

平成 28 年 12 月 9 日

各 位

会 社 名	株式会社グリーンペプタイト
代表者名	代表取締役社長 永井 健一 (コード番号:4594 東証マザーズ)
問合せ先	取締役管理部長 酒井 輝彦 (TEL. 03-5840-7697)

ネオアンチゲン(遺伝子変異抗原)ペプチドワクチンの開発開始のお知らせ

当社は、地方独立行政法人 神奈川県立病院機構が有する特許「上皮成長因子受容体 (EGFR) *¹ の T790M 点突然変異*²に由来する抗原ペプチド」の譲渡を受け、非小細胞肺癌*³を適応症とするネオアンチゲン*⁴(Neoantigen; 遺伝子変異抗原)ペプチドワクチンの開発を開始することをお知らせ致します。

肺がんは、診断時には既に進行または転移が認められることの多い予後の悪いがんで、米国では約 22 万人^[1]、日本では約 13 万人^[2]が罹患すると報告されています。8 割以上が非小細胞肺癌と診断されますが、その約 1 割 (日本人の場合は 3 割) に当たる EGFR 活性化変異 (一次変異) が生じている患者さんにとって、EGFR チロシキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) が既存の有効な治療薬となっています。しかし、多くの患者さんは治療開始後 1 ~ 1 年半ほどで EGFR-TKI に対する耐性が生じ、病勢が進行します。EGFR-TKI に耐性が生じた患者さんの約 6 割において、EGFR-T790M 点突然変異 (二次変異) という遺伝子変異が生じていることが、これまでの研究から明らかになっています。当社は、この EGFR-TKI 耐性遺伝子変異を抗原 (ネオアンチゲン) とするペプチドワクチンを開発します。

ネオアンチゲンは、細胞ががん化する時におこる遺伝子変異を含む抗原を言い、その意味で、がん細胞でしか発現しない、言わばがん細胞と正常細胞の線引きをより明確にする抗原です。免疫系から「非自己」として認識されるため免疫原性が高く、抗原特異的 T 細胞を効率よく誘導することが期待されることから、ネオアンチゲンを抗原とするがんワクチンの開発は、次世代のがん免疫療法の大きなテーマの一つとなっています。特に、T790M 点突然変異は、EGFR-TKI から攻撃を受けたがん細胞が生き残りをかけて攻撃耐性を身に付けるために引き起こした、がんの悪性化に直接関わるドライバー変異と考えられ、これを標的とした場合は、薬剤 (EGFR-TKI) を投与する限りがん細胞での抗原発現が持続し抗原喪失による免疫監視機構からの逃避も起こりにくいと期待されます。また、がん悪性化で自然発生する変異に比べて約 6 割という発生頻度は圧倒的に高く、薬剤投与に誘引される遺伝子変異ならではのと考えられます。この薬剤耐性を誘引する遺伝子変異をがん免疫療法の標的にするのは、世界的に新規性の高いアプローチです。

この度神奈川県立病院機構より導入するペプチドは、後述する EGFR-T790M 点突然変異を含み、がん免疫を誘導するペプチドとして本特許の発明者である神奈川県立病院機構 神奈川県立がんセン

ターの笹田哲朗がん免疫療法研究開発学部長らにより同定されたネオアンチゲンです^{*5}。肺がん患者の末梢血中のリンパ球が本ネオアンチゲン特異的な免疫反応を示すことが確認されています。

直近で EGFR-T790M 変異に対応するチロシンキナーゼ阻害薬が上市されており、その分子標的の臨床有効性からブロックバスター化が予想され後続品も開発されていることから、EGFR-T790M 変異に対応する薬剤は、世界の肺がん治療の大きな一画を占めていくことが想定されます。当社は、これらの低分子化合物とは作用メカニズムの異なるがんワクチンとして、差別化された製品開発を行います。2017 年中の臨床試験入りを目指します。

当社は、神奈川県立がんセンターとの間で、ネオアンチゲンの探索に関する共同研究を平成 28 年 7 月より実施しており、がん微小環境^{*6}における抗原提示のメカニズムに着目しながら、ドライバー変異（運転手変異：がんの悪性化に直接関わる変異）抗原のみならず、免疫原性の高さと数の多さが期待されるパッセンジャー変異（乗客変異：すでに起こっていたか、後に起こったが、がん化には関係していない変異）抗原の同定法についても研究を進めております。

なお、本件による当社の平成 29 年 3 月期の業績に与える影響は軽微であります。

以 上

【語句説明】

- ※1 「上皮成長因子受容体」：(EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor) 細胞の増殖や成長を制御する上皮成長因子 (Epidermal Growth Factor) と結合し、シグナル伝達を行う受容体 (Receptor)。この受容体が活性化されると細胞の分化・増殖が起こる。また EGFR は多くの細胞に見られ、変異が起こることのでがん化や浸潤・転移に関わるようになる。
- ※2 「T790M 点突然変異」：EGFR の 790 番目のアミノ酸がスレオニンからメチオニンへの変異することを指す。この変異はタルセバやイレッサ等、既存のチロシンキナーゼ阻害剤に対する薬剤耐性を示すとされている。
- ※3 「非小細胞肺がん」：(NSCLC : Non-small cell lung cancer) 肺がんは、大きく「小細胞肺がん」と「非小細胞肺がん」の 2 種類に分けられる。「非小細胞肺がん」は「小細胞肺がん」に比べ比較的進行が穏やかである一方、化学療法と放射線療法の効果が現れにくいという特徴を有する。日本人においては、肺がん患者の 8 割以上がこの「非小細胞肺がん」に分類される。「非小細胞肺がん」は更に「腺がん」、「扁平上皮がん」、「大細胞がん」などに分類される。
- ※4 「ネオアンチゲン」：(Neoantigen) がん細胞に独自の遺伝子異常が起きた際に生じる、遺伝子変異 (アミノ酸変異) を含む抗原のこと。個々の患者のがん細胞に生じた独自の遺伝子変異によって発現されるようになったがん特異的な抗原で、正常な細胞には存在し

ない。免疫系から「非自己」として認識されるネオアンチゲンを標的とすることで、がん細胞を殺傷する免疫を効率よく誘導できるようになることが期待されている。がんワクチンの抗原として使われるのみならず、免疫チェックポイント抗体が有効な患者を選別するためのバイオマーカーとしての使用、またこちらも近年台頭してきている T 細胞療法（CAR-T：キメラ抗原遺伝子導入 T 細胞療法、TCR-T：養子 T 細胞受容体遺伝子組換え T 細胞療法、そして T-iPS：iPS 化再生 T 細胞）の精度の高い標的として使用されることも期待されている。

なお、ネオアンチゲンには、腫瘍特異的な遺伝子変異抗原ばかりでなく、リン酸化、糖鎖修飾、メチル化などの翻訳後修飾による抗原も含まれる

- ※5 EGFR T790M mutation as a possible target for immunotherapy; identification of HLA-A*0201-restricted T cell epitopes derived from the EGFR T790M mutation, Yamada et al. PLoS One. 2013 Nov 5;8(11):e78389.

A peptide antigen derived from EGFR T790M is immunogenic in non-small cell lung cancer, Ofuji et al. Int J Oncol. 2015 Feb; 46(2): 497-504.

- ※6 「がん微小環境」：がん細胞の集まった組織中に見られる特徴的な状態。がん細胞自身が分泌する様々な因子によって、マクロファージや未熟な骨髄細胞などが集められ、こうした免疫細胞ががん細胞の浸潤、悪性化、転移の誘導に関与していると言われている。

【1】American Cancer Society HP

<http://www.cancer.org/cancer/lungcancer-non-smallcell/detailedguide/non-small-cell-lung-cancer-key-statistics>

【2】国立研究開発法人国立がん研究センターHP

http://www.ncc.go.jp/jp/information/press_release_20150428.html

【株式会社グリーンペプチドについて】

手術、放射線療法、化学療法に次ぐ、がんの「第4の治療法」としてがん治療の革新をもたらしつつある「がん免疫療法」の開発を行う創薬ベンチャーです。国内と米国で臨床試験を実施中のがんペプチドワクチンをもつほか、直近において抗原特異的 T 細胞を iPS 化し再生させる新規の T 細胞療法の開発に参入しています。

【神奈川県立病院機構について】

神奈川県立病院機構は、神奈川県内に5つの県立病院を運営しています。そのうちの1つである神奈川県立がんセンターの臨床研究所は開所以来30年の歴史を有し、当社が手掛けるがんペプチドワクチン療法をはじめとしたがん免疫療法に関する豊富な見識を有しています。

ネオアンチゲン・ペプチドワクチン

目次

1. ハイライト
2. ネオアンチゲンとは
3. シーズの特徴
4. ネオアンチゲンの可能性

ハイライト

ハイライト

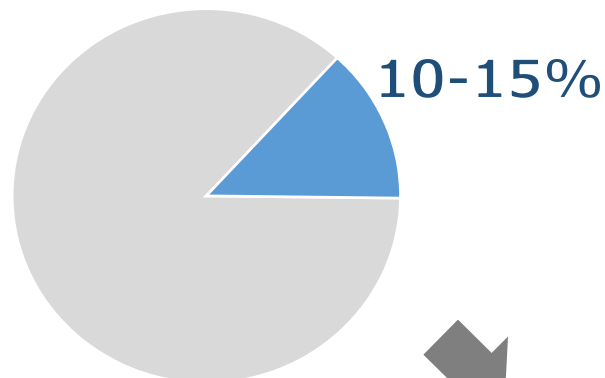
1

肺癌一次治療EGFR-TKIの治療抵抗性をもたらす薬剤耐性遺伝子変異(EGFR T790M点変異)に、がん免疫療法で対応

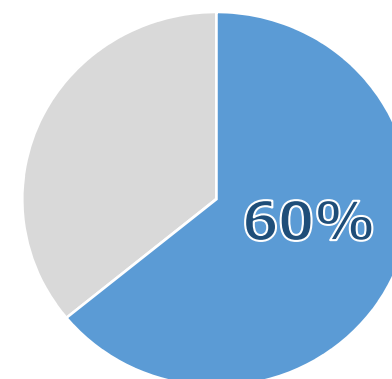
■ 年間新規診断数：50万人 → この約8割が非小細胞肺癌
(米国 21万人、EU 上位5ヶ国 20万人、日本10万人)¹



■ EGFR一次変異陽性率



■ EGFR-TKI治療抵抗性患者におけるT790M変異(EGFR二次変異)陽性率



EGFRチロシンキナーゼ阻害薬(EGFR-TKI)²が標準療法

1 出所：GLOBOCAN 2012

2 タルセバ (エルロチニブ、2015年売上高\$1.59bn)、イレッサ (ゲフィチニブ)、ジオトリフ (アファチニブ)が3局で承認

ハイライト(続)

2

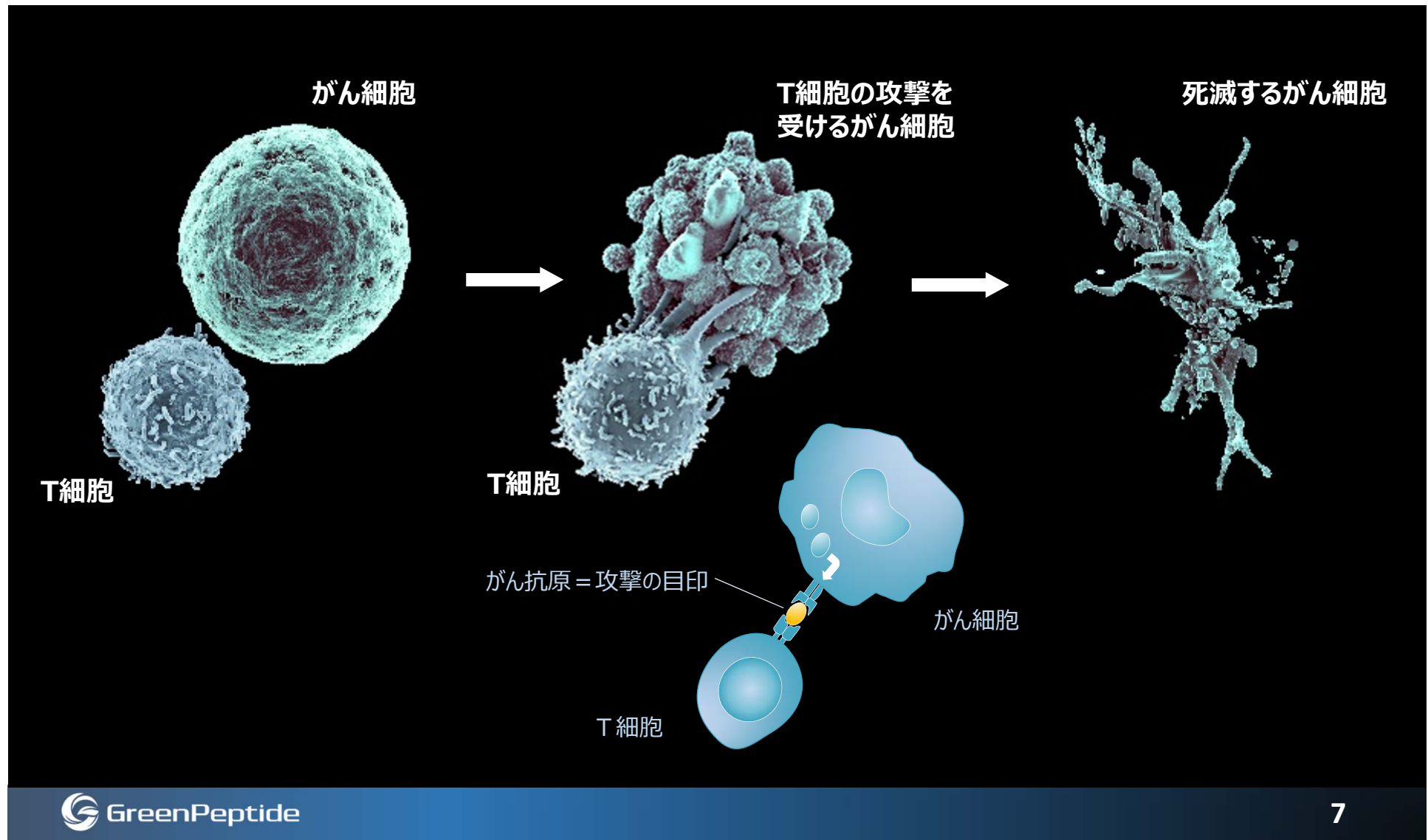
ネオアンチゲンT790M遺伝子突然変異は、がん免疫療法の良い標的

1. 免疫原性を確認した抗原エピトープ(ペプチド)
→ 米国で特許登録査定
2. がん細胞だけに発現
3. 免疫監視機構からの逃避(抗原喪失)が起こりにくい
→ EGFR-TKI(一次治療)による攻撃を逃れようとして発生する、がん悪性化に必須なドライバー変異
4. 発生頻度がかなり高い

ネオアンチゲンとは

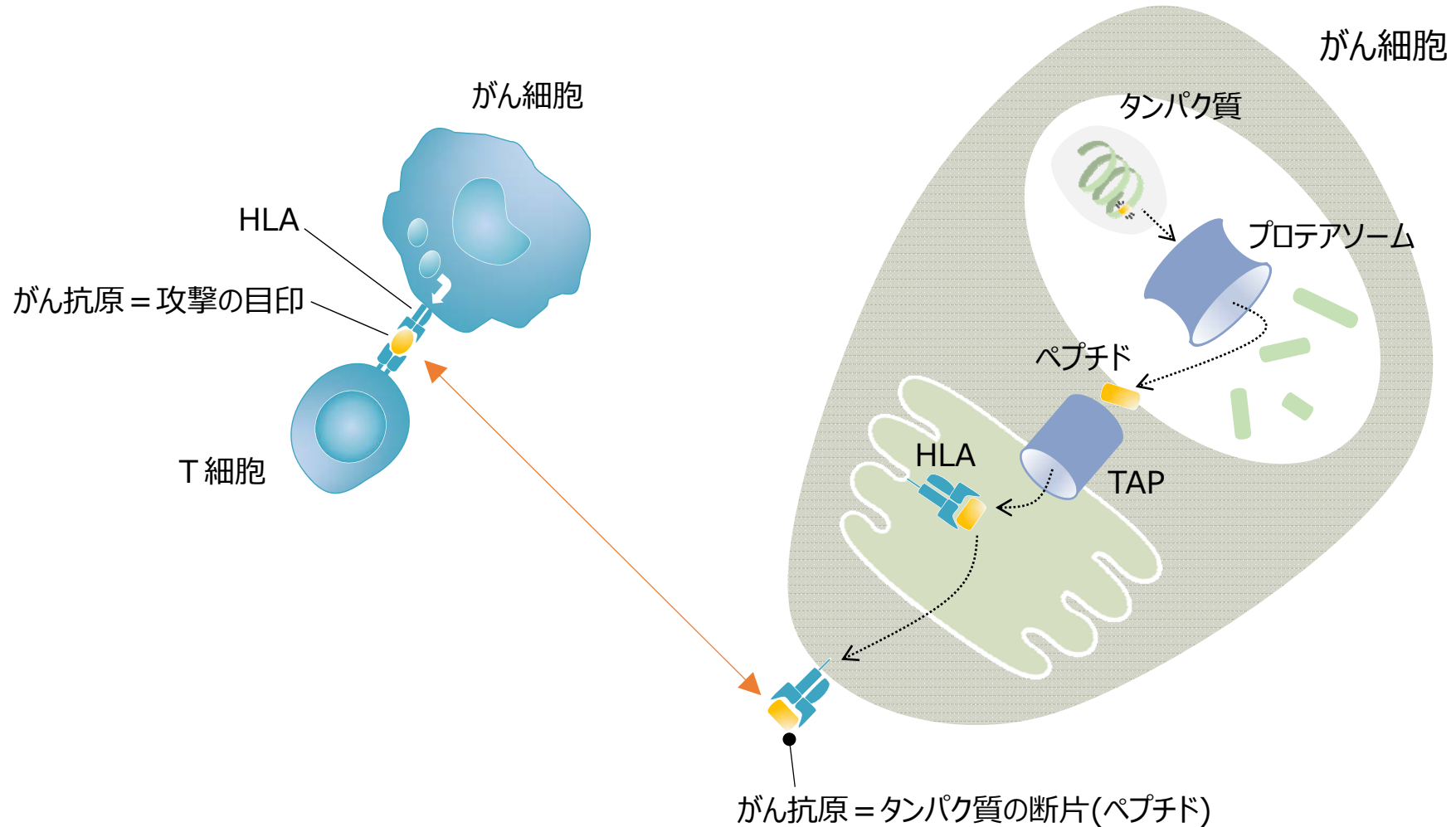
がん抗原(アンチゲン; Antigen)とは

がん細胞表面上に提示されている、T細胞にとってのがんの目印



がん抗原（アンチゲン）の正体

T細胞が攻撃の目印として認識する抗原は、がん細胞の中で作られ表出される
8-12個のアミノ酸配列(ペプチド)



がん免疫療法にとって理想的ながん抗原

攻撃の目印

1. がん患者の体内で免疫が応答する（免疫原性）
→ 免疫が「非自己」と認識して排除にかかる
2. がん細胞だけに発現している
→ 免疫が正常細胞を傷害しない
3. 免疫監視機構からの逃避（抗原喪失）が起こりにくい
→ 免疫が攻撃の目印を失わない
4. 発生頻度が高い*
→ 多くの患者で汎用性があり、開発しやすい

* 発生頻度が低い遺伝子異常（ネオアンチゲン：後述）も、近年、がんワクチン開発のターゲットとして大いに注目されている

ネオアンチゲンとは

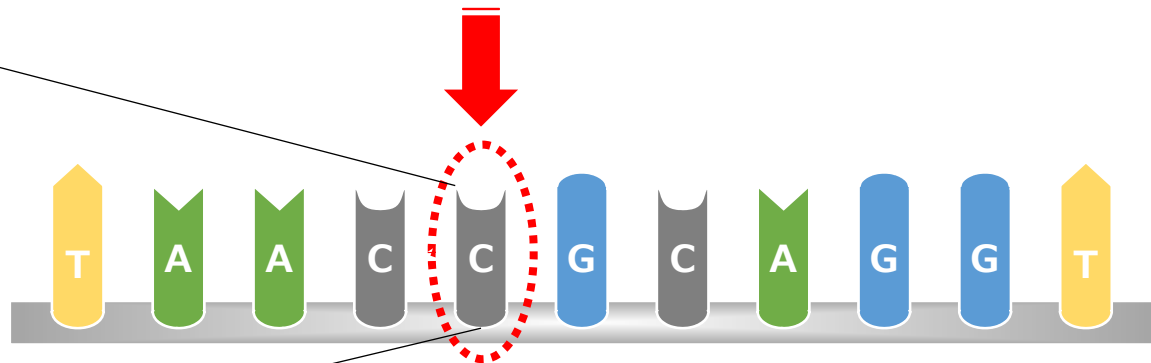
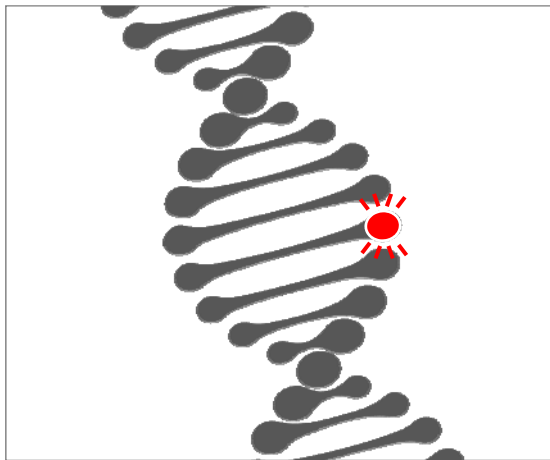
Neo antigen

がん細胞特異的に発生する遺伝子異常の産物

(正常細胞における)元の塩基配列



遺伝子点突然変異



(がん細胞における) アミノ酸の一部が他のアミノ酸に置換されたタンパク質をコードする塩基配列

ネオアンチゲンの「免疫原性」

がん細胞特異的に発現しているネオアンチゲンを、免疫監視機構が「非自己」として認識し、排除しようと攻撃を仕掛ける

■ 元の塩基配列



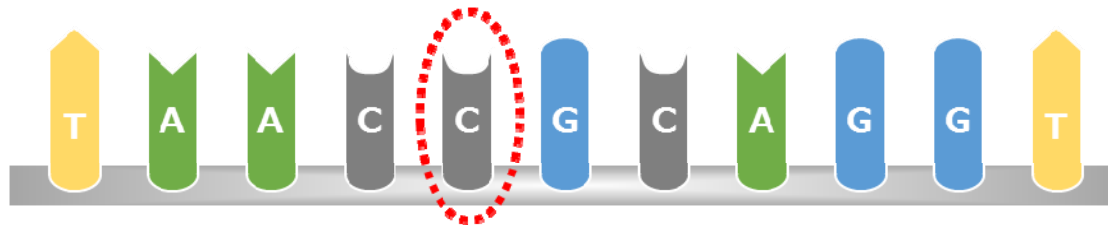
- 「免疫原性」が低い -

免疫は「自己」と認識

攻撃しない



■ ネオアンチゲン(遺伝子点変異を含む配列)



- 「免疫原性」が高い -

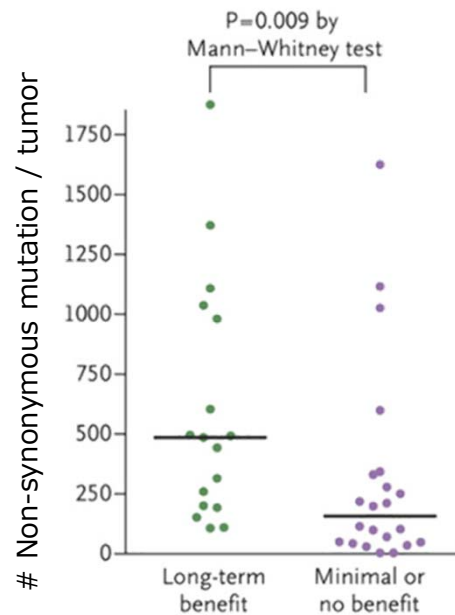
免疫は「非自己」と認識

異物を排除しようと
攻撃する

なぜネオアンチゲンが注目されているのか

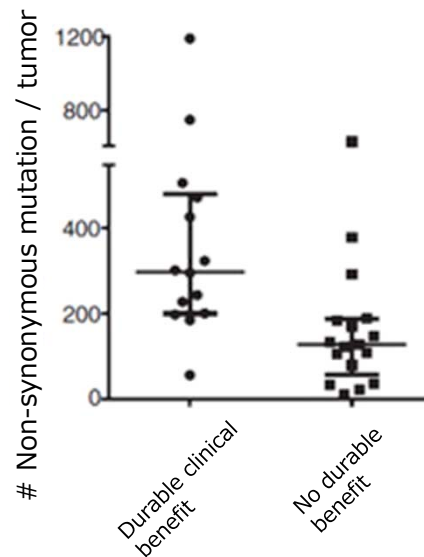
- 免疫チェックポイント抗体は、がん細胞に遺伝子変異(ネオアンチゲン)の多い患者の方がよく効く傾向にあり、ネオアンチゲンの免疫原性に期待が高まっている

イピリブマブ (抗CTLA-4)
メラノーマ



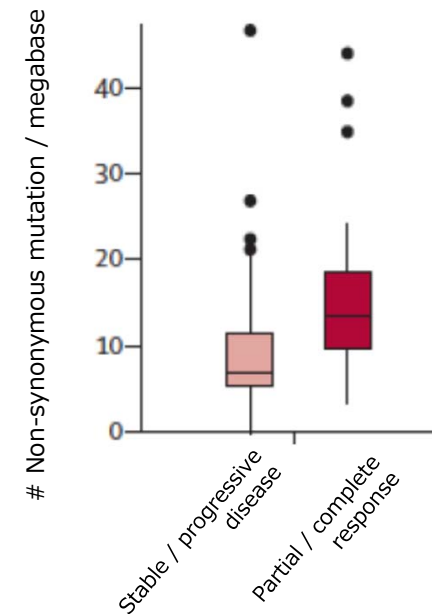
Snyder, NEJM, 2014

ペンブロリズマブ (抗PD-1)
非小細胞肺癌



Rizvi, Science, 2015

アテゾリズマブ (抗PD-L1)
尿路上皮がん



Rosenberg, lancet, 2016

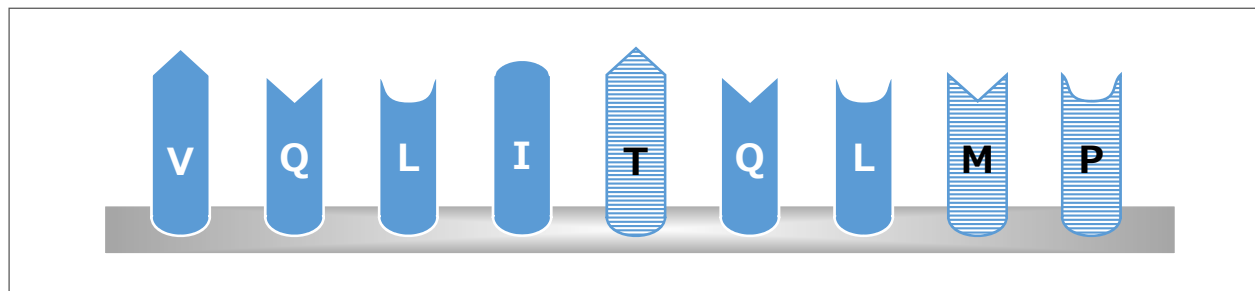
- ただし、遺伝子変異 = 免疫原性をもつとは限らず(100分の1以下)、かつ患者によって変異は様々で発現頻度は低い(1%以下がほとんど)

シーズの特徴

T790M点変異

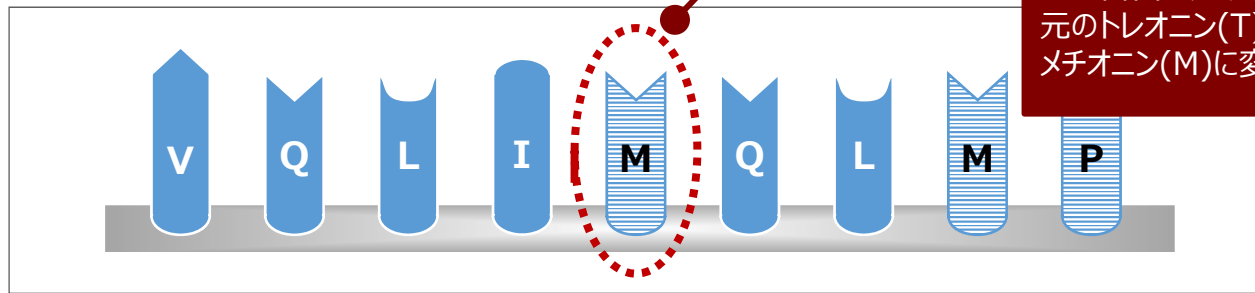
非小細胞肺癌細胞に発現しているEGFRペプチドのアミノ酸配列

**EGFR-TKI
(チロシンキナーゼ阻害剤)*
投与前**



EGFR-TKI 投与

投与後



EGFRタンパク質の
790番目のアミノ酸が
元のトレオニン(T)から
メチオニン(M)に変異

治療抵抗性患者の約6割に、耐性遺伝子変異が発現



免疫が反応すれば、免疫原性を有するネオアンチゲンに

*非小細胞肺癌の一次治療分子標的薬である、上皮細胞成長因子受容体(EGFR)チロシンキナーゼ阻害薬(EGFR-TKI) タルセバ (エルロチニブ、2015年売上高\$1.59bn)、イレッサ (ゲフィチニブ)、ジオトリフ (アファチニブ)が3局で承認されている

T790M点変異の特徴

1. がん患者の体内で免疫が応答する(免疫原性)

→ヒトのT細胞がT790M変異由来抗原に反応することを確認済み

- T790M変異由来ペプチドは、元の配列(野生型)ペプチドに比べて高い免疫原性を示した
- T790M変異由来ペプチドに特異的に反応するT細胞は、T790M変異を有するEGFR発現肺がん細胞株に対して細胞傷害活性を示した

シーズ発明者らによる論文

“EGFR T790M mutation as a possible target for immunotherapy; identification of HLA-A*0201-restricted T cell epitopes derived from the EGFR T790M mutation” *Yamada et al.* PLoS One. 2013 Nov 5;8(11):e78389.

“A peptide antigen derived from EGFR T790M is immunogenic in non-small cell lung cancer” *Ofuji et al.* Int J Oncol. 2015 Feb; 46(2): 497–504.

T790M点変異の特徴 (続)

2. がん細胞だけに発現している

→ EGFR-TKI (非小細胞肺癌一次治療の分子標的医薬)が投与されてから発生する二次遺伝子変異

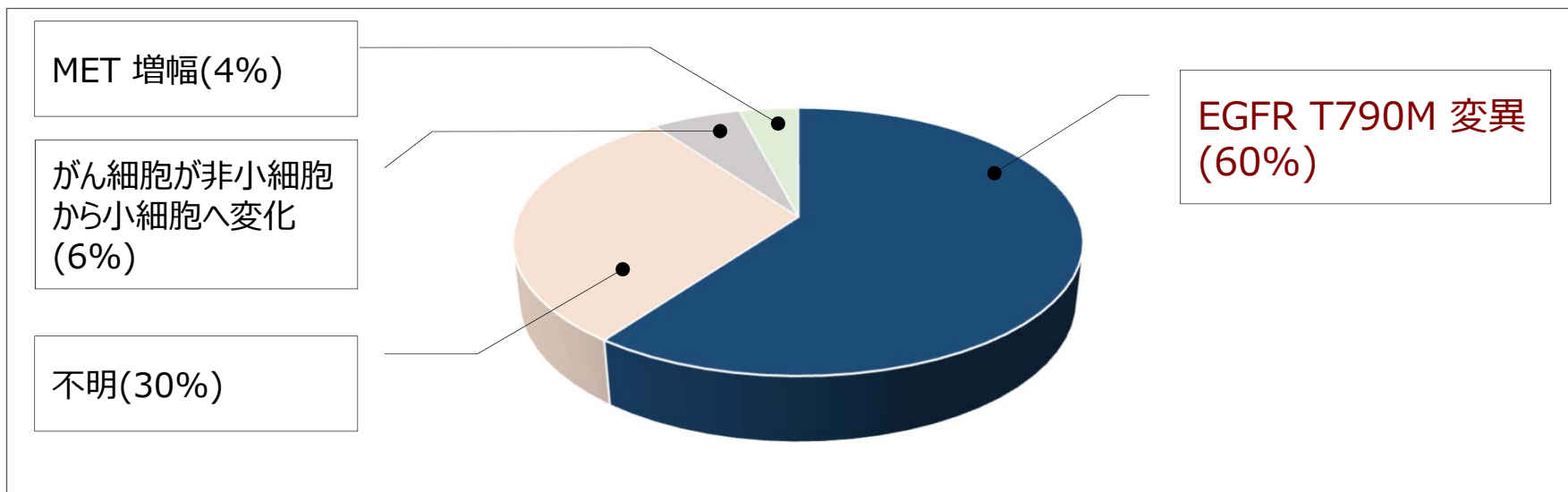
3. 免疫監視機構からの逃避(抗原喪失)が起こりにくい

→ EGFR-TKI による攻撃への耐性を獲得するため(がんの悪性化のため)に必須な遺伝子変異なので、EGFR-TKI治療を続ける限り、抗原の発現が持続する

T790M点変異の特徴 (続)

4. 発生頻度が高い

→ EGFR-TKI治療耐性となった患者の約6割で発生



(C) 2011 American Association for Cancer Research

EGFR T790M変異はがん免疫療法の良い標的となる

対象特許

- 発明の名称 : 表皮成長因子受容体のT790M点突然変異配列に由来する抗原ペプチド
- 特許番号 : PCT/JP2013/071499
- 出願日 : 2013.8.8.(優先日 : 2012.10.8.)
- 出願人 : 神奈川県立病院機構
- 発明者 : 笹田哲朗、中面哲也、大藤和也

■ 審査状況

移行国	移行日	出願番号	出願状況
European Patent Office	06.03.2015	2013827804	出願係属中
Japan	05.02.2015	2014529551	出願係属中
United States of America	09.02.2015	14420561	登録査定 (US 9505824)

開発対象ペプチドのHLA拘束性

■ 対人口陽性率

HLA型 %	米国	欧州5ヶ国	日本	中国
A2	48	48	30	50
A1	22	28	6	3
A24	15	20	60	22

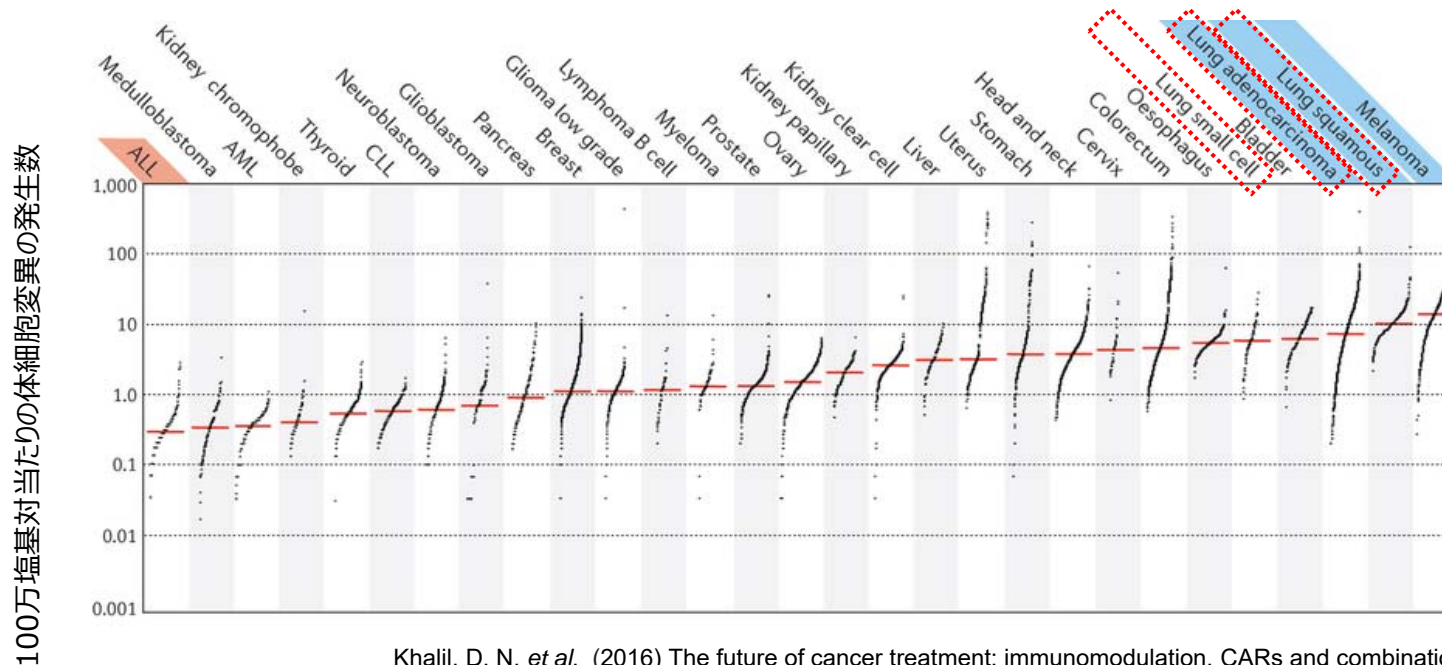
HLA-A2 拘束性 →

ネオアンチゲンの可能性

ネオアンチゲンの可能性

1. 免疫チェックポイント阻害剤の効果予測

→ これまで遺伝子変異が多いがん種で良い臨床成績が得られている



Khalil, D. N. *et al.* (2016) The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy
Nat. Rev. Clin. Oncol. doi:10.1038/nrclinonc.2016.25

2. 新しいがんワクチンのデザイン

3. T細胞療法の標的(TCR-T, T-iPSなど)