

個別化医療とがん早期臨床試験: 米国立がんセンターの経験

武部直子

米国立がんセンター

Division of Cancer Treatment and Diagnosis
Cancer Therapy Evaluation Program (CTEP)

平成24年11月16日(金) 東京ステーションカンファレンス会議室

Outline

- Cancer Genomics (がんゲノム研究)の臨床応用:
 - Genome Screeningと個別化医療(molecular profiling directed therapy or enrichment strategy)
 - Actionable driver mutationに対して適切な分子標的薬の評価
 - NCI・DCTD Molecular characterization laboratory
 - 遺伝子スクリーニングによるmolecular profiling directed therapyを行うにあたりFDA基準を満たし、ValidationされたDNAシーケンシングを行う
- NCIのmolecular profiling directed therapy
 - 早期臨床試験:M-PACT Trial NCI DCTD試験
 - 臨床試験を行うためのCLIAに準じるアッセイの開発と試験デザイン
 - Predictive Cancer Medicine イニシアティブ:
- まとめ

Cancer Genomicsの臨床応用

Molecular Profiling Directed Therapyと 治療有効性予測マーカー

- 治療の有効性が予想されるようなマーカーをつかい、患者を選別して治療: がん治療領域において画期的
- 患者を選別するために使えるマーカー、Integral Marker: 米国ではFDAの基準にそったValidationのおこなわれたマーカーをさす
- そのようなマーカーはまだ一握りのものしか、開発認可されていない
- 選ばれたマーカーがクリニカルプラクティスにインパクトをあたえているのは、疑いのない事実
- 現在臨床で使われているマーカーは8つ、一部のマーカーは一般的につかわれていない、またはヨーロッパのみつかわれている、FDAラベルがあるもの、ないものがある
- 実際マーカー開発の論文数は何千を超えるが、臨床で使用可能なものはごくわずか
- 薬の開発費用を抑え、承認獲得までの時間短縮が可能:
 - 最近の例としてFDAに認可されたVismodegibというHh阻害剤のBasal Cell Carcinoma (BCC) の薬などは、ほとんどのBCCがPatch Mutationがあり、遺伝子解析をおこなわずとも、RRが40%以上を超え、開発開始からわずか6-7年以内に承認へ

さらに新しいマーカーを開発する必要

がん治療への効果と安全性が確認されている患者スクリーニングのGenomic marker

A.N. Freedman, Clinical and Translational Epidemiology Branch Division of Cancer Control and Population Sciences NCI

Markers	Drugs	Cancer Outcomes
<i>In Clinical Use</i>		
ER	Tamoxifen	Breast Cancer – recurrence/survival
HER-2/neu	Trastuzumab	Breast Cancer- recurrence/survival
Oncotype Dx	Treatment regimen	Breast Cancer- recurrence/survival
Mammoprint	Treatment Regimen	Breast Cancer- recurrence/survival
K-ras	Cetuximab, Panitumumab	Colorectal Cancer – recurrence/survival
ALK mutation	Crizotinib	Lung cancer Recurrence/survival
EGFR Mutation	Erlotinib, Gefitinib	Lung Cancer- Recurrence/survival
BRAF V600E	Vemurafenib	Melanoma Recurrence/survival
TPMT*	6-MP, 6-TG	ALL, AML-Toxicity
BCR-ABL	Imatinib, Dasatinib, Nilotinib	CML-Response
C-Kit	Imatinib	GIST-Response

Next Generation DNA Sequencing (NGS)のAvailability

**新しい遺伝子異常の発見を促進しているのが
Next Gen Sequencing (Deep Sequencing)**

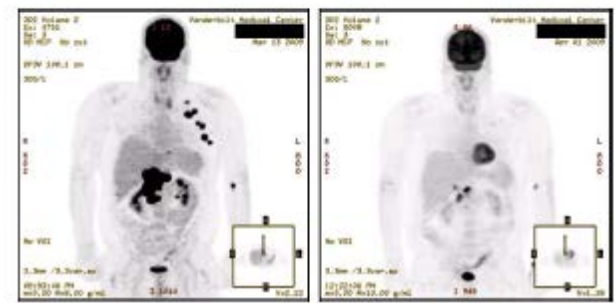
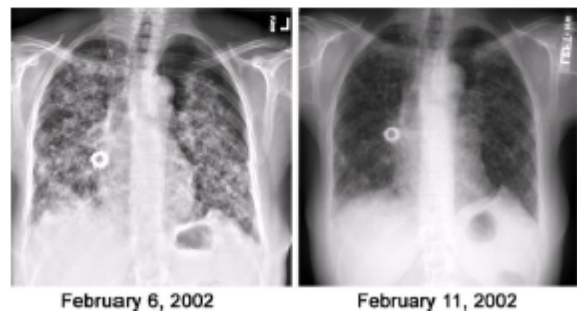
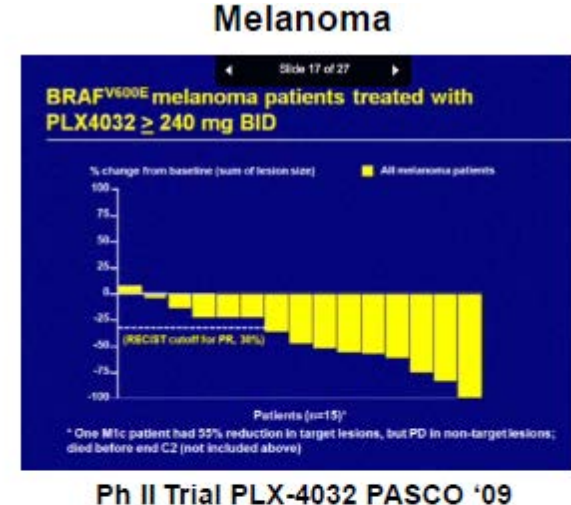
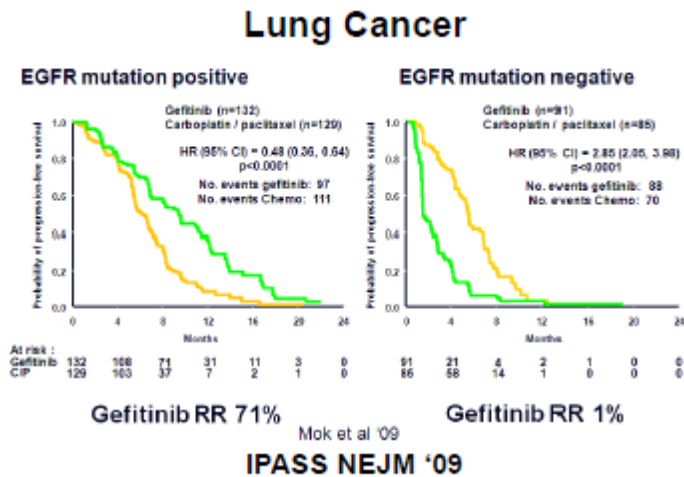
NGSにより遺伝子の変異を発見する能力が上がった:

- High Throughput
 - 一度に多量の遺伝子をテストすることができる
- Systematicであるため遺伝子変異のDetectionにバイアスがない
 - いかなる遺伝子変異も発見される
 - Single Nucleotide Variants (SNV), コピーナンバー異常 (CAN), Insertion, Deletion (InDel), Translocations、
- 遺伝子変異の頻度はデジタル化されて表示される
 - 様々異なるサンプルからMutationを量化し容易に発見することができる
- 年々安価になってきた (JCO 2010)
- 正確である

NGSを臨床試験に取り入れる意義

遺伝子解析による患者のEnrichmentがもたらす治療効果

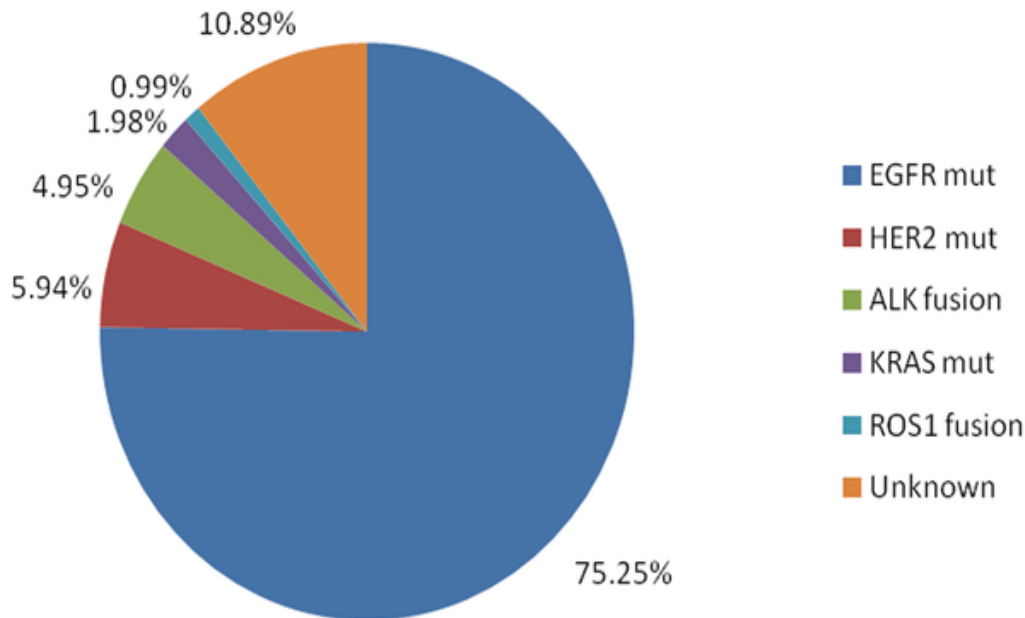
- **Oncogene addiction**をもたらす**Driver Mutation**の有無が**抗腫瘍効果**にインパクト
 - 例1) **Lung Cancer** IPASS Trial (Mok NEJM2009) NSCLCでEGFR変異に対してGefitinib RR71%HR0.48 EGFR WTに対してGefitinib RRは1%、HR2.85
 - 例2) **Melanoma** 第2相試験 PLX-4032 (PASCO2009、Sosman NEJM 2012)



Cancer Genomicsの臨床応用

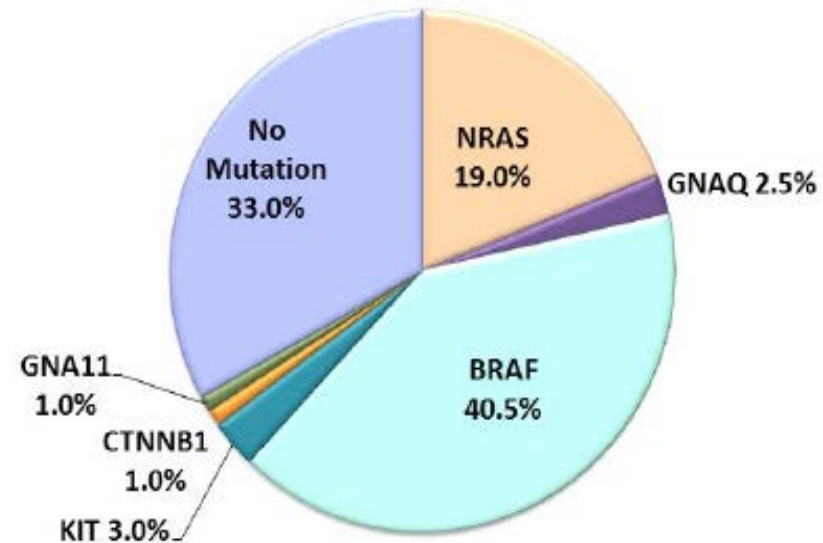
Molecular Profiling Guided Therapyを行うための遺伝子異常の例

アジア人非喫煙者肺腺癌202人における
Oncogene Driver Mutation



Li et al PLoS ONE 6(11): e28204. doi:10.1371/journal.pone.0028204

Melanoma Panel: 538 Samples



Cindy Vnencak-Jones 2011

Cancer Genomicsの臨床応用

- **予防**: Germline Mutationによるがん化のリスク、早期の体細胞遺伝子変異 (Somatic Mutation)による将来的ながん化のリスクを下げるための対策など
- **診断**: 早期診断, High throughput, コスト、Multiplexed with deep coverage、臨床的にActionable であるregionsをターゲットでき、リーズナブルな時間内に結果がでること
- **治療**: ある特定の抗癌剤に効果があると予測されるような、がんのサブタイプをみきわめる; 治療の選択にその情報を用いる 一薬剤に対して感受性があるか、抵抗性か。
- **予後**: 予後の良し悪しを予測する一治療方針に役立てる

Challenges: インフラのコスト (CLIAに準じるためのコスト)、バイオインフォマティクスのバリアー

Solution: それぞれの専門家、遺伝子学、バイオインフォメーション、病理専門家などの協力が必要

Molecular Profilingを早期臨床試験に適応

- 遺伝子解析結果をうるには一般に3—4週間かかる (MiSeq)
- Molecular Profilingデータの解釈: 同定されたMolecular Aberration が臨床的にいかなる意味をもつものであるかを検討する必要
 - 腫瘍遺伝子解析後、治療ターゲットを同定、ターゲットをブロックするような適切な治療薬にアクセスできる イコール 臨床的にベネフィットがあるかは別問題
- 臨床家に提出する遺伝子解析のリポートはどのクラスの薬あるいは試験薬で治療するべきかのガイダンスが明確に記されたフォーマットであるべき—治療指針
 - **Multidisciplinary Molecular Tumor Board**

Molecular Tumor Board

- Multidisciplinary: 臨床腫瘍学のエキスパート(早期臨床開発、腫瘍別エキスパート)、遺伝学、分子生物学、遺伝カウンセリング、倫理学、病理学
 - 必要に応じて、あるいは定期的に会議を行う
 - Tumor heterogeneity, 生検のテクニック、実際に解析に使用するサンプルに含まれている腫瘍のピュリティ、など
 - 臨床的に意味のあるAberrationを特定する
 - Actionable Mutationとして臨床的に意味があるもの: 何パーセント以上のAberrationをもっているものなのか、パーセンテージのカットオフの設定などを決定する

Molecular Tumor Boardで問題提起されるべきこと

- Driver 対 Passenger Mutations (1腫瘍に平均80以上の Somatic Mutationが含まれている、実際にタンパクのアミノ酸配列に変異をもたらすような遺伝子の変異)
- もし1つ以上のAberrationが見つかった場合、どのAberrationに対して最初にターゲットにするべきなのか
- Tumor BoardのPerformance自体、どのようにヴァリデーションするのか(正しく機能しているか誰が監査?)
- Boardで決定される事柄には再現性はあるのか

インフォームドコンセント

- バイオプシーに関するリスク
- どのくらいの情報を共有するべきか、予想外の結果がでてしまった時にはどう対処するか。
 - DNAが十分にあればWGSも行える。データと患者情報をDe-linkingするかしないかを決定する必要あり。もしDe-Linkingしないのであれば、患者さんがWhole Exome Sequencingのデータの公開を求めてきた場合にはそれに対応
- 患者家族または患者本人に対する影響：
 - NGSによって今まで知らなかった遺伝子異常が発見され、それが家族にも影響を及ぼすとなれば、カウンセリングが必要。
 - 遺伝子異常が発覚した場合、それが現在治療不可能なものなどをもありえることを想定して、カウンセリングが必要とされる
 - 家族に対しても行う
- スクリーニングの結果開示：
 - 偶然発覚した結果について、その結果を知りたいかどうかは、患者さんに決定権あり
- 生命倫理の専門家が必要
- コンフィデンシャリティーの問題

NCIのMolecular Profiling Directed Therapy—パイロット試験

NCI DCTD Molecular Characterization Laboratory (MoCha)

- NCI DCTDでおこなっている早期臨床試験をささえるために、2年前に設立された。
 - CLIAを必要としないIntegratedマーカーとして使うものから、CLIA Labの資格を獲得した臨床グレードのアッセイまでを含むMolecular Profilingを行う
- Gene expression profiling:
 - Affymetrix
 - NanoString
 - qRT-PCT
- Sequencing:
 - Ion Torrent PGM- targeted custom AmpliSeq Panel (in CLIA lab)
 - Illumina MiSeq- targeted custom TruSeq Panel
 - Illumina HiSeq- whole exome

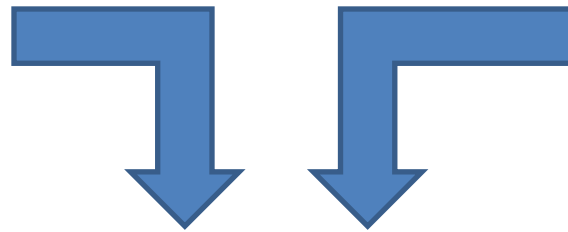
Data Analysis Tools



PGM Variant Caller
Rapid version evolution
Homopolymer mapping



Miseq Reporter (MSR)
Mapping difficulty of our
positive controls
Large indel mapping



Third party software

**CLCbio Genomic
Workbench**
Easy to use
Fast
Large indel mapping



**Integrated
Genome Viewer
(IGV)**

Provided by M. Williams NCI

Ion Torrent vs MiSeq の比較

PGM/Ampliseq

- Low input DNA; 20ng
- Short sequencing time
- High sequencing read coverage per amplicons
- Labor intensive template prep and sequencing
- User friendly in analysis pipeline
- Homopolymer issue

Miseq/TSCA

- 250ng input; maybe problem for clinical biopsies
- High multiplexity in samples load per run
- Automation for clustering and sequencing
- Somatic mutation analysis pipeline in MSR
- MSR pipeline has issues with large indels and alien barcodes in control plasmids

プロトコール概要

- specific mutations/amplifications の遺伝子情報をもとに選ばれた患者がその異常に対応した特定の治療を受けた場合、response rate (CR+PR) and/or 4-month PFS がどのように異なるかを**ランダム化試験**で調べる
 - まず700人にTargeted Sequencing を行いスクリーニングを行う。その中で特定のMutationを持った患者さん(180人)を選び適格者とする。
 - Cohort A: 特定のmutation/pathway の異常について選ばれた治療を施行される (遺伝子異常により4グループに分ける)
 - Cohort B: Cohort Aのコントロールアーム、Mutationを直接ターゲットとするような治療は施行されず、他のプロトコールで(従来の治療法も含める)治療される。

概要-2

- Exclusions:
 - NSCLC でEGFR mutation は除外. もし他のActionable Mutationが存在し試験適格者の場合、他のMutationをターゲットに進めることを認める。その他ALK陽性のものを除く。
 - Kras mutations はEGFR inhibitorsで治療は行わない。
 - 卵巣がんあるいは乳がんでBRCA mutations のあるものは今や、PARP inhibitorsが存在するため、BRACAに対するTargetシーケンスは除外。
 - 乳がんでHer2+のものを除外
 - 悪性黒色腫でBRAF陽性のものを除外
 - すい臓がんのKRAS MutantのものはMek Inhibitorに対して効果がない報告があり、除外あるいはSecondaryに多いMutationに対してランダム化するか検討中

Actionable Gene Selection

- COSMIC database high frequency genes
- Literature searches
- Tumor Board discussion and consensus

Loss of Function:

- P53
- FBXW7
- MGMT
- PARP 1
- PARP 2
- ERCC1
- MLH1
- MSH2
- ATR
- ATM
- NBN
- RAD5

Gain of Function

- KRAS
- HRAS
- NRAS
- BRAF
- PIK3CA
- AKT1
- AKT2
- AKT3

臨床試験のバイオプシー検体

- Routine diagnostic formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue will be used: 現在FFPEを用いたアッセイが最も実用化されやすい
- Adjacent section will be H&E stained, examined by pathologist for tumor content, % necrosis, inflammation, and scanned into high resolution image database: 病理医が実際に検体を確認しアッセイに用いることができる部位を選ぶ
- RNA and DNA will be extracted from the same tissue section
- ~50ng of DNA will be used for targeted sequencing
 - Ion Torrent (5-7 Days)
 - If sufficient DNA is available, whole-exome sequencing (HiSeq) can be performed for research purposes and to confirm the Ion Torrent result
- RNA will be available for gene expression profiling by either whole-transcriptome or miRNA microarray analysis

NCI Clinical and Translational Epidemiology Program
Division of Cancer Control and Population Scienceの試み
(Andrew N. Freedman, Ph.D.らによる)

- Predictive Cancer Medicine:
 - 個別化がん予防
 - 個人にあったQOL向上と健康の増進をはかるための治療方針

**"The right medicine to the right person at
the right dosage at the right time"**

Trans-NCI Pharmacogenomics and Pharmacoepidemiology Working Group (PPWG) : A. Freedman

Basic Biomedical Research

- Drug Development
- Pharmacogenomic Variability
 - Pharmacokinetics
 - Pharmacodynamics

Clinical Research

- Clinical trials
 - Phase 0 Studies
 - Phase 1 Studies
 - Phase 2 Studies
 - Phase 3 Studies

Population Research

- Phase 4 Studies
 - Observational, pop-based Studies
 - Pharmacoepidemiology
 - Pharmacosurveillance
 - Pharmacovigilance
 - Dissemination, implementation

Basic Sciences Subgroup
DCB, CCR, DCEG, CRCHD

Clinical Trials Subgroup
DCTD, DCP, CCR, NCICB,
OCE, OSPA, NCI OD

Population Sciences Subgroup
DCCPS, DCEG, OSPA, CRCHD

Clinical Practice and Predictive Therapy

Summary-1

- がんの早期臨床試験におけるMolecular Profiling Directed Therapy:
 - 現在はActionable Mutationを見つけ出し、それに対して分子標的薬を投与することに終始
 - 将来的には、Protein Levelとの関連性、がん細胞のMetabolismの情報など取り入れ、Systems BiologyをつかったComputational Analysisを行ない、最も適したDrug ターゲットを探索、
 - 分子標的薬のコンビネーション
 - 予防医学早期試験にもMolecular Profiling Directed Therapy を取り入れる
 - 早期の臨床試験に患者のEnrichmentがおこなえることは、すなわち薬の開発コストを下げ、開発期間の短縮にもつながる
 - NCIの役割: 各アカデミアにてそれぞれ行われているMolecular ProfilingがNCI・CTEPスポンサー試験に際して適切に使用されるよう指導
- 当面はActionable Mutation をみつけ、分子標的薬を適宜使用することによって腫瘍をターゲットする治療法を試験的に行い、知識と経験を積むことが大切

Summary -2

- NCI Developmental Therapeutics Clinicを訪れるすべての患者に対して CLIA認定の23遺伝子、COSMIC MOIを含んだパネルを用いて、Amplicon Sequencingを行い、ランダム化試験であるM-PACT Trialを行う予定である。将来はそれに加え、ランダム化はおこなわず Genetic Mutationに適した Targeted Therapy を提供するための臨床試験もオープンする予定
- 早期のFDA、CDRHとの交渉が大切、シーケンスデータをIntegral Markerとして用いるためにはFDAの合意が必要
- 各ケースのゲノム解析の結果をTumor Boardで議論したうえで、治療リポートの最終的決定を行う。Genomic Data の解釈までを現場の医師に任せるために教育などすることは適切とは考えられない。電子カルテに最終的なリポートと適した薬剤を提示
- 倫理的な問題: インフォームドコンセント、リサーチ目的で行った遺伝子解析情報でも、希望があれば情報提供しないといけない。LinkingするかDe-Linkingするかは、プロトコールとインフォームドコンセントに明記されなければならない