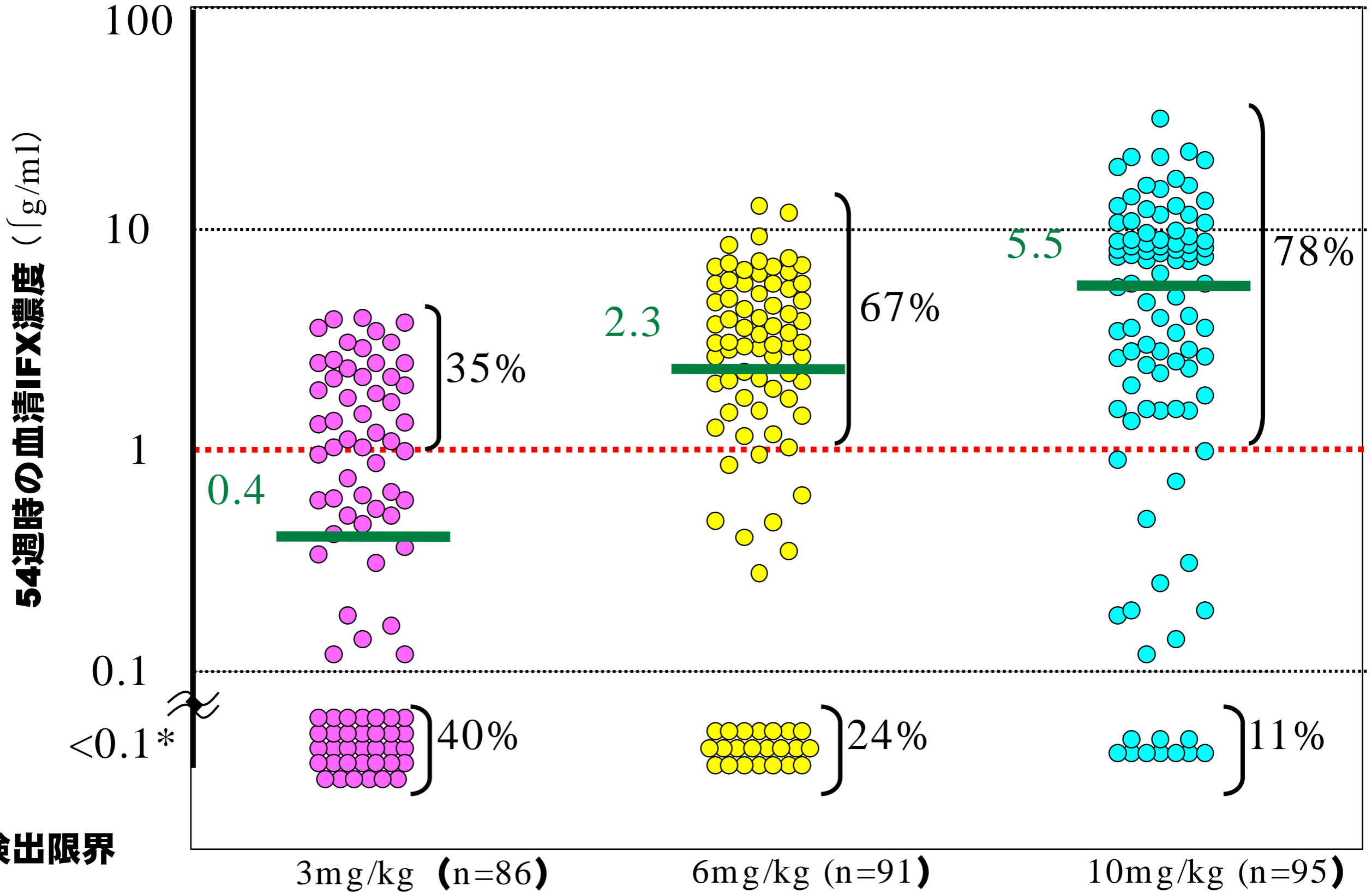
3mg/kgのIFXを0, 2, 6週に投与し, 10週の有効性により
3群に無作為割り付け (群間の有効性のばらつきを補正)

インフリキシマブ投与量と臨床効果

(54週の治療反応性と疾患活動性: DAS28-CRP)



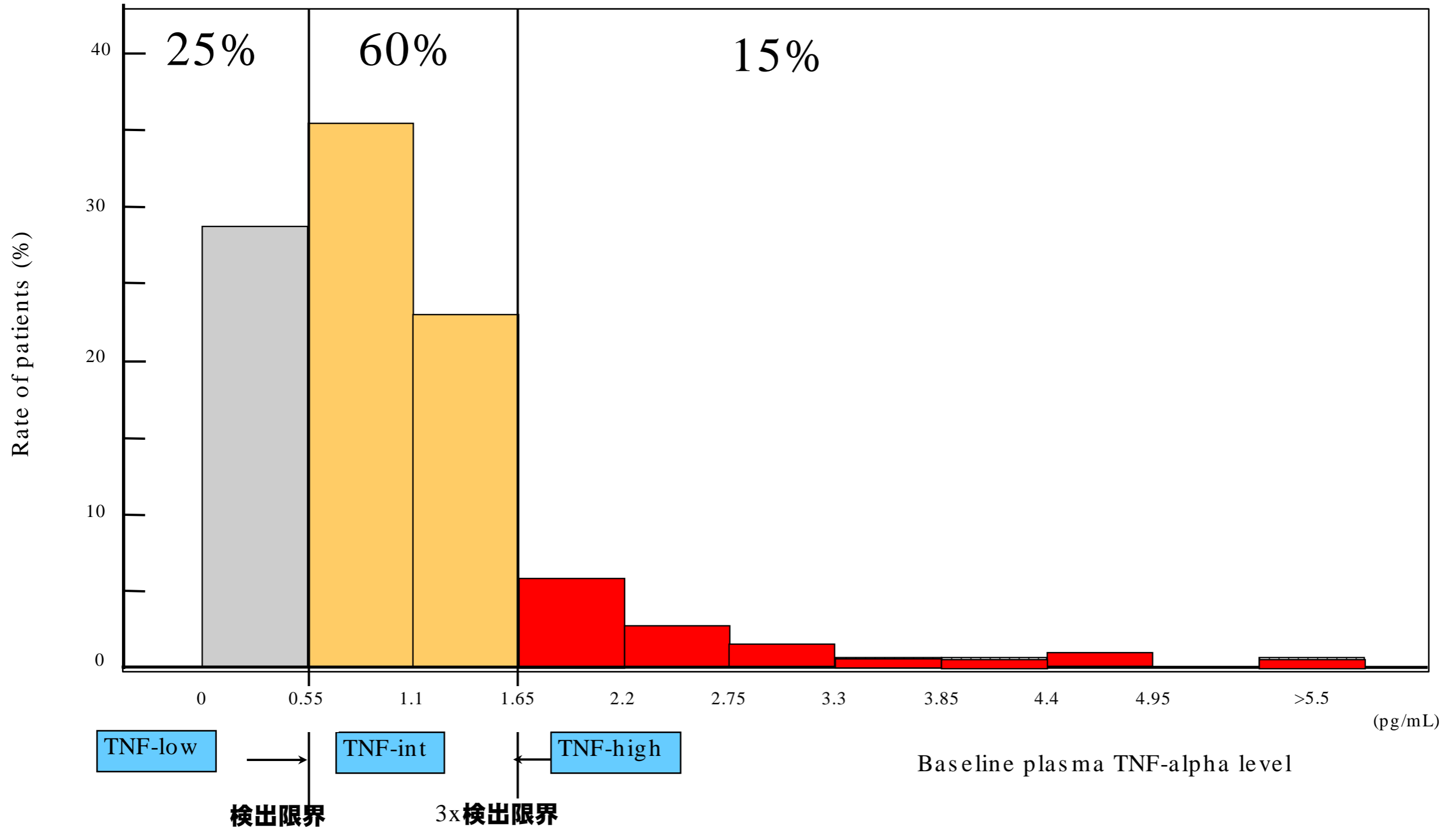
各投与群の54週後インフリキシマブの血清濃度



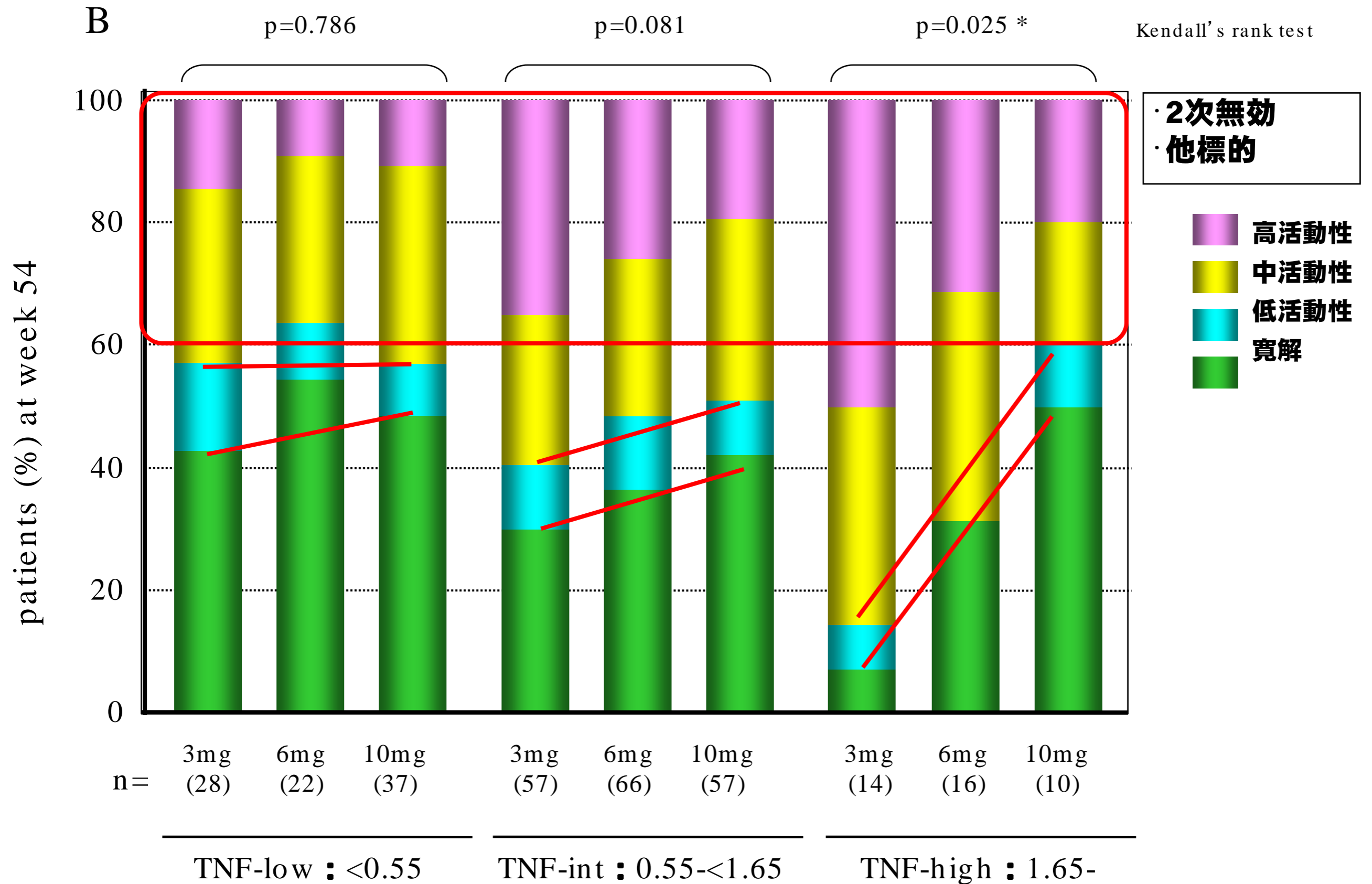
* 検出限界

抗インフリキシマブ抗体:	27.3%	23.1%	12.5%
EULAR-moderate(-)無効:	21.2%	16.3%	12.5%

IFX投与前のRA患者血中TNF α 濃度の分布

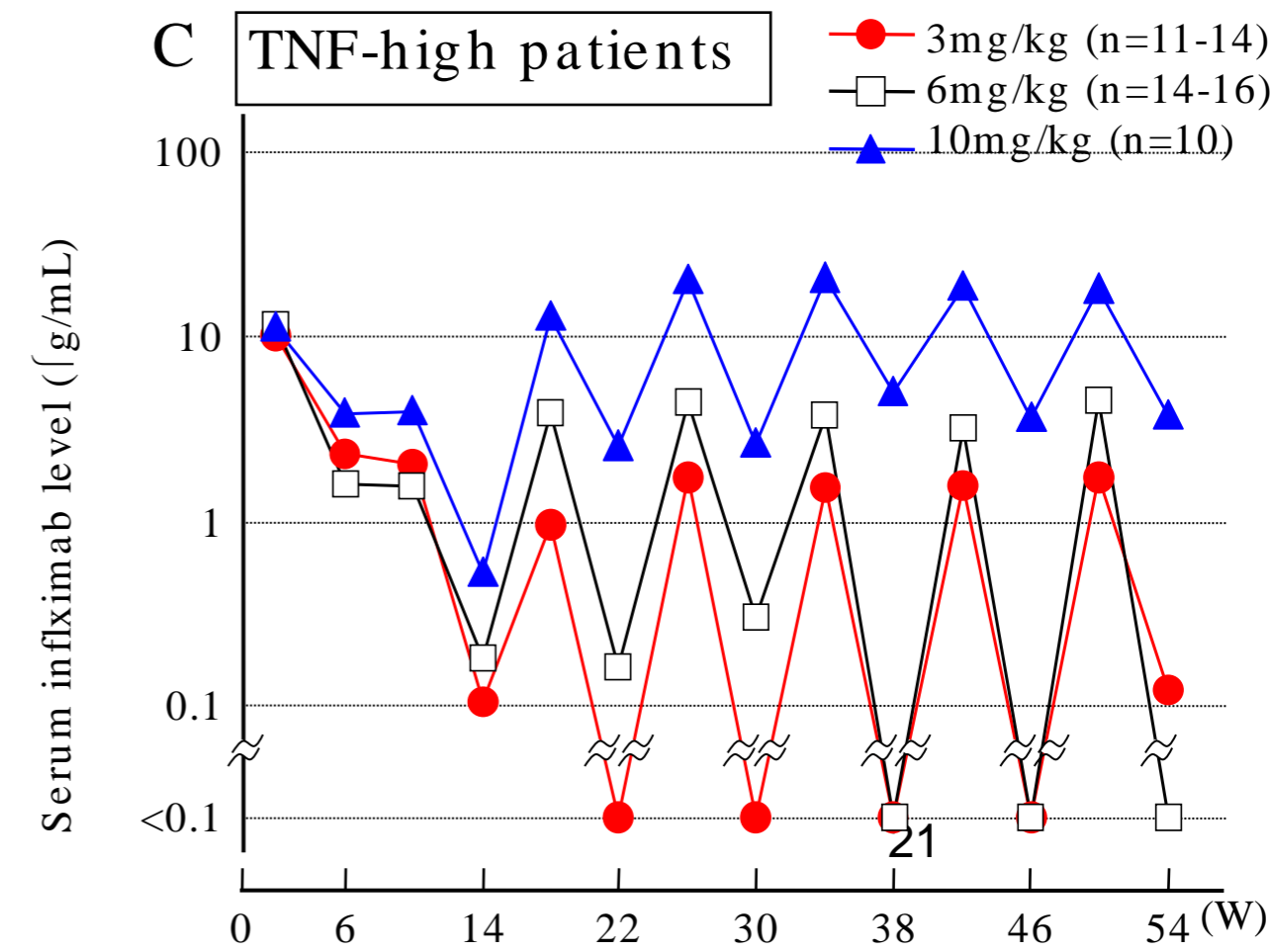
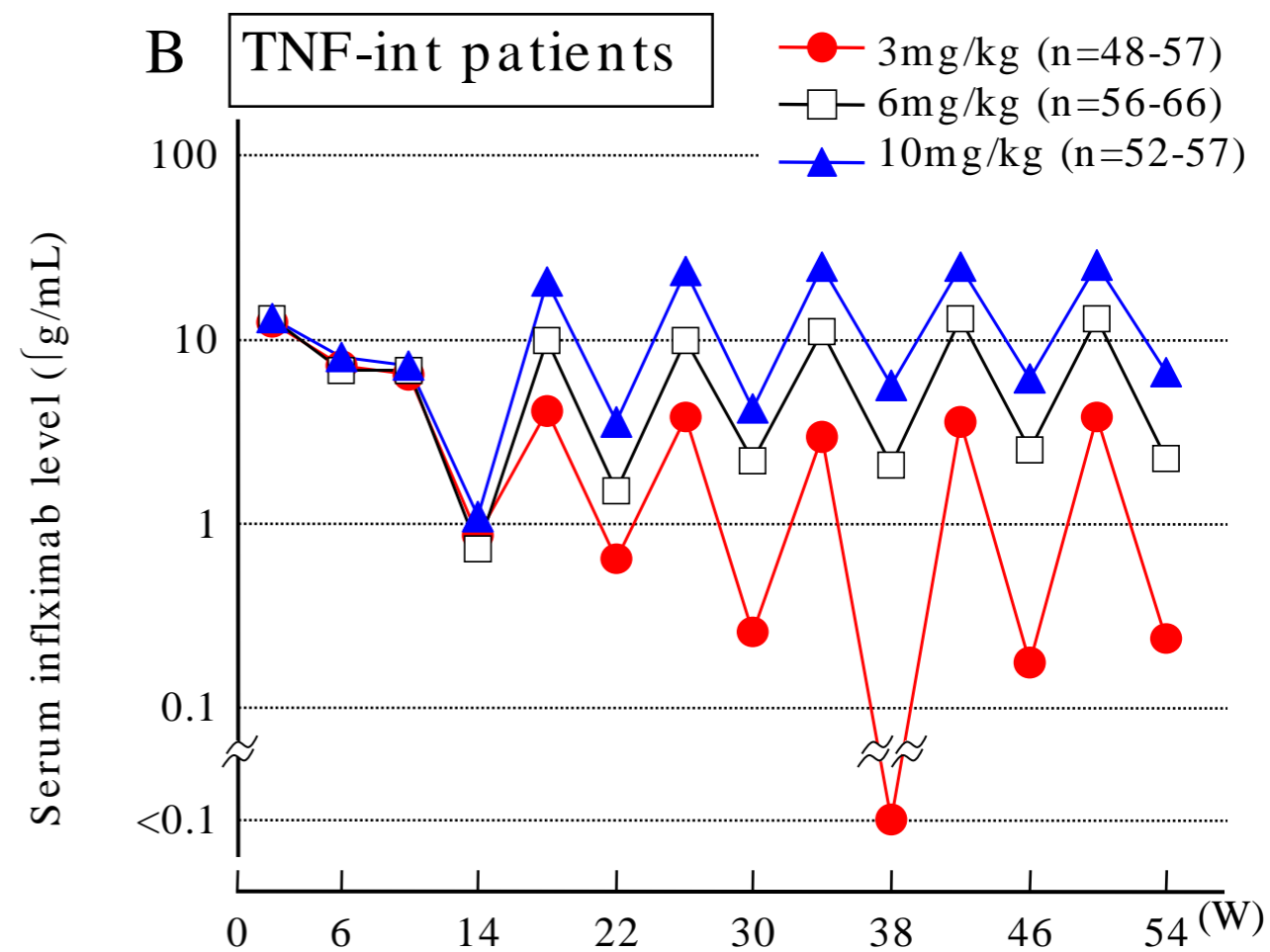
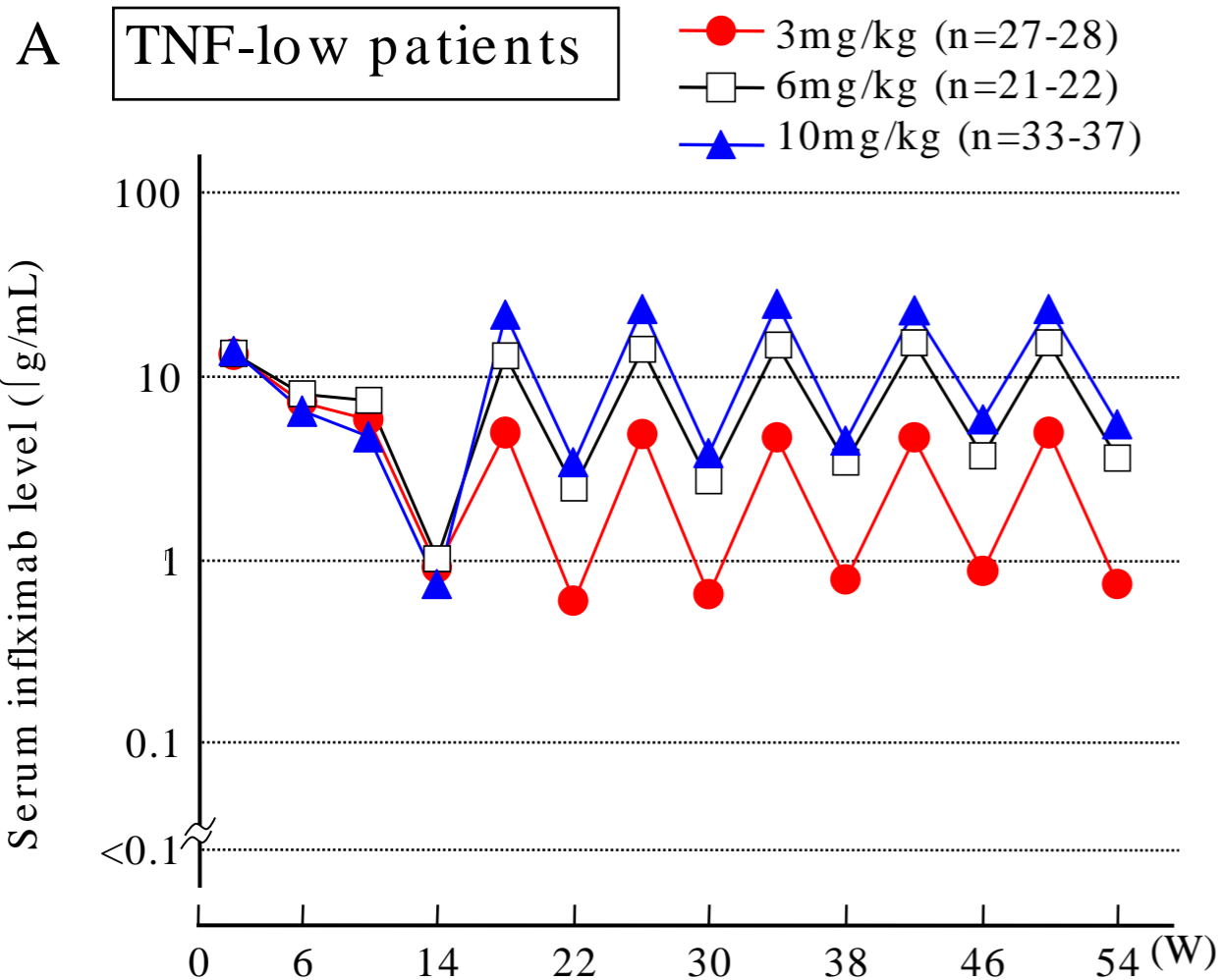


ベースライン血中TNF α 濃度別の54w目疾患活動性

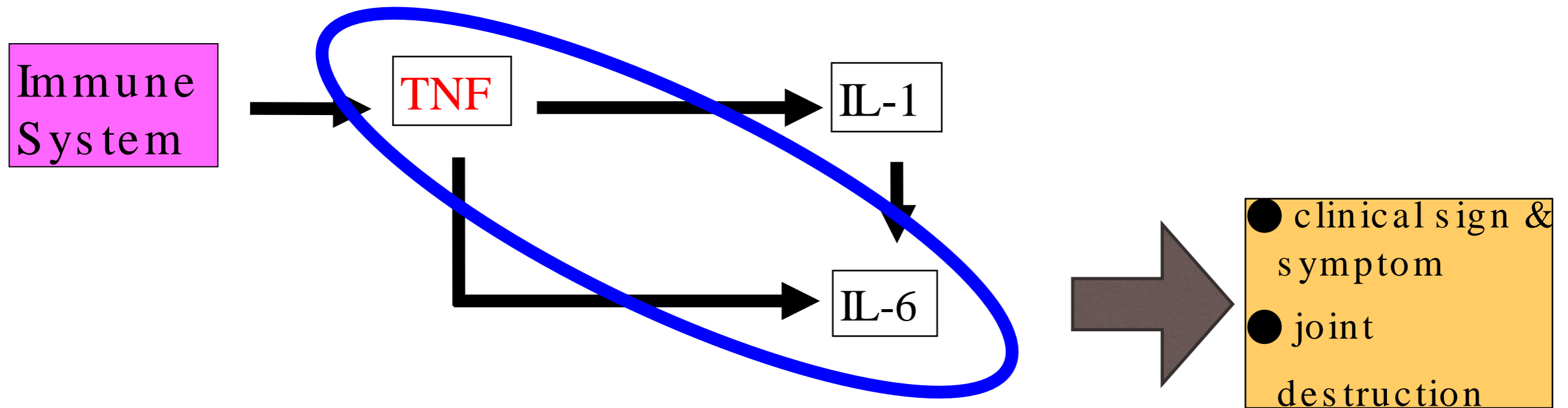


ベースライン血中TNF α 濃度とIFX

血中トラフ値



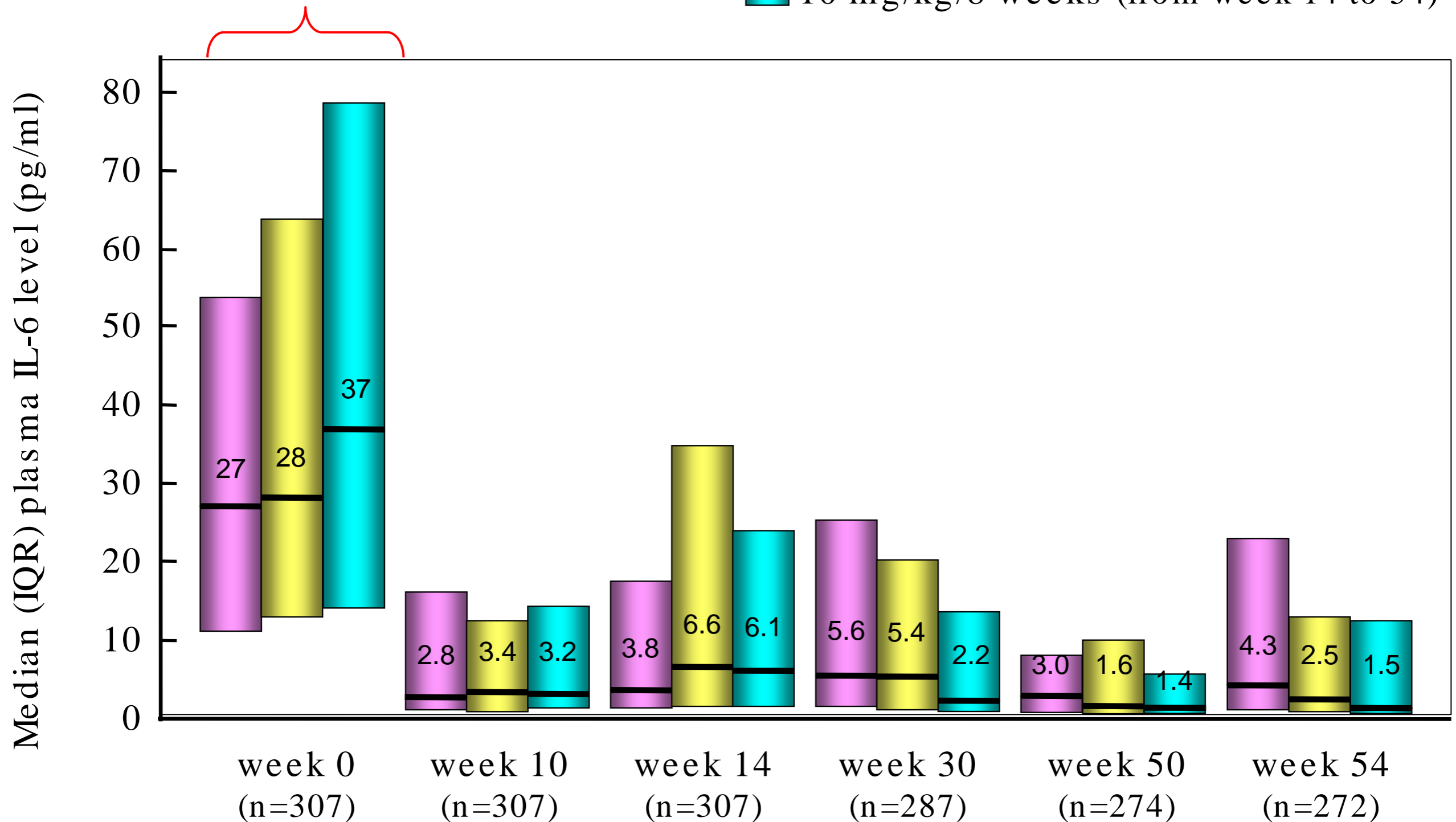
Cytokine Network in Rheumatoid Arthritis is Regulated by TNF



RISING study : plasma IL-6 concentration

3 mg/kg therapy
(at weeks 0, 2, and 6)

- 3 mg/kg/8 weeks (from week 14 to 54)
- 6 mg/kg/8 weeks (from week 14 to 54)
- 10 mg/kg/8 weeks (from week 14 to 54)

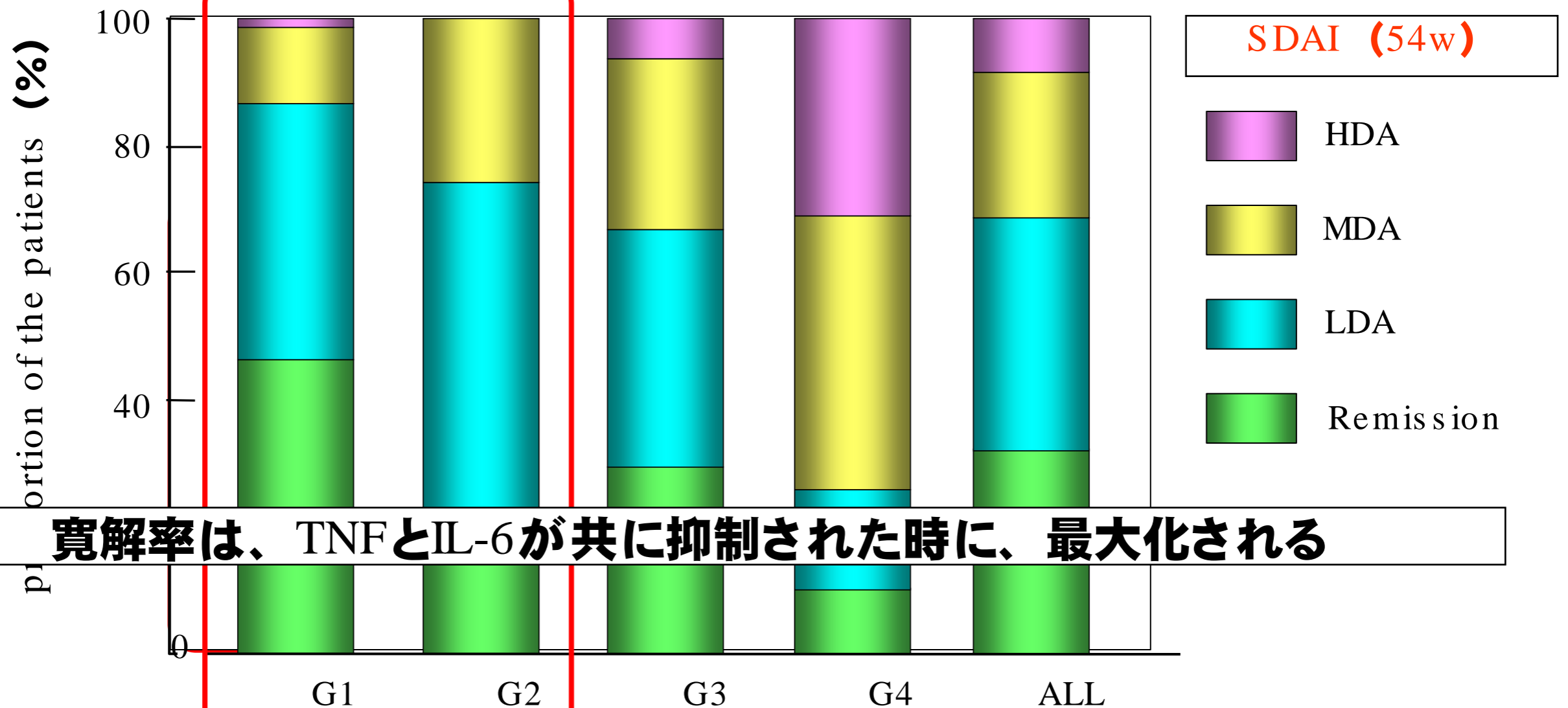


IFX投与54週目のIFXトラフ値とIL-6濃度：臨床的効果との関連

81% vs 19%

Takeuchi et al. Ann Rheum Dis, 71:1583-85, 2012

	group 1	group 2	group 3	group 4
High IFX: >1 μ g/mL Low IL-6: <10pg/mL	High IFX • Low IL-6	High IFX • High IL-6	Low IFX • Low IL-6	Low IFX • High IL-6
症例数	n=134	n=31	n=48	n=58
割合	49.4%	11.4%	17.7%	21.4%
TNF 抑制	○	○	×	×
IL-6 抑制	○	×	○	×



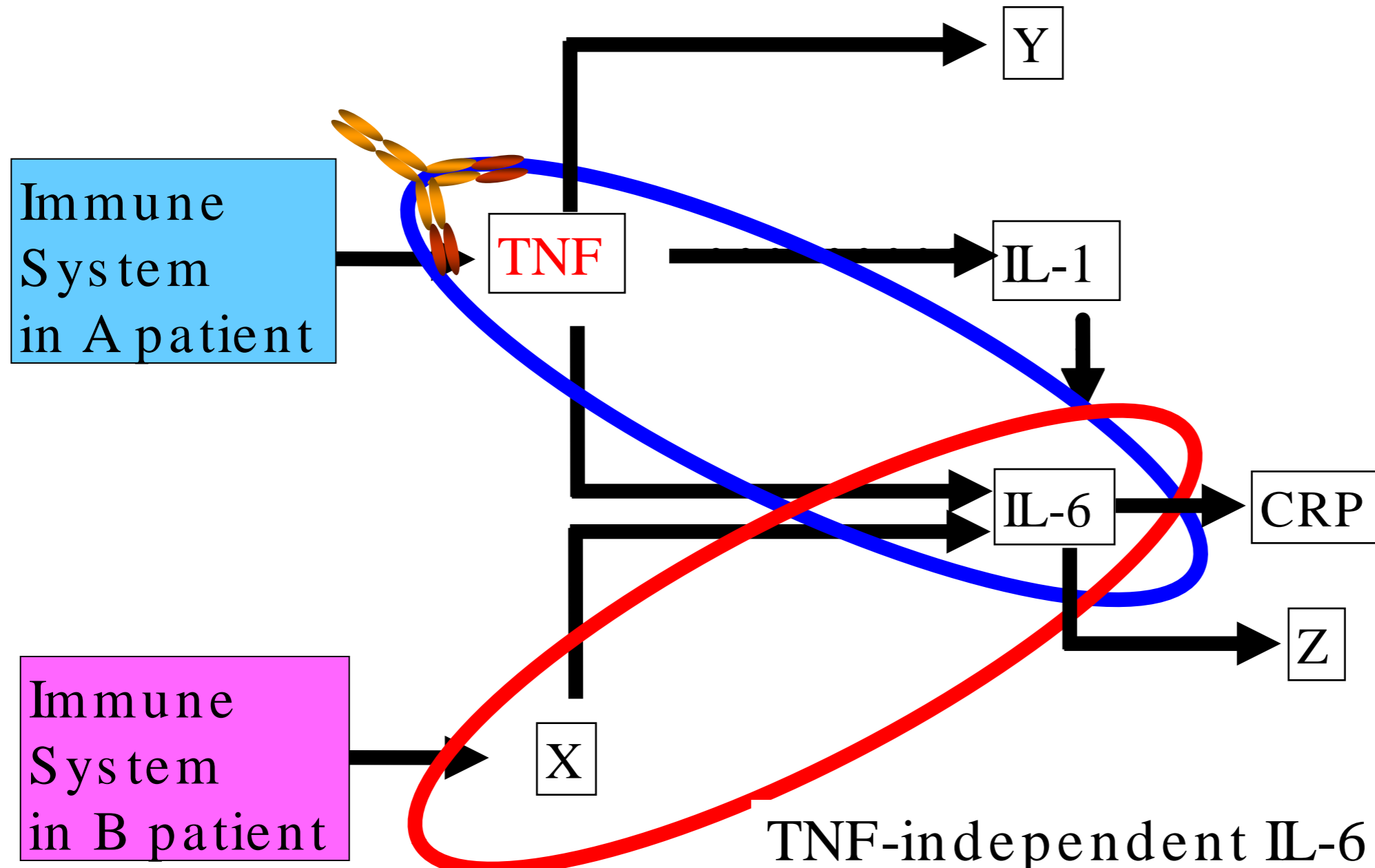
寛解率は、TNFとIL-6が共に抑制された時に、最大化される

Cytokine Network in Rheumatoid

Arthritis is Regulated by TNF

Feldmann & Maini

TNF-dependent IL-6 axis is working in 80-90% of RA patients

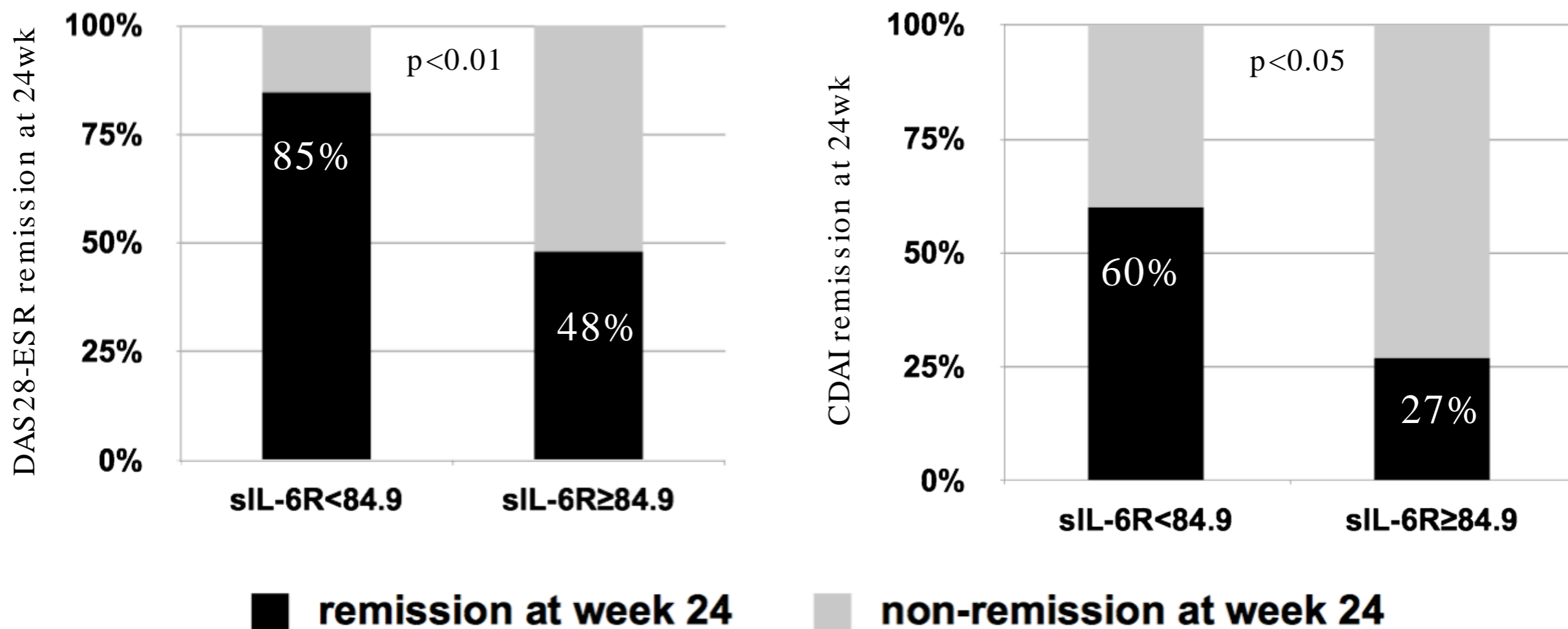


TNF-independent IL-6 axis in 10-20%

IL-17 IL-20 GM-CSF

ベースラインsIL-6R (TCZの標的) レベルは、TCZによる24週目の臨床的寛解と関連する

Since median value for sIL-6R was 84.9 ng/ml, we sorted RA patients into two groups (lower sIL-6R and higher sIL-6R).



Nishina N, et al. ARD in revision.

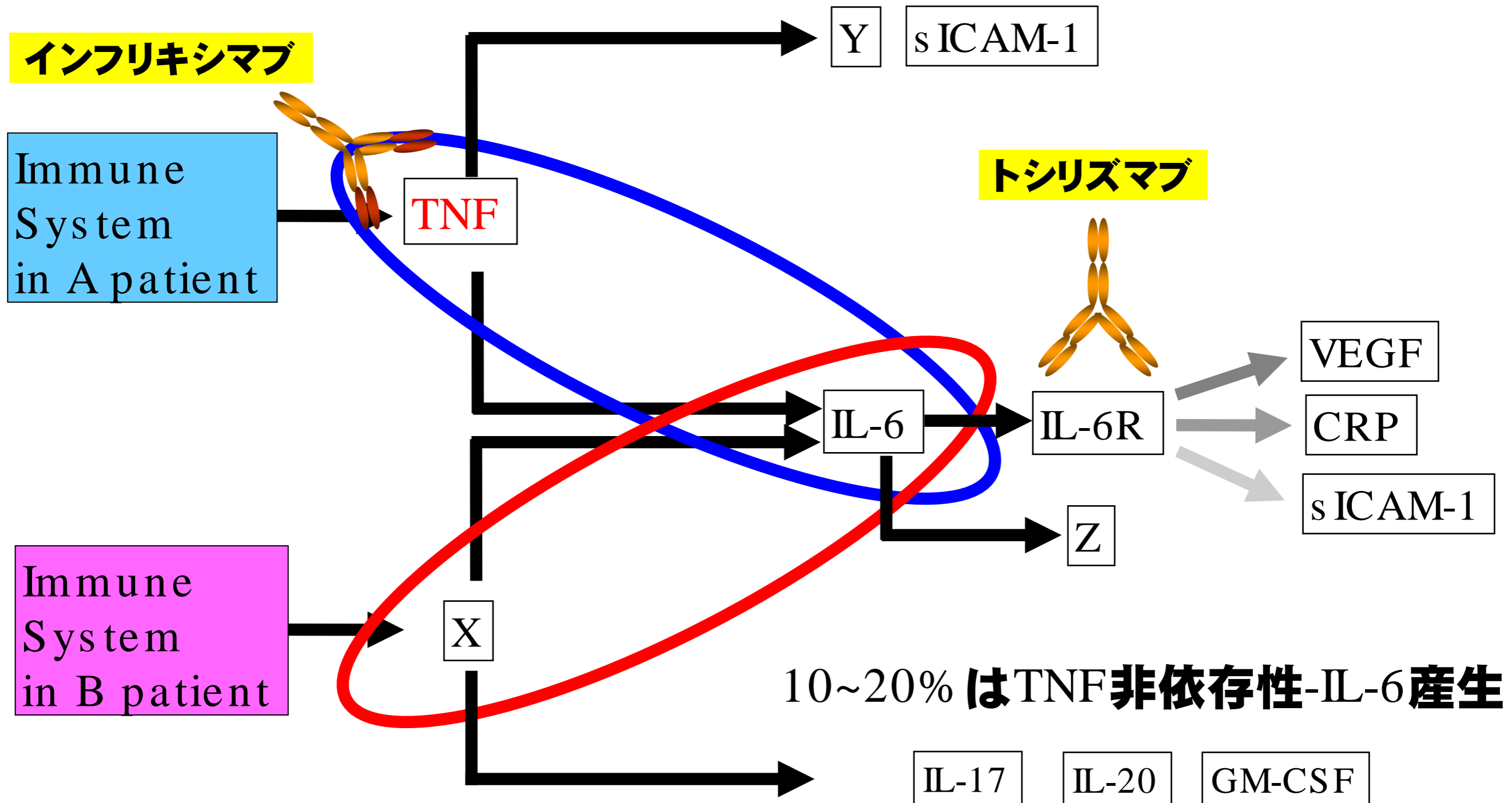
IFXのみならず、TCZにおいても、製剤のベースライン標的レベルが、治療効果と関連する
生物学的製剤の用量を決定する上で、重要な要因の一つ

Cytokine Network in Rheumatoid

Arthritis and the targets by biologics

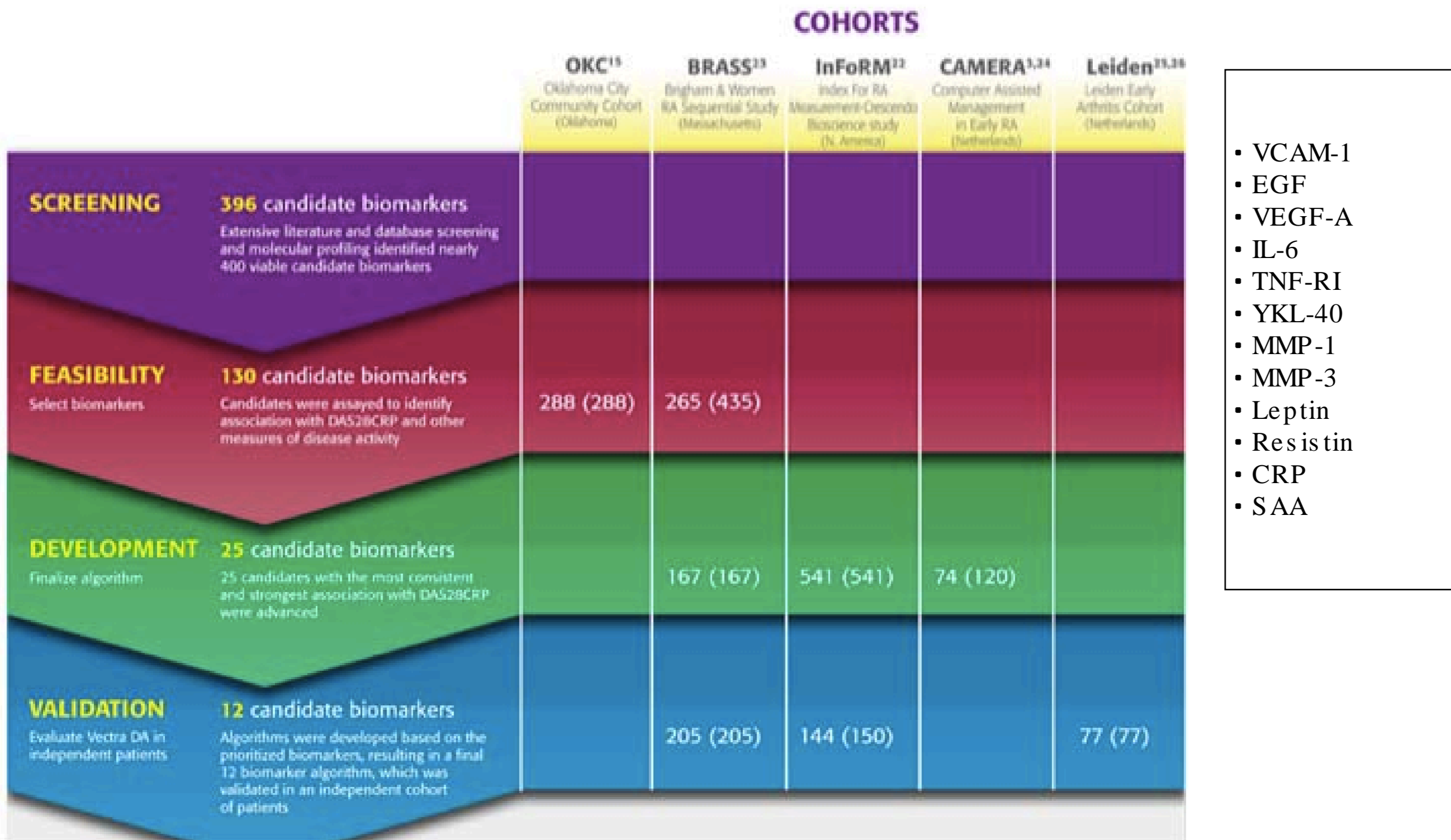
80~90% はTNF-IL-6axis が主体

Feldmann & Maini



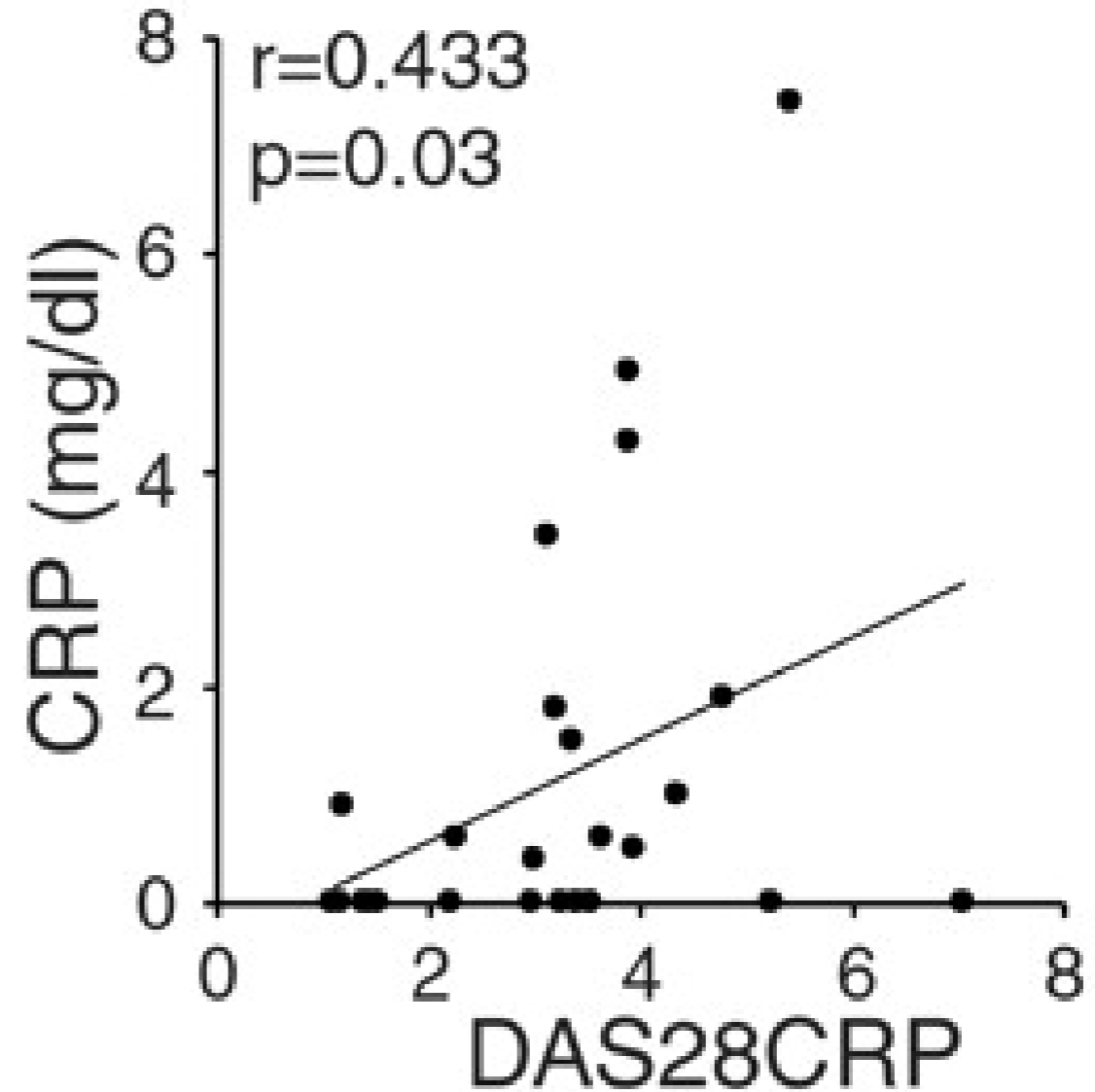
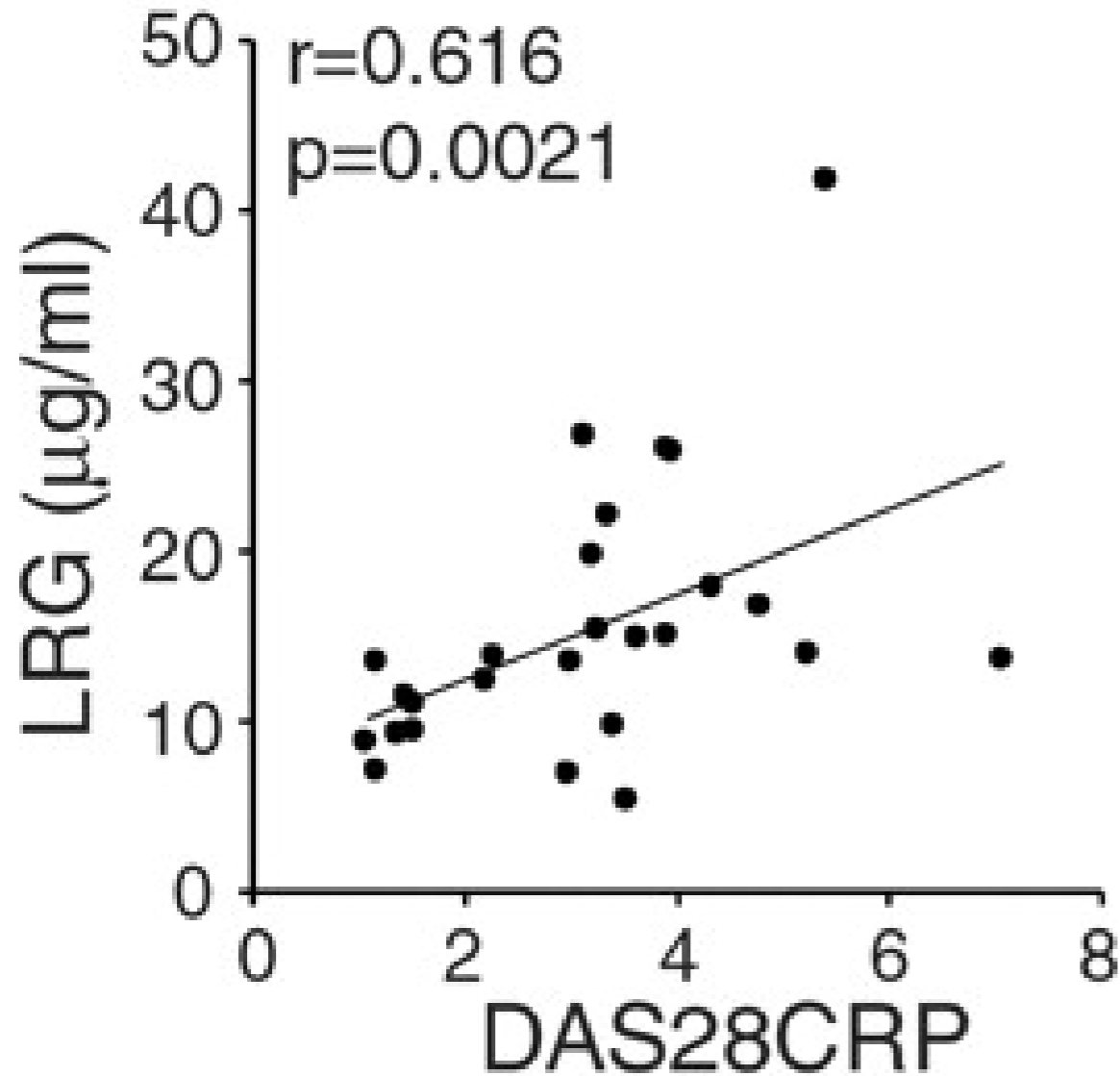
Multi-Biomarker Disease activity MBDA: VECTRA-DA®

12バイオマーカーを組み合わせ、DAS28-ESRと高い相関を示すアルゴリズムを構築。それによってMBDAスコアを算出



プロテオミクスを用いたスクリーニングにより抽出された新規RA活動性バイオマーカー

iTRAQ-based proteomic identification of leucine-rich α -2 glycoprotein as a novel inflammatory biomarker in autoimmune diseases (Serada et.al. ARD 2009)



IL-6非依存性の炎症マーカー

RA(n=26)

RAを例とした期待されるバイオマーカー像

対象疾患	関節リウマチ	
患者数	70万人（日本）	世界人口の0.5-1.0%
背景	MTX, 生物学的製剤の普及により治療が急速に進歩	
既存バイオマーカー	1) 早期診断マーカー	未確立 (RF?, anti-CCP?)
	2) 活動性マーカー	CRP, MMP-3, (LRG?)
	3) 治療マーカー	薬剤レベル、治療標的レベル（開発中）
マーカーとしての条件	1) 安価	8) 高再現性
	2) 非侵襲的	9) 短時間で測定終了
	3) 複数回測定可能	10) 臨床的意義あり
	4) 簡便	11) 他の代替え不可
	5) 高感度	12) 安全性高い
	6) 高特異性	13) 環境に優しい
	7) 高安定性	14) 長期にわたって測定可能
今後期待されるマーカー	1) 早期診断、確定診断、活動性判定に有用	
	2) 薬剤選択、効果発現時期、患者層別化、有効性、副作用、中止の可否判定、予測に有用	
	3) 関節破壊、臓器障害、身体機能障害の判定、予測に有用	