

## 第2回非臨床試験の活用に関する専門部会

日時 平成26年12月18日(木)

10:00～

場所 PMDA会議室21～23

<開会>

- 入村部会長　それでは、第2回「非臨床試験の活用に関する専門部会」を開催させていただきます。本日は寒い中、また年末のお忙しい中、ご出席を賜りまして、誠にありがとうございます。まず、議事に入ります前に、今回から、親委員会の委員でいらっしゃる甲斐先生に本専門部会のメンバーに加わっていただくことにいたしましたので、よろしくお願いいたします。
- 甲斐委員　甲斐でございます。どうぞよろしくお願いいたします。
- 入村部会長　それでは、事務局から委員の出席状況と資料の確認をお願いいたします。

<出席状況確認及び配付資料確認>

- 吉田事務局長　それでは、委員の出席状況から申し上げたいと思います。今回、甲斐先生にご参加いただきまして、科学委員会の親委員会からご参加いただく先生方も含めまして、22名の委員構成となります。そのうち、現在は10名の先生にご出席いただいております。後ほど、遅れておられる先生方もご出席いただけるのではないかと考えております。
- 続きまして、配布資料の確認です。座席表、取扱区分表、議事次第、議事次第の裏側に資料目録があるかと思います。資料1は、今回、甲斐先生に加わっていただきましたので、本日現在の当専門部会の委員の名簿を、改めてお配りしております。資料2は、早川先生のプレゼンテーションの資料。資料3は、発がんモデル。八尾先生からのプレゼンの資料です。本日の資料は、すべて取扱い上は「その他」ですので、持ち帰りいただいて結構です。資料については以上ですが、不足等がありましたら申し出てください。よろしいですか。それでは、以上です。

<議題1：非臨床がんモデルの動向について>

- 入村部会長　資料の過不足などはよろしいでしょうか。ないようでしたら、議事に入らせていただきます。今日の議題は「非臨床がんモデルの動向について」です。第1回の議論の中で、今回は非臨床において使用される種々のがんモデルについて、その歴史と現状をご紹介いただくということになっておりました。具体的には、早川委員からは Xenograft や皮下・同所移植モデル、転移モデル、微小環境等のモデルの概要について、八尾委員からは、近年の、特に発がん遺伝子改変マウスを含めて、発がんモデル、マウスの動向についてご紹介いただく予定です。各プレゼンテーションの後に質疑応答を行ってから、最後に全体を通じて、今後のこの委員会の議論の方向性等を含めてディスカッションしたいと思います。
- まず、早川先生にお願いしたいと思います。早川先生には今日は雪深い

富山から、使命感に溢れたご努力の結果、ここに今いらっしゃっていただきました。よろしくお願いします。

○早川委員

富山大学の早川です。よろしくお願いします。

今日はお手元の資料にあるような内容になりますが、最初に、オーバービューというか全体的な流れとして、あくまでもこの専門部会は抗がん剤の開発ということが、皆さんのメインのターゲットとしてディスカッションするということになっていますので、そちらにフォーカスしたような形で薬効評価という点に重きを置いた内容になっております。よろしくお願いします。

最初に、そもそも Oncology 領域での創薬プロセスというのは、他の領域に比べてどうなのかという、少し古い 2006 年のレビューの資料になりますが、左側が Oncology の compounds で、右側がその他大勢というか、ほかの疾患を対象にした創薬プロセスにおいて、比較的 Phase I・II・III、Registration、Approval となるにつれて、どのぐらいの確率で上がっているかということですが、特に Oncology のプロダクトに関しては、このレビューの中でエンファサイズされているところは、多くの開発候補品が Phase II から III へ進めないということが顕著に出ていると指摘されています。

釈迦に説法で、私があえて言うこともないと思いますが、Phase II から III は何が起こるかという、結局エフィカシーが見られないということ、要は効果が出ない。では、我々は基礎の研究者なり製薬会社で実際にここまで持ってくるために、そこまでは効いていたはずなのに、Phase II ではなかなか効果が得られないということで、いわゆる臨床での Proof of Concept を獲得する、POC を獲得することの難しさが、特に Oncology のプロダクトでは数多く見受けられると解釈できるような傾向ではないかということになっています。

もう 1 つ、Phase II から III に行くときに、非常に重要な問題はお金の問題です。実際に Phase II から III へ行くときに、同じレビューのアーティクルの中でまとめられていた情報によると、単純計算して、約倍のお金がかかるということで、やはり製薬メーカー、若しくは新しい創薬をしようというときに、Phase II から III へ持っていくときには、成功してほしいということで、かなりインベストする金額も多くなってきますので、そういった事情、要は POC を獲得するかしないかというところは、お金をさらに注ぎ込むかどうかという判断と一緒にされていると考えられると思います。

このアーティクルでは、より高い POC 獲得に向けて何をすればいいかと

ということで、比較的動物実験はお金がかかりますが、動物実験というのは、もちろん臨床試験と比較はできないかもしれませんが、Phase Studyと比較すると、かかる資金は非常に少ないということで、動物実験をしっかりやっていかなければいけないのではないかというメッセージを発信しております。こういったことをすることによって、いわゆるProbability of Success (POS)の向上に向けて前臨床試験が非常に重要ではないかということについて、この専門部会で話し合っていかなければいけないのかと思っています。

実際に前臨床試験で用いられるがんモデルとしては、非常にざっくりとまとめてありますが、上から下までいくつかリストアップさせていただきました。最初に、ありきたりと言いますか、一番ポピュラーな方法はがん細胞株を用いた移植モデルです。それに加えて今日は八尾先生から紹介していただけたと思います。発がんモデル、若しくは遺伝子改変動物のモデルなども用いられているというのが現状です。

中を細かく見ていきますと、移植モデルと言っても、異種の移植モデル、基本的に我々はヒトのがん細胞を異種、Xenograft 移植する。基本的には免疫不全のマウスになるわけですが、こういった Xenograft のモデル。又はマウスです。私はラットの実験はまったくしないので、今日はマウスの話しかしませんが、マウスにマウスのがん細胞を植える同種の移植モデル。移植と言っても、色々なところに移植はできるので、これも後で細かくお話しますが、できるだけがん細胞を、その由来の組織又は転移標的の臓器へ移植するような形での移植モデルといった、いくつかの細かい実験系による区別ができるかと思っています。

発がんモデルに関しては、発がん物質(イニシエーター/プロモーター)による発がん誘導、こういった主に変異原性によって誘発されるような発がんモデルから、遺伝子の改変によって特異的な遺伝子の欠損又は強制発現による発がん誘導というモデルが考えられます。

こういったモデルを単純に考えますと、モデルの複雑さ、技術、コスト、時間という軸で考えると、上から下に比べて単純化してしまっていますが、ざっくりと考えると、モデルは複雑かどうかというと、複雑ではないところから、どんどんより複雑になっていくモデルであって、それに相反して技術的な問題、若しくはコスト、実験をすることにかかる時間というのが、「難しい」から「簡単」というように反比例する傾向にあると考えられます。

ここから少し各論的なまとめをしますが、まず移植モデルです。先ほど申しあげたように、移植モデルと言いますと、ヒトのがん細胞を使っ

た異種 (Xenograft) モデルと、マウスのがん細胞を用いて同種・同系マウスに移植する同種移植モデルの 2 つに大きく分けられると思います。この移植モデルに関してですが、たくさんの指摘がある中で、昨今、臨床での薬効の予測に必ずしも役立っていないのではないかと指摘がされております。

こういったものの背景として、1 つ面白い仕事がパブリッシュされていますので、ここに持ってまいりました。これは少し古いまとめになりますが、2001 年に「British Journal of Cancer」に NCI からパブリッシュされた仕事で、細かい話はしませんが、ここにリストアップされているのは、たくさんの開発をして上市された抗がん剤を、いわゆるプレクリニカルに実験した結果と、実際の臨床に持って行って市場に出た後の患者での early clinical trial でのレスポンスというものを単純に、どういう相関があったのかをまとめた仕事です。なかなか面白いのですが、下の部分はクリニカルのヒストロジー、乳がんから腎がんまで、様々ながん腫で、縦軸は相関係数で、色に分かれているバーは Xenograft、植えたヒトのがん細胞株の由来の組織です。例えば、乳がんの Xenograft を見ると、実際の臨床で相関したのが肺がん (NSCLC)、melanoma、ovarian cancer の効果とよく相関していたと。しかしながら、乳がん自身はどうだったかということ、相関があまりよろしくなかったという結果です。ですから、乳がんを使った Xenograft の実験は、単純にこの仕事を解釈すると、肺がん、melanoma、ovarian cancer の臨床成果には意義があったが、そもそも自分自身というか、乳がんの臨床効果とはあまり相関がなかったという結果です。がん腫、Xenograft と実際の臨床効果が同じ臓器同士で相関しているのは肺がんだけだったということが報告されております。

こういった、いわゆる discrepancy と言いますか、実際に臨床で効果が知りたいものと、実際に前臨床試験で使っているがん細胞との組織由来との成果が必ずしも一致していないということが、この仕事から指摘されております。

さらに、2005 年の「Nature Reviews Drug Discovery」にノバルティス・インスティテュートの Alexander Kamb がまとめたオピニオンなので、割とフリーなコラム的な内容になるのですが、「What's wrong with our cancer models?」という非常に刺激的なタイトルでまとめられたオピニオンに関して、少しピックアップさせていただきたいと思います。

まず、タイトルから。では、どういうときに我々が使ったようなモデルがうまくワークするのだろうかということが指摘されていて、後の八尾先

生の資料を先ほど見せていただいたのですが、八尾先生も実際に触れられているようなところと同じで、結局発がんなり、がんの標的となる遺伝子の変異がはっきりしている場合、例えば、近年では Glivec、若しくは Iressa、Herceptin、FLT3 をターゲットにした PKC412 といった新しいドラッグは、その前臨床試験で効くところがはっきりしていますので、そういったものをターゲットにした前臨床試験モデルを組んで、その効果が良かったものは臨床試験でもうまく行って、上市されるに至ったと言われています。

がんのモデルが、特に前臨床試験で得られるデータは、後々臨床でのエフィカシーとうまく関連するようなこと、そういう期待を得るためにはターゲットとする遺伝形質の重要性というような、がん細胞の表現型を把握して、それをターゲットにしたモデルをしっかりと組むことが重要であると。そういった場合には、得てしてうまく働いているケースが多いということがまとめられています。

逆にうまくいかないときはどういうことだというと、基本的にはみんなうまくいかないということをおっしゃっているのですが、ただし既存の、これまでにあったようなモデルの中でも、例えば Xenograft などのモデルでも、いわゆる製薬のプロセスの中で、PK/PD(Pharmacokinetics/Pharmacodynamics)を測定するのが非常に重要で、それはあくまでも製剤的、若しくはコンパウンドの性質を知るための試験になるわけですが、こういった PK/PD の測定のためには、いわゆる臨床病態と関連していなくても、Xenograft モデル、若しくは、マウス、げっ歯類を使った試験の有用性は引き続き考えられるだろうと。

すなわち、うまくいかないケースが多いのですが、うまくいかせるためには、前臨床モデル、特に先ほどコメントしたような、ある遺伝背景がはっきりしていないようなモデルの場合は、自分が使っているモデルがどういう患者背景を表しているのかをしっかりと理解しなければいけませんということをコメントされています。

動物実験をやる意義、若しくは重要性として、今回、私にまとめるようにと指示をいただいたのは宿主とがん細胞の相互作用、特に腫瘍を取り巻く微小環境、宿主環境を考慮した移植モデルを、少し意義を考えて、そういったものを活用していかなければいけないのではないかとということが指摘されています。だから、マウス、若しくは、がんモデルで実験をするのであれば、そのモデルでやる意義をしっかりと出し、理解して、それを活用していかなければいけないという指摘だと考えています。

実際に移植モデル。最初にお示ししたように、ヒト、マウスそれぞれの

がん細胞を使った Xenograft と同種の移植モデルを考えたときに、移植の方法として、これが一番一般的な方法だと思いますが、ヒトのがん細胞株を免疫不全動物の皮下へ移植する、異種の異所性の移植モデルです。若しくは、免疫不全動物の対応するがん細胞が由来する組織へ移植するような異種の同所性の移植、若しくは、がん細胞株を使った、いわゆる転移のモデル、脈管内へ移植したりするような形での、実験的又は自然転移モデルといったものが考えられます。

それに対して、まったく同じ対で、マウスの系においても、マウスの腫瘍を使った、同種ですが異所性の移植モデル又は同所の移植モデル、実験的又は自然の転移モデルといったモデルがあると考えられます。

同所移植モデルといっても、色々あるのですが、一般的に論文的によく言われているのは、例えば肝がんであれば肝臓に移植する、肺がんであれば肺の実質に直接移植する方法がありますので、そういったところに移植する。大腸/結腸がん、colon cancer の系であれば、比較的よく用いられるのが(盲)腸に移植する方法。前立腺がんであれば前立腺。腎がんであれば kidney capsule、腎皮膜下に移植する方法もありますし、脳腫瘍の場合は、比較的皆さん脳の中に直接移植する方法を行っておられます。骨肉腫又は骨をターゲットとするものには直接、骨というか、骨髄の中に移植する方法を使っておられる方が比較的多いです。

転移モデルですが、転移モデルを作製するに皆さんはどうしているかという、一番ポピュラーなのは経尾静脈、しっぽの静脈から移植して、その後どうなるかという、ほとんど肺にトラップされて、肺でコロニーを作って、我々転移をやっている人間は、これを「肺転移モデル」と呼びます。肺に飛ぶもの。まれに肝臓に飛ぶものもありますが、基本的には肺に行きます。肝臓に飛ばしたいときに一般的に用いられるのは、門脈内から接種する、又は脾臓です。脾臓に打つことによって、最終的には経門脈によって肝臓に転移すると考えられていますが、こういった肝転移のモデル。これは技術的にかなりハードルが高くて、私もやったことがありませんが、左心室内に接種すると、いろいろながん細胞が骨を含む全身性に飛ぶことがよく知られています。

これは ethical、いわゆる動物倫理上、最近はやる方がいませんし、ここまでの実験をなかなかしなくなってきましたが、足せきにがん細胞を打つと、肺に転移するというモデルを過去は使われていました。若しくは、がん細胞株によっては皮下接種、又は、ある特定の乳がん細胞の場合は乳腺に移植すると、全身性又は肺に転移するといった自然の転移モデルも存在しております。

このような転移モデルがあって、これも先ほどの同所移植のモデルと同様に、転移した先はがん細胞にとって、場所は違えども、皮下よりは実際の臨床病態で起こり得る、いわゆる宿主の環境の中で育っていますので、そういったモデルであるという理解をしていいのかなと思います。

なぜそんなに周りが大事かと言いますと、これも昨今の研究成果からどんどん明らかになってきていますが、腫瘍というものはがん細胞だけではなくて、周りを取り囲む色々なもので出来上がっていますので、こういったがんの塊と言いますか、ホスト(宿主)の stroma 細胞、色々な細胞との混ざり物で作られているもので、こういった環境として捉えることが非常に重要であるということが、たくさん指摘されております。

腫瘍微小環境が実際に薬効評価に影響を及ぼすという実例を挙げてみました。これは 2010 年に「Nature Medicine」に発表された仕事ですが、これはなかなか面白くて、あるがん細胞を皮下に植えて薬効評価をしました。そうしますと、薬効がうまく取れましたというデータなのですが、実際にこのがん細胞を尾静注すると骨に行くという細胞で、骨に行った細胞に関しては、同じセラピーをしても効かなかったというデータが取られています。

同じような話は、その後にもいくつか報告があって、「Nature Medicine」に発表されたこの 2 つの仕事は、腫瘍の周りの環境ががん細胞の薬剤耐性に寄与していることを示している例です。そういった例がある場合には、薬剤耐性、若しくは、薬剤に抵抗するような環境を作れるところにがん細胞がいないと、こういった現象は見られない。つまり、皮下では見られなかったが、がん細胞が生育するような環境で育ててあげると、実際の薬効評価の結果は変わってくるという実例だと考えられます。

こういったがん細胞と腫瘍微小環境、周りの環境との相互作用が薬効評価に及ぼす例として、よくまとまっているのは 2013 年のレビューのアーティクルだと思いましたが、少し取り上げました。細かい話は今回しませんが、色々ながん細胞と、いわゆる stroma 細胞との間で、例えば液性因子だったり、直接の cell-cell interaction であったりという相互作用によって、がん細胞側の薬に対する振舞いは変わる、という例がまとめてあるのが Table 1 になります。実際によく知られているのは Multiple myeloma の系で、例えば Dexamethasone で治療するときには、骨髄の stroma によって Dexamethasone に対する耐性が誘導されることがいくつか報告されています。細かいところは一つ一つ説明しませんが、こういった左に Therapeutic agents と書いてあるような、実際に治療に

用いられるようなターゲットの薬剤は、vivo のいろいろな環境因子によって、その薬効が変わってくるということが知られています。

こういった例からも腫瘍微小環境-がん細胞の相互作用が薬効評価に重要であるということが示されており、裏を返せば、こういったことを考慮した実験を、薬効評価の中のどこかでやる必要がある。極端に言えば、こういったところをターゲットにし、相互作用が予想される場合には、そういったことをしなければいけないのかなということを示唆するような仕事なのではないかと考えられます。

もう 1 つは、そもそも薬剤のターゲットが、がん細胞自身ではなく、周りの場合も多々あるかと思います。例えば、今回 1 つ取り上げたのは血管新生の部分です。Angiogenesis をターゲットとした実験、薬剤であれば、例えば VEGF の抗体なり、VEGF の阻害剤の場合は、がん細胞だけを見ていてもどうしようもないので、結局は血管新生というイベントを見なければいけなくて、こういったものを見るときにはどういう実験があるかということ、皆さんご存じかもしれませんが、トリの卵を使った CAM Assay という Assay を使い、マウスでよく使われる Hollow Fiber という、ある fiber をマウスの皮下に植えるのですが、その fiber の中にがん細胞なり、血管新生の誘導因子を詰めておいて、それをマウスの中に埋め込むと、それに対して血管新生が起こるという実験とか、一般的にヒトのがん細胞の移植のときによく使う Matrigel のみを移植すると、その Matrigel に対して血管が配向してくるようなものを評価するといった系が使われています。こういった評価系はそもそもがん細胞株、若しくは in vitro ではなかなかやることができなく、マウス、若しくは卵といった生体を使わないとなかなか評価できない部分であるとも言えると思います。こういった実験も前臨床試験でのターゲットによっては必要になってくる事項かと思います。

ここからは触れないわけにはいかなかったのですが、メインは八尾先生がお話していただけたと思います。遺伝子改変動物モデルに関して触れさせていただきます。遺伝子改変動物は、昨今の遺伝子改変の技術の進歩と色々なテクニックが出来たことで、色々な素晴らしいがんモデルがどんどん出来ているのですが、我々が移植でやるときには、1 万個、10 万個、100 万個の細胞を SCID マウスにドンと植えて、薬が効くかどうかという実験をしますが、こういった遺伝子改変のマウスに関しては、がんの原因になるような遺伝子の mutation なりからドライブされてくるようながんに対する薬効評価ができるという点が、薬効評価という点から見ますと、メリットであり、非常に優れている点だと考えられます。

これも若干古いレビューで、何年だったか忘れてしまったのですが、これも「Nature Reviews Drug Discovery」にパブリッシュされた、当時の遺伝子改変動物が薬剤の開発過程で使われた例を挙げてある Table を持ってきました。ここで細かい話はしませんが、遺伝子改変動物も薬剤の開発の前臨床試験に、既に積極的に用いられているという例です。

こういった GEMM、遺伝子改変動物のマウスモデルというのは、実際に直接作った遺伝子改変動物のモデルに対して薬効評価をするという活用の仕方がまず1つです。

もう1つは、先ほどまでお話した移植モデルと関連してくるのですが、GEMM の良いところは、マウスの cell line は何でできたのか。基本的には carcinogen で誘導されてきたようながん細胞がほとんどで、どういった遺伝子背景を持っているのか、どういったキャラクターを持っているのかは、実はよく分かっていないので、GEMM に関してはそういう点ではしっかりしていると思いますが、そこから採ってきたがん細胞を用いて二次移植をして、評価系とするという活用方法です。移植の方法も、例えば異所性に皮下に移植して、腫瘍株を作るという方法から、例えば転移細胞を樹立する、若しくは転移モデルを作製して、転移、若しくは同所の移植を作って、そういったモデルで評価をするという活用方法が考えられるかと思えます。

こういったモデルですが、最終的にもう1つ大事なポイントは、どうデータを取るかだと思います。何が良くて何が悪いという話ではなくて、我々は一般的にどう評価しているのかと言いますと、基本的に形態学的な評価と言っているのだと思いますが、皮下モデルで、なぜみんな皮下法でやるかという、ノギスで測って、数字でデータが出て、大きさが計算しやすくてということで、やはり測りやすくて、定量的なデータが取りやすいからだと思います。そういったサイズの測定から、転移のモデルで言えば、見た目でコロニーがいくつあるといったものを評価する、若しくは組織の重量を測るといった、非常に形態学的なざっくりとした方法でやられているのが現状です。

それに加えて病理組織学的な評価、若しくは、最初にコメントした薬剤の開発の過程では、PK/PD の評価に非常に有効活用されており、実際にそのターゲットとするがんの組織でどれだけの薬物濃度を保っているのか、保っていた場合に、ターゲットとするタンパク、若しくは遺伝子の発現の変化が見られているのかどうかということで、その compound の正当性を評価することを積極的にするために使われています。ですから、PK/PD の測定のとくに、がんが小さくなる、若しくは、がんに対する効果は必

ずしも見られていない場合も多くて、こういったマーカーを見るということが行われています。

複雑なモデルだとこういったことができないので、昨今よく使われているのは、*in vivo* イメージングなどを使って評価する。今は小動物系でも色々なイメージングがありますので、こういったものを活用して、より複雑なマウスモデルでも定量的なデータを取れるような形になってきています。

ということで、今日ご紹介したモデルの特徴をざっとまとめますが、がん細胞株は皮下移植による異所性の移植モデルの場合は、がんが増殖抑制効果が顕著に認められる場合は、がんが大きくなったり、小さくなったりするという評価方法で、非常にモニターが簡便で、判定も容易である。何かと何かをコンビネーションするときデータが取りやすいので、比較的そういった判定も容易である。組織のサンプルも目に見えて、そこにありますので、非常に容易に行える。ということで、比較的多用されている。

同所性の移植モデルはこれに比べて、ほとんど上皮系組織由来のがん細胞にとって皮下という場所は、非常に変な場所ですので、特にヒトのがん細胞株においては免疫系もないということで、それぞれの臓器が持っている本来の特性を *in vivo* において反映していない可能性が高いのではないかとされています。こういった点からは、マウスとヒトという違いはありますが、本来いるべき所に移植した方が良いのではないかと考えられています。

実験的な転移モデルはどうかと言いますと、原発巣を遊離したがん細胞が血管内に侵入するまでのステップを完全にスキップしていて、がん細胞が血管の中に入った後どうなるか、ということ調べるということで樹立されたモデルです。

簡便性とか、再現性の高さは非常に高いのですが、評価期間は比較的短くて済みます。ただ、血管内にマウスの系でも、例えば、 $10^4$  個ぐらい打たないと、なかなかうまくモデルができなくて、本当にそんな数の細胞が一気に入っているのかと言われると、おそらくあり得ないと思います。そういった点では人工的な系であると言わざるを得ないと思います。

そういった点では自然転移モデルは実際に存在しますので、こういった同所性又は異所性に移植したがん細胞株が原発巣から離れて転移する過程、実際に転移先の過程においても、宿主との相互作用がありますので、そういった病態のすべてを反映していますので、非常に面白いモデルだと思います。ただ、こういった behavior を示すがん細胞株は非常に限ら

れていますので、実験的な結果がばらつくことも多いのが特徴です。

GEMM に関してですが、発がんプロセスはすべて一緒ですが、がん病態を形成することができますので、非常に優れたモデルだと思いますが、簡便さ、再現性、評価期間という 3 つの観点からは、移植モデルと比較して非常に不利な点が多いのが現状です。特にどう評価していくかというところが、薬の効果をという点で、非常に大きな問題というか、これから考えていかなければいけない点だと思います。ですから、いわゆる開発品や新規治療法の判定効果を GEMM でしようというの、なかなかチャレンジングな試みだと言わざるを得ないので、先ほど紹介したような代替方法といか、移植モデルとの折衷案みたいな形の評価方法が、今考えられているのが現状です。

ここまで駆け足でモデルに関してお話したのですが、最初にお話した遺伝子系、若しくは標的の遺伝子なり、ターゲットがはっきりしている場合の薬剤ですが、薬剤の開発において、分子標的全盛の時代ですが、そうではない薬剤も結構ありますよというのがまとめられているのが、今年出たレビューで、ちょっと面白かったのが最後に持ってきました。

これは 1999 年から 2013 年までに表現型、Phenotypic screening で引っ掛かってきて、開発プロセスに乗った化合物で、この図でいうと、右の下の方にある 4 つのカラムがそういった薬剤にあたります。ほとんどが分子標的で左上にきているのですが、右の隅にきているのは Phenotypic screening で引っ掛かってきて、メカニズムが何だかよく分からないというもので、ただ、効いていると。

その人たちが、今どの程度 Phase III、Phase II にいるかというのが下に示したカラムで、左側が今 Phase III にある薬で、Phase II にあるのが右側にある薬です。ざっくり見ただけでも結構たくさんあるという印象です。こういった薬はメカニズムが、ここを狙いたいのだが、Phenotypic screening があって引っ掛かってきたけれども、どうやって抑えているかは今一よく分からないというものです。こういったものの薬の開発には、分子標的薬は完全にデザインされて作られていますので、薬効評価は明確だと思いますが、こういった Phenotype から出てきた薬、いわゆる我々がよく使うのはケモと同じように、がん細胞が死んだ死なないというところで表現型が出るようなものに関しては、前臨床のモデルで毒性も含めて、何らかのしっかりとした評価をしていかなければいけないのではないかということ、このレビューアーティクルでは指摘している点です。こういったことに関しても、この部会で少しディスカッションしていかなければいけない点なのかなと思います。

最後に「今後の議論の課題」ということで、少しまとめさせていただきました。こういったモデルがある中で、こういったもの、いわゆるマウスで実験してもしょうがないというお話もありますし、実際に起こっている、特に分子標的で起こっているのはターゲットがはっきりしていて、*in vitro* で効くことが分かっている、とにかく *in vitro* で効くがん細胞をマウスに付けて小さくしてくださいという前臨床の試験が往々にしてやられているはずなので、こういったことが本当に必要なのかどうかということや、Xenograft モデルの結果がもたらす意義、必要性に関して再認識しなければいけないということと、昨今新しい色々な培養系、例えば 3D 培養なり、*in vitro* での実験系も色々なオプションがたくさん出てきましたので、こういったものと動物実験を比較した中で、必ずしも動物実験をしなくてもいいケースも開発候補品によってはあるのではないかと個人的には思いますので、こういったケースを、必ずしも動物実験は必要ではないのか、必ず動物実験は必要なのかという、あくまでも efficacy を取るという意味で議論をしていったらいいのかと思います。

やはり開発の中で複雑なモデル系になればなるほど、お金がかかって、時間もかかって、スループットが悪いという 3 点セットが必ず付いてまいりますので、こういったものも含めて、いろいろ議論していかなければいけない部分なのかと思います。

以上で私からのプレゼンを終わらせていただきます。ありがとうございました。

○入村部会長      ありがとうございました。全体像を非常によく概観していただきました。何かコメント、追加、ご質問はありますか。今後、この議論の取りまとめを作っていくにあたって、こういうことがもう少し議論された方がいいのではないかというご意見もあってもいいかと思いますが、ありませんか。

○八尾委員      非常によく理解できたのですが、6 枚目のスライドで示された「前臨床試験と臨床試験の結果における相関関係」という実験ですが、これは樹立された培養細胞を使って臓器全体としてエフィカシーを見た。伺いたいのは、そういった樹立細胞のもともとのオリジンが、がんの性質をどのくらい反映しているかという、何かそういうイメージというか、そういうコンセプトみたいなものはありますか。

○早川委員      その辺に関して、ある意味、この試験が反映していないかもしれないというエビデンスなのではないかと思うのです。例えば、色々ながん細胞パネルなどをやっても、将来的に出る臨床での臓器に対する効果と、*in vitro* での cell line の効く種類は、必ずしも一致していない場合という

のはあるかと思います。そういう意味では、cell line というのは、もともとあった、若しくは実際のがんの組織における病態と相関していない可能性が十分ありますよ、ということのエビデンスだということではないかと個人的には思います。

それが in vitro の culture によって変わってしまったのか、そもそも使っているがん細胞株がある程度偏った性質を持っているのかというのは、個人的には分かりかねるのですが、今、先生がおっしゃったようなことを示しているのではないかという理解でよろしいのだと思います。比較的このスタディをまっすぐ信じるのであれば、肺がんの場合は割と in vivo、若しくは前臨床の試験の結果と、in vitro の culture した細胞をマウスに植えるという試験をやったときに、相関が見られるので、比較的がん細胞株の挙動が担保されているというか、保存されている可能性はあるのかもしれないと、このスタディでは指摘していました。

○入村部会長　　よろしいですか。このスタディは 10 年ぐらい前なのですよ。その頃、例えば乳がんに関してタイプ分けがどの程度されていたかというのは、ちょっと問題かと思います。例えば、トリプルネガティブ、乳がん細胞による感受性試験の結果が卵巣がんの感受性にむしろ反映されるというのは、何かありそうな話であって、乳がんのマジョリティは、むしろ感受性が重なることもあり得ます。だから使われた cell line によっては別の種類のがんに反映されてしまうことがあっても不思議はないと腫瘍生物学的に結論できるかもしれませんね。

○早川委員　　そうですね。

○入村部会長　　がんに関するサイエンスに色々な変化が起こっているのではないかと思います。ほかにご質問、コメントはありますか。

○矢守副本部長　　質問ではなくて、コメントです。最後に早川先生が触れられたように、現状の抗がん剤の開発は分子標的に向けられています。つまり、がんのメカニズムが分かっている場合、すなわち molecular target が認識されている場合は、そういう開発ができるようになってきています。けれども、phenotypic な screening で見つかったものは、今のサイエンスではまだ同定していない unknown の target に対して効いている場合もあるのでしょうか。

○入村部会長　　他にご質問、コメントがないようでしたら、八尾先生からプレゼンテーションをよろしく願います。

○八尾委員　　がん研究会の八尾です。今日、私が頂いたお題が「発がんモデルマウスの現状と展望」ということでしたので、それについて少し日々考えていることを整理させていただきました。最初にお詫びですが、お手元にあ

る資料等は、一部スライドが少し変わっておりますので、大変申し訳ありません。ご了解のほど、よろしくお願いいたします。

最初に確認というか、前回の専門部会のまとめから私が読み取ったところですが、おそらく非臨床薬理試験の目的は2つあって、1つは安全性の評価、2つ目が有効性の評価だと思います。今、おそらく上市されている抗がん剤がウイズドローされる一番大きな理由は、副作用が多いと思いますので、安全性の評価は非常に重要なポイントだと思います。

ただ、今回、私の専門でもないこともあってあまりお話をさせていただけませんので、もし、この専門部会でそういう機会がありましたら、その辺を取り上げるのは非常に重要なポイントではないかと思います。

今日、私が一番のポイントに置いているのは、有効性の評価です。これも前回の資料からピックアップさせていただいたのですが、2つのポイントがあって、1つは薬剤作用機序の実証。これは、例えば分子標的治療薬などが、本当に目的の分子を標的として抗がん剤として機能するか、がんの増殖、あるいは維持を抑えるかを実証するという目的が1つあると思います。簡単に言うと、標的分子のPOCを取ると。

2つ目が「適応がん腫に対する有効性」と書いてありまして、これは何が適応がん腫かという非常に大きな問題が1つあると思います。それに対してそれがどう有効に働くか、エフィカシーの問題。この2つのポイントがあるかと思います。

これも早川先生から非常に丁寧にお話があったのですが、非臨床薬理試験の分類が3つあると理解しています。1つが、今ありましたヒト腫瘍由来の樹立細胞、いわゆる cell line を使ってやるもの。これは in vitro の培養細胞、あるいは in vivo の実験。今、本当に早川先生から詳しくご説明があった異所移植あるいは同所移植、この2つがあります。

2つ目が、今日私がお話させていただきます発がんモデル動物。これには化学発がんマウスと、いわゆる GEM、遺伝子改変マウスの2つがあると思います。

3番目が、最後に少しお話がありましたがん患者由来の組織培養。具体的には、今、少しはやりの PDX (Patient-derived xenograft) があります。もう1つは、いわゆる in vitro の3次元の培養法。これはここ数年、spheroid というやり方がありましたが、最近ではもう1つ上の organoid 培養がありまして、おそらく一番有名なのは、Hans Clevers がやっている大腸の消化管の細胞を、しかも、これは正常なものを培養できるという報告があります。今、おそらく皆が躍起になっているのは、それをヒトのがん組織から持ってきて、3次元の構築をしたまま培養する。それが

何らかの薬効評価には非常に有効ではないかと、私個人的には考えています。

今日お話をさせていただく発がんモデル動物に関しては、1 番の cell line を用いたものと患者由来の組織培養と比べて、どういう優位性があるか、あるいはどういう問題点があるかについて、整理させていただきました。

発がんモデル動物から見たがんの分類は、非常にざっくりとした分類で申し訳ないのですが、1 つはドライバー変異が明らかながん、もう 1 つはドライバー変異が不明のがんということで考えてみました。ドライバー変異が明らかながんの具体例として、今日、1 つ取り上げさせていただいたのは、これは有名な間野先生の EML4-ALK fusion の肺がんモデルですが、この論文でやられていることは、EML4-ALK の fusion 蛋白を、肺胞上皮に特異的に発現させるために、SPC(Surfactant Protein-C)のプロモーターの下流において、これをマウスの受精卵にインジェクションします。そうすると、トランスジェニックマウスができてくるのですが、B のところで示してあるように、コピー数が違うものがいっぱい取れてきます。一般的にコピー数が多いほど、発がんに至るレーテンシーが短くなりますし、非常に強力な phenotype を発現するようになります。

C では、肺のみで選択的に発がんしている。その隣にある A では、これは非常に早いのですが、30 日でほとんどのマウスが死亡します。そのときの肺を見ると、Control-#3 と #5 があるのですが、非常にきれいながんという言い方はよくないですが、がんができています。これではそのときの薬効評価がされていまして、これはクリゾチニブではない、別の TKI ですが、これはサバイバルの点でも非常によく効いているように見えます。もちろん Treatment-#5 では、肺がんは非常にきれいになくなっておりまして、先ほど早川先生もおっしゃっていたように、何を見るかという点では、これは寿命と組織で見ているということです。

実際、これは私たちも別の融合遺伝子などでやっているのですが、本当に融合遺伝子に関しては、非常にきれいなモデルマウスができます。早くがんが発症して、それを TKI でインヒビットすると、非常にきれいに抑えられる。それはどうしてうまくいくかを考えますと、1 つは、標的遺伝子が強力なドライバー性を有している。もう 1 つは、がん細胞がその機能の依存の下に生存あるいは維持がされている。いわゆる oncogene addiction となっていることがあります。もう 1 つは、標的遺伝子を直接阻害する薬剤の評価。この場合はチロシンキナーゼのインヒビターはものすごく研究が進んでいますので、おそらくそれが非常にいい方

向に働いたのだらうと思います。

ドライバー変異が明らかながんに関してまとめますと、1 つは、変異遺伝子を直接の標的とする薬剤。今お話をさせていただきましたような融合遺伝子に加えて EGFR、BRAF<sup>V600</sup>mutation などというものは、そういう直接の薬剤があります。おそらくこういうものはうまくいくのだらうと。もう 1 つは、例えば Ras のパスウェイでは、Ras 直接ではなく、その下流の MEK インヒビター。Wnt signal では、 $\beta$ -catenin-TCF の阻害剤。これは間接的に阻害する薬剤があります。

これは一言で言いますと、ドライバー変異が明らかながんに関しては、この目的である薬剤作用機序の実証、薬効評価という 2 つのポイントは、非常にクリアしておりますので、私は詳しいことは分かりませんが、例えば審査の過程では、これは非常に進めていいのではないかと私は思います。

ただ、ドライバー変異が明らかながんはそれほど多くなくて、ほとんどのヒトのがんは、まだドライバー変異が不明のがんが多いと思います。そういうものに関して少し考えてみました。発がんモデルマウスは、これも重複して申し訳ないのですが、化学発がんモデルがあります。これは mutagen をマウスに与えて mutation を入れると。そこで入る mutation がはいる遺伝子は分かっているのですが、それでもばらつきがあります。

もう 1 つが、遺伝子改変マウス。これは当然、遺伝子を改変するわけですから、変異遺伝子は明らかです。それには作り方が 4 つあって、1 つは、突然変異の誘発マウス。ENU などによる single nucleotide のサブステイテーション、要するに point mutation を入れるというものです。

2 つ目が、先ほどの融合遺伝子でも使われていましたが、トランスジェニックマウス。これは発がん遺伝子を導入して、そこでがんを作らせるものです。

3 番目が、相同組換えで作成される遺伝子組換えマウス。これは、コンベンショナルなターゲティングもできますし、コンディショナルのものもできますし、point mutation も入れます。色々な形でヒトのモデルに近付けることができます。

最後がゲノム編集マウス。これは ZFN とか TALEN が随分前から出てきたのですが、ここに出てきているのは CRISPR/Cas9。これがここ 1、2 年でマウスでも非常に有効に働くことが分かってきておりますので、そういうものも、例えば複数の遺伝子の mutation を入れたいときには、圧倒的な力を発揮します。

これらのマウスの特徴は「自然発症がん」と書きましたが、

autochthonous cancer、原生林ではないですが、もともとあるところに生えているがんという特徴があります。この特徴は、がんの発生過程、これは発生・進展・転移を再現すること。もう 1 つ、先ほど早川先生が非常に強調されておられました微小環境、これは stroma 細胞とか、血管とか、そういったものを再現するのが、ほかの 2 つのモデルに対して非常に優位な点かと思えます。

私は消化管がんモデルマウスをやっておりますので、それについていくつか具体例をお示しさせていただきます。大腸がんの場合は、化学発がんモデルが確立しております、AOM(azoxymethane)と DSS(dextran sodium sulfate)を投与するという手法が確立していて、多くの先生はこれを使われているのだと思えます。これはまず AOM で mutation を入れる。そのために腹腔内に 1 回投与して、その後 1 週間 DSS を飲ませて炎症を起こさせるということです。

これを経過観察しますと、飲ませて、これは本当にすごいと思うのですが、4 週間目で 1 つの crypt に異常が出てきます。さらにそれが、「ACF」と書いてあるものは、これは aberrant crypt foci という形で、foci を作ります。それから、すぐに Microadenoma、Adenoma、それから Carcinoma という発がんのプロセスを非常にきれいに再現しています。本当に素晴らしいところは、これが 20 週ぐらいで行けるということ、そのタイミングも分かっていることは、非常に大きいです。

このモデルがヒトでは何を反映しているかを考えますと、もちろん、これは mutation と炎症反応がありますので、潰瘍性大腸炎あるいはクローン病から発生するがんのモデルだということを、これは比較的きれいに言えると思えます。

ただ問題なのは、先ほども少し申し上げましたが、mutation から見ると、Kras、 $\beta$ -catenin の変異が頻発するのに対して、Apc、p53 の遺伝子変異は少ないという特徴があります。ですので、これは薬効評価を行う上では考慮しなければいけない点かと思えます。

実際、これを用いているいろいろな薬効評価が行われていますが、実際に COX-2、あと PPAR ligands の薬効評価が行われています。

Model and strain というところは、先ほどお示したものと若干違いますが、基本的には AOM と DSS を使うものがほとんどです。

Experimental protocol をよく見ますと、例えば一番上のものは、AOM を与えた直後に ASA という薬剤を加えているので、これは腫瘍ができる前に薬剤を与えていますので、これは決してがんの治療薬としてではなくて、予防薬としての薬効評価と考えております。この点は非常に難し

くて、この場合は、がんがいつできるかは把握できていますので予防だと言いきれますが、ほとんどの論文などを読むと、その部分は区別してなくて、予防と治療をあまり考えずに、つまりがんができて、どのタイミングで薬を与えているかは、あまり深く考えていない論文が多いのですが、実はそこは重要なポイントかと思います。

最後の Effects を見ていただきますと、ほとんど Reduction とか Weak suppression という表現がされています。

これは1つだけ論文の具体例を次にお示ししておりますが、これはまさに先ほどの手法、AOM と DSS を与えてがんを作る。そのときに、Group2 は COX-2 の inhibitor で、3、4 が PPAR $\gamma/\alpha$  の ligands ですが、それを与えると、どれくらい腫瘍が減るかを見ています。これは 17 週で見ているのが 1 つのポイントですが、ここで見ている評価は Incidence、がんがどれくらいの頻度でできるか。それで見ますと、当然コントロールで 100% できるものが、例えば nimesulide で見ますと、それが 80%、60%、40% という形で、まず腫瘍の Incidence が下がる。もう 1 つ評価の方法としては、multiplicity ということで、これは腫瘍の数で見ているのですが、腫瘍の数で見ても、例えばトータルで見ると 5.2 が 1.8 になる、2.5 になります。

ですので、これは薬としてはもちろん効いていることになるわけですが、これをヒトに戻したときに、これが本当に何を意味するかは、おそらく誰も分かっていないと思うのです。ですので、私も論文で「下がりました」と書くのですが、それが本当にヒトのどういう部分を反映しているのかを考えるポイントは、効率的な非臨床試験という点では非常に重要かと思います。

もう 1 つ大腸がんの遺伝子改変マウスに関しては、突然変異誘発モデル。これは、William Dove という人が ENU mutagenesis で、APC<sup>min</sup> を作りました。min は multiple intestinal neoplasia という意味で、消化管に腫瘍がいっぱいできるということで付けられました。これは 1992 年の話で、ちょうど中村祐輔先生が APC を『サイエンス』に発表されたのが 1991 年で、これは非常に大きく取り上げて、これ自身『サイエンス』に載ったもので、今、本当に薬効評価にはたくさんの研究者が使っております。

そのあと、遺伝子改変モデル、APC の遺伝子変異、これはコンベンショナルのものもありますし、コンディショナルのものもあります。

もう 1 つこれに関連して、活性型の  $\beta$ -catenin。Wnt signal は、APC が、抑制しますが、これが欠損しますと、 $\beta$ -catenin が蓄積して Wnt signal が活性化しますので、活性化型  $\beta$ -catenin を入れるのは基本的には同じ

で、表現型も非常によく似ています。

この 3 つは、家族性大腸腺腫症 (FAP) のモデルマウスです。ただ、これも非常にいいモデルですが、問題点は 2 つあって、1 つは、これはヒトでは大腸腺腫症と書かれるように、大腸で腫瘍がいっぱいできるのに対して、マウスでは、これは小腸がほとんどメジャーです。もう 1 つの問題点は、もちろんヒトでは腺腫があった後、がんになるのですが、マウスではほとんどの場合は、がんはできません。その前にアネミアとか、カケキシアみたいなものでマウスは死んでしまいますので、腫瘍は基本的にはこれではできないのです。

もう 1 つ大腸がんの世界で有名なのは Lynch 症候群のモデルマウスとして MMR (mismatch repair) の遺伝子、ただこれも残念なことに、大腸には腫瘍はできなくて、ほとんどののは Lymphoma にあります。理由はよく分からないのですが、p53 に関しても、マウスでは Lymphoma ができることが多いのは特徴です。そのほか、Ras とか、p53 とかいうのもあるのですが、これ自身ではがんはできなくて、一生懸命腺腫から大腸にするためにこれらをかけ合わせてモデルマウスを作るのが私たちの仕事の 1 つです。

これを使った COX-2 の阻害剤の評価。これは武藤先生が出された非常に有名な Cell の論文ですが、APC<sup>716</sup> という Conventional Knockout Mice の heterozygous、これはもう 1 つのアレルがストカスティックにディリジョンしてがんができるのですが、それに COX-2 の遺伝子破壊をしました。そうすると腫瘍が減ります。B では、その径も小さくなっていることを示しています。ですので、これは個体レベルでの POC に相当するのだと思います。もう 1 つ薬剤評価、これは Sulindac と、ここで開発されており MF tricyclic という薬剤を評価しておりますが、腫瘍の数は非常に減ることを示しております。

ですので、それはいいのだと思いますが、その後、今、金沢におられる石川先生が留学先で発表された論文が、Carcinogenesis、2010 年に発表されておりまして、この論文を取り上げさせていただいたポイントは 2 つあります。1 つは赤で示しておりますが、COX-2 が発現しているのはがん細胞そのものではなくて、tumor stromal fibroblasts、あるいは macrophages、あるいは endothelial cells であることが示されています。COX-2 の阻害効果に関しては、培養細胞を使って同じような結果を出しているグループはいっぱいあるのですが、そういうものとマウスを使った動物というのは、おそらく見ているポイントが違うと考えられます。もう 1 つ面白いのは、1 つは、右の方にグラフで示させていただきましたが、AOM で induced した tumors では腫瘍の数は減るけれども、それに

DSS を加えた場合は腫瘍の数は変わらない。ですので、どういう形で腫瘍ができるかによって薬効は非常に変わってくる。自分が何を見ているかというのは、非常に重要なポイントだと考えます。

あと3枚でまとめさせていただきます。現状についてです。遺伝子改変マウスは、自然発症のがんのモデルで、発がんのプロセス、あるいは微小環境の再現は、ほかの培養細胞を用いたもの、あるいは患者由来の組織を用いたものに比べると、圧倒的に再現性に優れているように思えます。

2つ目が、もちろん遺伝子改変マウスに生じるがんは、細胞の多様性、階層性、可塑性、つまり stem cell から分化を伴いながら発生する腫瘍を再現しておりますので、それによる抵抗性を考慮した薬効評価が可能だと考えます。前回、佐谷先生が「自分は効かないのだよ」とおっしゃっていたと思うのですが、私は本当にそう思います。その理由の1つが、1に書いてある微小環境とか、そういったものに抵抗性を与えている可能性もありますし、もちろん多様性、階層性、可塑性が抵抗性を付与している。私たちはそういうものを見ているのではないか。ただ、そういうものは論文に出てきませんし、おそらく評価でもそういうことは誰も言わないと思いますので、非常に難しいところではあるのですが、そういった事実は、薬効評価においては重要なポイントではないかと考えております。

3番目、これは明らかなことですが、薬剤のターゲットは本当に抗がん活性があるかというものを評価する点においては、今、モデルマウスというのは非常に有効だろうと。

最後に書いたものですが、ドライバー変異が明らかながんであって、実は今日もお示しした APC、FAP などは遺伝性のがんですが、それに対するモデルマウスは比較的作りやすい、もちろん原因が分かっているからですが。そういうものに対する薬効評価は非常に強く進めていいのではないかと考えております。

課題です。課題は遺伝子の変異が明らかになっていないものに関してですが、問題は、1つ目は、ヒトのがんの特性もいかに再現しているかという点です。先ほど少しお話しましたが、1つの病態について、目的の組織、臓器にがんができないという問題があります。ただ、これは組織特異的な Conditional Knockout Mice で、クリアすることができます。がんができたものを、例えば病理の先生に持っていきますと、「こんなの違うよ」とよく言われるのですが、組織型が違う、あるいはヒトのがんのステージ、転移能などは反映しないケースも非常によくあります。

2 番目が病因。これは、今回は炎症の話をしていただきましたが、それ以外にも感染あるいは外来抗原などががんに関与する可能性があります。

3 番目が、遺伝子変異、エピジェネティック変異。つまり、何ががんを発生させるのかという私たちの理解はまだまだ足りなくて、それが無い限り発がんモデルマウスを作るのは非常に難しいだろうと。

4 番目が、Cell of origin と書かせていただきましたが、一部のがんなどは、どれが起源細胞かは分からないことが多くて、それが再現性の精度を低くしているというケースもあります。

5 番目が、Modifier の遺伝子。ヒトで Modifier があって、マウスでは Modifier が無い。だから、腫瘍の形が違うことも、実際、APC のがんでもあります。ですので、そこをマウスがヒトをどうやって、どこまで再現するかという非常に大きな問題があります。

最後が、ヒトの遺伝子多型です。これがジーバス (GWAS) みたいなものでいくつも出てくるのですが、そういうところが、モデルマウスは非常にピュアなジェネティックグラウンドでやりますので、そこをどうクリアしていくかは重要です。ただ、薬効評価という点で考えますと、これらすべてを再現する必要はないと私は思っておりまして、自分が薬効評価を見ているときに、どれをポイントにしているのか。例えば、遺伝子変異があって、そのパスウェイを抑える、そういうフレームワークを見ているのだという考え方もあると思います。それは必ずしも組織型が一致しないということもあると思います。ですので、薬効等、リンクした特性の同定は非常に重要なポイントで、これがあれば、より発がんモデルマウスは有効に使えるのではないかと。今流行りなのは予測マーカー。コンパニオン診断薬に結び付くような使い方が 1 つあるのではないかと思います。

2 番目が、結果の解釈ということで、エンドポイントをどこに置くか。それは腫瘍数なのか、サイズなのか、生存率なのか、これによって解釈が大分違ってきます。何よりも重要なのは、それをヒトに戻したときに、ヒトの何を反映することになるのか。それをよく考えないと、マウスで腫瘍が減ったという意義が、今一つ価値を持たないことになるかと思えます。

先ほど少し言わせていただきました 2 番目が、投与プロトコール、予防か治療か。これは注意深く見ていかなければいけない。

あともう 1 つ、観察期間です。マウスは 2 年ぐらしか生きませんので、例えばヒトの FAP だと 16、17 才でアデノーマができて、がんができるの

は、それより 10 年、20 年後です。それは、マウスでは再現できませんので、そこは限界があるかと思います。

最後、長くなって申し訳ないのですが、今後の展望について。非臨床試験の 2 つの目的のうちの 1 つ、薬剤作用機序の実証ですが、ノックアウト・マウスは非常に有効です。しかも International Mouse Phenotyping Consortium という共同研究機構が、マウスの遺伝子がほぼ 2 万のうち、1 万 5,000 ぐらい ES 細胞を作っておりますので、それを単にインジェクションすれば、Conditional Knockout はすぐできるようになります。ですので、以前みたいに一つ一つ使うのに比べると、ものすごく早く実験計画をオープンすることができます。

もう 1 つは、CRSPR、TALEN。これによって複数の遺伝子変異を入れることができますので、この薬剤作用機序の実証という点では、非常に迅速にできるようになりました。これはサイエンティフィックにも非常に重要ですし、薬効評価というか、審査でも、これがあるかないかは重要なポイントではないかと思います。

2 つ目の目的である適応がん腫に対する有用性。これは大規模網羅的な遺伝子解析変異、The Cancer Genome Atlas(TCGA)などがほとんど遺伝子変異は同定していますし、あるいはエピゲノム、そういったものの全容は非常によく分かっています。ただ問題は、どれががんに機能しているか、つまり、どれがドライバーで、どれがパッセンジャーかは、今、これをまだやっているところです。ただ、それでも「適応がん腫」という点から考えますと、臓器別のざっくりとしたがん腫の分類というよりも、むしろ、例えば遺伝子変異などを指標とした分類に、移行することが重要ではないかと考えています。そうなった場合に、がん腫は細分化してしましますが、それを再現するモデルマウスは作ることが可能ですので、そういった方向で有用性があるのではないかと思います。

3 番目、これは今日お話できなかったのですが、いくら頑張ってもマウスはマウスですので、ヒトでの検証が重要になってきます。それは臨床試験をやればいいのだという議論があることは重々承知しておりますが、最近はやりの PDX、あるいは、まだ評価が確定していませんが、organoid、spheroid での検証も考慮に入れていいのではないかと思います。

○入村部会長 八尾先生、どうもありがとうございました。ただいまのお話に何かコメント、ご質問はございませんでしょうか。

結局、非臨床試験の目的が安全性の確保と、開発の効率化というか、効果の適切な予測ができるようになることだというのは、大変重要なポイントで、今日のお話はその 2 番目の部分ということかと思います。

- 岡崎委員 GEMM はすごく有用だとは思いますが、例えば、今、上市されているような転座型というか、キメラ型のカイネースのインヒビターであれば、GEMM を作るまでもなく効果を判定できたりしないのですか。Bcr-Abl はちょっと難しいところだとは思いますが、それ以外のものであれば、わざわざ GEMM を作らなくても十分に効果が判定できたりしないのかなと思ひまして。
- 八尾委員 おそらく、一般的にはそうだと思います。ただ、効かなかったり、いわゆる TKI であっても、ほかのターゲットを持っていたりする可能性は十分あって、まず、そういう評価をしなければいけないですし。
- 岡崎委員 でも、それは over expression した primary の細胞で、ゼノというか、ゼノでなくてもいいかもしれないのですが。
- 八尾委員 vitro の大きいもの。
- 岡崎委員 担がんモデルでできないのかなと思います。
- 八尾委員 もちろん、おっしゃるとおりだと思います。ただ、担がんモデルマウスと GEMM の違いは、もともとの組織に出てくる場合と、言い方は悪いですが、当てずっぽうに発現させたという違いがありますので、そこで違いは出てくると思います。
- 岡崎委員 ただ、何かのがんである転座が見つかった、ではそれを検証しようと思ったときに、primary の細胞なり何なり、あるいは体の中に、エレクトロポレーションでもいいかもしれないのですが、臓器特異的に入れることは、不可能ではない範囲だと思うのです。
- 八尾委員 そうですね。
- 岡崎委員 なので GEMM が有用なケース、例えば APC では、APC の変異そのものでは不十分で、LOH が起こらないとできないので、そういう場面では有用だと思うのです。ただ、今後、上市されているようなプロテイン・カイネース・インヒビターの開発をする上で、GEMM が必須だというのがあまり行きすぎると足を引っ張る可能性があるのかな、という懸念を挙げさせていただきたいと。
- 八尾委員 なるほど、そこは非常に重要なポイントだと思います。ただ、実際に、もちろん新しい薬が出来てきたときに、それよりも効くという証明で、いわゆる製薬会社の方は何か使われているという点で。
- 岡崎委員 ただ、後発薬のより改良というところでは絶対に大事だというのはすごくよく理解できるのですが、何かブレークスルーするような、最初のきっかけのところから GEMM を作って、証明して、それで効くことをと言われると、ちょっとハードルが上がりすぎるのかなという気がしなくはないです。

- 佐治委員 遅れて来て申し訳ございません。途中から聞かせていただいていたのですが、今の先生のお話では、遺伝子改変マウスがかなり、ある意味で有力だというお話だと。もちろん、色々な使いやすさ、あるいはやりやすさは非常にヒトに近い状態だということも含めてだと思えますが。お薬の観点から考えますと、おそらく前の早川先生がお話されたのではないかと思うのですが、微小環境というのは、薬物の分布とか、あるいは治療効果を評価する上でも極めて大事です。お薬が届くか届かないかも含めての話ですが。そういう点はかなり大きなポイントかなと思います。それは先生が今なされている、遺伝子改変マウスといいますか、それについては微小環境を再現することがかなりできているのか、もちろん色々な場合、ケース・バイ・ケースであるのかもしれませんが、そのあたりはいかがでしょうか、ご教示いただければと思います。
- 八尾委員 おそらくご質問は、ヒトのがんと比べてマウスがどれくらい再現されているかというポイントだと思うのです。もちろん完全に再現しているとは思わないですが、ただ、今、私たちが手に持っている、いわゆる非臨床試験の中では、おそらく最もヒトの組織に近いと思います。それは、例えば PDX というのがありますが、ヒトのがんの組織をそのままマウスに植えて、当初は、あれが、例えば stroma 細胞などを含めていくというように言っていたのですが、実際にやってみると、結構早い時間にマウスの stroma に変わってしまうのです。そういう点から考えますと、GEMM はもともとマウスではありますが、ヒトのがんの微小環境に一番近いのではないかと考えております。
- 佐治委員 質問させていただいた理由は、我々は、例えば低酸素だと放射線を当てるときに、お薬の投与と組み合わせるといようなことをするのです。そのときにマウスでは、実質的には結構効いたりするのですが、ヒトにそのまま応用するというのはかなり難しい時があります。もちろん、これまでの経験から対応されることも多いようですが、遺伝子改変マウスというわけではないのですが、他のマウスではなかなかうまくいかないことも多いので、先生の場合にはそういうことが再現されているのであればかなり有効かなと思った次第です。また、どの遺伝子を変化させれば、マウスで微小環境がヒトに近い状況のものを作り出すことができるかというようなことも分かれば非常に有効になるのではないかと考えたのでお伺いいたしました。
- 八尾委員 ありがとうございます。今回、あまり取り上げていなくて申し訳ありませんでした。
- 清宮委員 がん研の清宮です。初回、所用のため欠席しまして申し訳ございません。

よろしくお願ひいたします。今の早川先生と八尾先生のお話を一通り勉強させていただいて、質問と申しますか、コメントがございます。

私は、非臨床レベルで薬効評価を考える際に2つの軸を考えています。1つは作用機序に基づくもので、ドライバーの明確性を「横軸」として捉えます。この軸の右端は、ドライバー遺伝子がはっきりしていて、そのドライバーに対する oncogene addiction の程度が非常に強いタイプのがん。一方、軸の左端は、お二人の先生からお話があったように、ドライバーが不明瞭な、あるいは相互排他性の弱いドライバーが複数存在するようなタイプのがん。この2つの方向に分けて議論・対応する必要があると思います。

もう1つ、「縦軸」と表現させていただきますと、患者さんにその薬を適応する際、それはファーストラインなのか、あるいはセカンド、サード、フォースと、化学療法や放射線を何ラインも実施してきて、genetic な変異が蓄積してきているような状況があると思います。このような縦の座標を、作用機序に関する横の座標と組み合わせて考えると良いのではないかと思います。

例を挙げますと、先ほどの EML4-ALK は強烈なドライバー性がありますので、例えばクリゾチニブに耐性化した症例でも、第2世代のセリチニブの効果が期待できます。あるいはメラノーマで、ダカルバジンなどの前治療歴があって、ゲノム変異がさらに蓄積していると想定されるような状況でも、BRAF のドライバー性が強いので、その阻害剤であるベムラフェニブなどがよく効くということがあります。ドライバー遺伝子が強力な oncogene addiction を引き起こす場合、GEMM は有効でしょうし、当該遺伝子を単純に過剰発現した細胞系も明瞭な評価系として機能すると思います。

一方、ドライバーもしくは標的となる分子が不明瞭ながんを攻略する概念の一つとして、synthetic lethality が挙げられます。Sanger 研究所と MGH のタイアップによる大規模な細胞株パネル解析で分かってきたのが、ユーイング肉腫と PARP 阻害剤の synthetic lethality です。これは、培養細胞株のレベルで hypothesis-free などから見出されたものです。がん研の中村卓郎先生らのグループが、ユーイング肉腫の発生源母地を明らかにしてそのモデル動物をきっちり作った。そして、これに対して PARP 阻害剤がきれいに効くということが確認されたのですが、実際、米国で臨床試験をやりますと、あまり効かなくて中断というのが現状です。これは、ある薬が、先ほど言いました縦のラインのどの段階で適用になるのかを考えたときに、そこにエントリーされた患者さんは再

発転移の患者さんで、治療歴がかなりあります。そうすると、かなり変異が入って、がんの性質が変化している可能性が考えられます。Synthetic lethality を利用する薬では、標的がん細胞における因子間の synthetic lethal な関係がどれだけロバストに維持されるかが大事で、変異が入ると簡単に解消してしまうようなものは、やはりサードやフォースというようなラインでは使いにくいということがあると思います。

そのようながん腫、あるいは後期ラインで使用される薬を評価するうえでは特に、PDX などが有効ではないかと思えます。ただ、PDX にもパドックスとかジレンマがありまして、患者さんから切除可能ということは、ある程度早期な症例が中心になると思います。一方で、本当に今求められているのは、治癒切除不能ながんに対する薬かと思えます。しかし、そのような患者さんの腫瘍はそもそも切除が困難というわけで、そこにどう対応するかは、ドライバー性が低く、特に後期ラインからの出発となる新薬における 1 つの課題ではないかと思えます。

○入村部会長

ありがとうございました。色々なコメントを頂きました。とても大事だと思えたのは、先生の今のコメントは、非臨床モデルが臨床治験をやっていく上でのお薬の使い方を決めていくための非常に重要なインフォメーションをもたらすと、そういうご指摘かと思うのです。これは今日のお話にはなかったのですが、たぶん非臨床試験の重要性としてもう 1 つ挙げられると思います。

あと、今の先生のご指摘は、基本的には、がん細胞を直接ターゲットにするお薬に関して、それだけの座標軸が出てくるということで、今日の最初の早川先生のお話にもあった微小環境なり、追って色々お話を頂くことになる免疫系などを対象にしたものになると、また別の座標軸が出てくるということで、全体像は、なかなか複雑多岐にわたっているような印象を受けました。

もう 1 点、本日は話題にならなかったのですが、今の清宮先生のご指摘に多少関係している、抗がん剤は耐性が生じるというところに大きな問題があって、これに関して非臨床試験がどれだけ何か役立つかというようなことも重要であると思うのです。これに関しては何かコメントや追加はございますか。今後、さらに議論ということになるかと思えますが。

今後この専門部会としては、まとめをしてというときに、どういう perspective で議論を進めてまとめていくかということに関して、いくつかの考え方があるということで、今回は非臨床試験のモデルに関して全体像を見ていこうと、そういうこととお話を頂いたということになります。がん細胞を直接ターゲットにするものとそうでないものが、明らか

に存在します。そういうカテゴリーごとに少し考えるというのも、もう 1 つの考え方ではないか、ということも以前からお話していたわけです。そういうことに関して、今後の議論の進め方について何か意見がありましたら、是非お願いしたいと思います。特に臨床の先生方からも何かコメントが頂けると、大変うれしく思います。

○大津委員

結局、Phase II から Phase III に中々行きにくいと言ったらまさにそうですが、臨床の結果というところの方が、今後を決めるにはもちろん大きい話になってしまいます。ただ、そのこの予測をどう持っていくかという話だと思うのですが、今の流行りとしては、何となく PDX というのは相関性がかなり強いような話も出てはいますが、今、八尾先生がおっしゃったような問題でもありますので、どこまでというのは我々としてもまだ分からないと。もちろんそのこの予測ができればいい話だとは思いますが。また、こういう中で組み立てる上で、当局側としてどの辺まで非臨床のデータを求めるのかというのは、たぶん臨床試験をやる側としては興味を持つところかなとは思っています。

あと、個人的には、特に免疫系の薬が、今すごい勢いで増えているので、免疫系の薬剤の非臨床試験はどこまで意味があるのかというのはちょっと、普通の抗がん剤と違って、それはそれでまたかなり難しい問題ではないかと思うのですが。その辺は西川先生の方が。

○入村部会長

ありがとうございます。では西川先生、コメントをお願いします。

○西川委員

遅れて来てすみませんでした。先ほど大津先生からご指摘いただきましたように、今日のお話を聞いていない段階でお話するのも恐縮ですが、確かにいろいろなモデル系があります。マウスモデルは、免疫研究をやるときには必ず腫瘍が特定のがん抗原を出して、それをトレースできるようにするということが多いと思います。しかし、ある免疫原性の強い分子をわざわざトレースするためにがん細胞に導入しているということは、翻って見れば、非常に免疫原性の強いがん細胞モデルを使っているということなのです。そのため、なかなか免疫編集がおこっているヒトのがんと一致しないところを出してしまっています。自分たちが免疫応答をトレースしたいがために意図的にがん細胞に導入したものが、ある意味ではヒトのがんに対する免疫応答を反映させること、つまり本来の臨床ということからは離れてしまうという、少し自己矛盾的なところが生じてしまっているところはあると思います。

ただ、当然、我々も含めて、早川先生もそうだと思うのですが、発がんモデルを使って研究しようというところに移行しようとしています。化学発がん剤による発がんモデルでは一定の mutation を入れてしまうとい

うこととなりますが、その mutation により免疫原性が出てきてしまうということも考えられます。今、各種のがんで mutation が明らかになってきています。例えばメラノーマは多くて血液系は少ないというようなことが分かってきていますが、先ほど大津先生がおっしゃった、免疫系の薬の効果が mutation 数を反映するかどうかとか、そういったことも今、徐々に分かりつつあるところですので、なかなかマウスモデルだけではすべてを明らかにするのは難しいのかなと思います。少なくとも POC は取れるけれども、そこまで終わってしまうのではないかと思います。こういう系で、抗腫瘍活性は見られるけれども、本当にこれがヒトで使えるのかどうかは、ある程度ヒトでテストするしかないのかなとは考えています。

○入村部会長      ありがとうございます。そうしましたら、今後またこの議論を進めていく上で、PMDA 側の視点ということで、もし差し支えなければ矢守副本部長にコメントいただければと思うのですが。

○矢守副本部長    PMDA 側の希望ということによろしいですか。

○入村部会長      はい。それで、先ほど大津先生からご指摘があった、非臨床試験はどこまで求められるのか伺いたいという、非常に直接的なリクエストがあったわけなので、それに関しても、ちょっと含めてコメントいただければと思うのです。

○矢守副本部長    今おっしゃったところについては、まさに、ここでディスカッションしていただきたいところです。PMDA 側の審査は品目ごとにやりますので、詰まるところ、ケース・バイ・ケースという形で評価をするということになるのですが、いつまでも、全部違うということ個別に扱うという考えではなかなか進歩しないので、体系化できるところは体系化をある程度していくべきではないかと思っています。

今回の専門部会を通じて、最終的には、各モデル別に、薬効評価における可能性と限界について、科学的に整理していただくと大変有り難いと思います。非臨床のスタディが非常に重要となる局面というのは、やはり大津先生の言われた、非臨床から、これから臨床に入るときだと思います。どれだけのエビデンスがあれば臨床試験にいいのかは、品目ごとにいちがいには決められないと思います。また、そのときに、どういったプロトコルを立てればいいのかということについて、非臨床試験がどれくらいサジェスションを与えられるかも重要です。このところはケース・バイ・ケースになるのですが、これまでの事例などを見ながら、一般化といかないまでも、ある程度カテゴライズできるようなことになればいいのではないかと思っています。

もう 1 つ、非臨床試験のどこにインパクトがあるかということです。PMDA では必ず、初めて治験に入るときに、初回治験届というのが来て、30 日以内に治験に入っているかどうかを調査して、駄目な場合はストップをかけます。そのストップをかけるというところで重要なのが、非臨床試験で分かった有効性と、特に安全性です。有効性に関しては、モデルとしてどういったものが使われて、どういうエビデンスがあって臨床に入るのかということが見られます。

この専門部会の議論からは少し外れるかもしれませんが、八尾先生がご指摘になった安全性というところは、30 日調査で最も重要なところなので、こういう安全性試験をやっているならばアクセプタブルということについても、時間があれば議論していただければと思います。

○入村部会長      ありがとうございます。そういうわけで、この専門部会に向けられた期待と大きな責任が、今、矢守副本部長からご指摘があったということかと思っています。そろそろ時間になってきたのですが、もし何かご発言がありましたら。

○大津委員      清宮先生がご指摘になった点で、もちろんその first line から治療ができればいいのですが、現実には倫理的な問題がありますので、標準治療が全部効かなくなったという状況での Phase I で始めざるを得ないというのが実際で、先生もご指摘になったとおり、我々もやりながら、たぶん遺伝子変化などが蓄積されている状況なのだろうという状況でやらざるを得ないというときに、今の PDX とか、この辺の新しい組織培養等で、先生方の展望、あるいは八尾先生などの展望としまして、その辺の、PDX を受理するのなかなか大変だという状況だと思うのですが、展望として、そこはかなり進んでくるのでしょうか。

○清宮委員      そうですね。

○大津委員      そこできると、非常にやりやすくなると思うのですが。

○清宮委員      もう 1 つのヒントになり得るのは、薬物療法を実施したときに、liquid biopsy で circulating tumor DNA の解析から遺伝子変異を追える時代になってきている、ということだと思います。それこそ大津先生の施設がご専門だと思いますが、こういう薬を打つと、こういう oncogenic な遺伝子の変異が入る、ということが次世代シーケンサーでかなり系統的に実施されておりますので、そういった情報を活用することも考えられます。

○大津委員      そうすると、結局、今日も議論になった組織の微小環境というようなところが無視されてしまうことになってしまいますので、その辺のジレンマというのが。

- 清宮委員           そうですね。
- 大津委員           我々のところも liquid biopsy の話は、それはそれで進めてはいるのですが、やはり組織環境というのは大事だなというのは分かっているので、その辺のジレンマをどう取っていくかというのは。
- 清宮委員           組織に関しては、ご遺族ならびにご本人の貴重なご理解をいただける場合には剖検組織をいただき、ゲノム変異を解析することも科学的に重要ではないかと思います。PDX は大津先生のエポックの方でかなり展開されるのではないかと思います。
- 大津委員           なかなかそう簡単には生着率はいかないですよ。結局、それこそ生検レベルでそういうものができる、臨床の場面もものすごく変わるとは思うのですが、そこまでいくのかどうか、まだまだハードルが高そうだなというのは感じております。
- 清宮委員           そうでしたか、今後の進展に期待しております。
- 入村部会長          そろそろ時間ですが、次回、西川先生にがん免疫療法のモデルに関してご紹介いただいて、そのときに、できたら、多分、先生はあちこちでお話されているときに紹介されたと思うのですが、抗 CD28 抗体事件というのがあって、あれは安全性が確認されないまま臨床に行ってしまった事件になってしまった事例かと思うのですが、そういうことに関しても少しご紹介いただけたらと思います。どうしたらそういうことが防げるのか、非臨床で何をやっておけば良かったのか、といったことをご紹介いただければと思います。
- それから、次回、ほかに何かご紹介いただくことは予定されていなかったのですが、何かもし、今後の議論のために是非ご紹介したいという話題をお持ちの先生がおられたらお願いしたいと思います。特に、治験の安全性という問題は重要かと思うのですが、これはどうしたら良いかと思います。戸井先生は血管新生阻害関係でずっと臨床治験もやってこられていて、当初、予想していなかった毒性が、使われた後に出てきて、臨床の現場で問題になったということを伺っているのですが、そういうことで何か話題がありますでしょうか。突然振ってしまった格好になってしまうのですが。
- 戸井委員           必ずしも十分想定されていなかった毒性が臨床で問題になって、そのことが薬剤開発全体に大きな影響を与えるケースというのは、あることは間違いありませんし、必ずしも少ないとも言えないと思うのです。それは、後で見たら、ある程度は想定できたかもしれないということもあるのですが、そこが臨床をやる際に、やや underestimate しているというもの、本当に estimation が難しかったというようなところがあると思

うので、漠然としたところでは、そのようなことに関して何かということであればします。

○入村部会長 そうしたら、臨床側から、今後の非臨床試験に関して望むことはこのようなことがある、というような簡単なご紹介はいかがでしょう。

○戸井委員 承知いたしました。

#### <議題2：その他>

○入村部会長 ありがとうございます。それで、この専門部会もしばらく間が空いてしまったのですが、なるべくなら今年度中、今年度中というと3月になるのですが、そのあたりまでに何か作っていただけたいと思っております。こういう議論のまとめというようなものができたら、何らかの形でパブリケーションに持っていったら大変インパクトがあるのではないかとということも、親委員会の方で話題になっています。今回、議論している内容はパブリケーションとしてまとまったものはありませんので。先ほど早川先生のご紹介の中に候補となる実例がいくつか出てきたかと思うのですが、そういうこともできたらうれしいというようなことも考えつつ、なるべく早い時期、来月の末ぐらいか2月の前半ぐらいに次回の専門部会をできたらと思うのです。戸井先生と西川先生のご都合次第ということになるのですが、もしできたら、この後、ご相談させていただくということで。それを踏まえて、皆さんにご都合伺いということはいかがでしょう。そういうことでよろしいでしょうか。

では、以上が議題になるのですが、事務局からほかに何か連絡事項などはございますか。

○吉田事務局長 特にはございません。日程については、後ほどの打合せを踏まえまして、また皆様にご連絡を差し上げたいと思います。

#### <閉会>

○入村部会長 それでは、本日の専門部会はここまでとさせていただきます。皆様、どうもありがとうございました。それでは、良いお年をお迎えください。