

# 急性骨髄性白血病に対する高antibody-dependent cellular cytotoxicity活性抗体の有用性の検討および治療薬を目指した新規抗CD33抗体医薬品の創製

村上, 拓也

<https://doi.org/10.15017/1785379>

---

出版情報：九州大学, 2016, 博士（創薬科学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：全文ファイル公表済

# 急性骨髄性白血病に対する高 antibody-dependent cellular cytotoxicity 活性型抗体 の有用性の検討および治療薬を目指した新規抗 CD33 抗体医薬品の創製

薬効安全性分野 3PS13034Y 村上 拓也

## 【目的】

急性骨髄性白血病 (acute myeloid leukemia; AML) は、再発率が高く、化学療法に耐性を示す症例が多く存在するため、未だに予後不良な疾患であり、化学療法に替わる安全性で治療効果の高い薬剤が求められている [1]。近年の研究により、抗体医薬品が B 細胞性リンパ腫や急性 T 細胞性リンパ腫などの血液がんに対して高い臨床効果を示すことが明らかとなってきた [2]。抗体医薬品による癌細胞傷害の主要な機構に、抗体による Natural killer (NK) 細胞の活性化を介した抗体依存性細胞傷害活性 ((antibody-dependent cellular cytotoxicity; ADCC) 活性) が知られている。ADCC 活性は抗体医薬品の癌細胞に対する抗細胞活性の主要な作用機序の一つだと考えられる。これまでの研究によって我々は抗体の ADCC 活性を飛躍的に高める高 ADCC 活性化技術の確立している [3]。本研究では、抗 ADCC 活性化技術を適応した抗 CD33 抗体の AML 細胞に対する効果を評価することで、高 ADCC 活性型抗体の AML 治療における有用性について検討した。また、新規抗 CD33 抗体 hu877 の AML に対する治療効果の可能性を検討した。

## 【方法】

AML に対して臨床開発されていた抗 CD33 抗体 Lintuzumab、さらに Lintuzumab に高 ADCC 活性化技術を適応した抗体 Lintuzumab F(-) を作製した。また、ハイブリドーマ法を用いて新規抗 CD33 抗体であるラット抗ヒト CD33 抗体 877 を取得した。この抗体の相補性決定領域 (CDR) をヒト IgG1 のフレームワークに移植し、構造予測より適切なアミノ酸に変異を導入し [4]、さらにこのヒト化抗体に高 ADCC 活性化技術を適応することで、新規ヒト化抗 CD33 抗体 hu877 を創出した。

これらの抗体 Lintuzumab、Lintuzumab F(-)、hu877 について、CD33 抗原に対する結合性、AML 細胞株に対する ADCC 活性、全血中における AML 細胞株に対する細胞傷害活性を LDH 法、フローサイトメトリーにより評価した。さらに hu877 および Lintuzumab について、より臨床予

測性が高いと考えられる AML 患者由来細胞に対する ADCC 活性を  $^{51}\text{Cr}$  リリース法を用いて評価した。また、AML 細胞株である CMK11-5 を用いたラット担癌モデルにおける抗腫瘍活性を評価した。

hu877 と Lintuzumab の抗 CD33 抗体として性質の違いを解析するために、種交差性、抗体間の競合性を、フローサイトメトリー、ELISA を用いて評価した。さらに、CD33 の抗体結合による内在化および表面抗原量の減少を、フローサイトメトリーを用いて評価した。

## 【結果】

抗 CD33 抗体 hu877、Lintuzumab 及び Lintuzumab F(-) の CD33 抗原に対する結合性を SPR 法を用いて測定した結果、CD33 に対して解離定数 ( $K_D$ ) として  $10^{-8}$  以上の高い結合活性を示した。AML 細胞株に対する ADCC 活性 (Fig. 1)、全血中における細胞傷害活性を測定した結果、高 ADCC

活性化技術を適応した Lintuzumab F(-) は、

Lintuzumab と比較してより高い ADCC 活性、細胞傷害活性を示した。また、hu877 は、同様に高

ADCC 活性化技術を適応した Lintuzumab F(-) に対してもより高い ADCC 活性、細胞傷害活性を示

した。さらに、抗 CD33 抗体の患者由来細胞への

ADCC 活性を評価した結果、hu877 は AML 患者

由来細胞に対しても ADCC 活性を示した。

in vivo における高 ADCC 型抗 CD33 抗体

hu877 の抗腫瘍活性を AML 細胞株である

CMK11-5 を用いたラット担癌モデルにおいて

評価した。CMK11-5 を皮下移植後、腫瘍

形成が認められた個体に対して hu877 およ

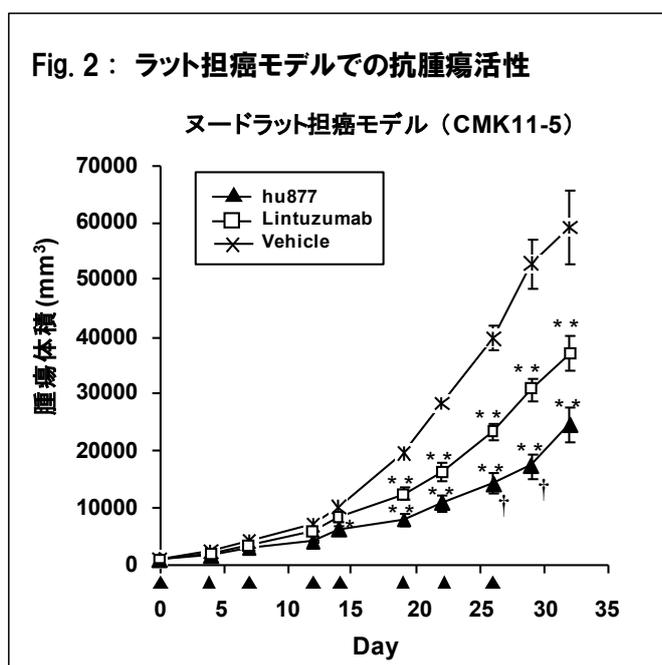
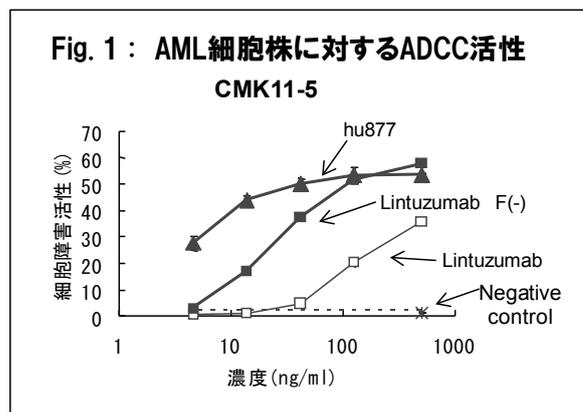
び Lintuzumab を週 2 回、3 mg/mL にて投

与した。その結果、Lintuzumab、hu877 投

与群は Vehicle 投与群に対して有意に高い

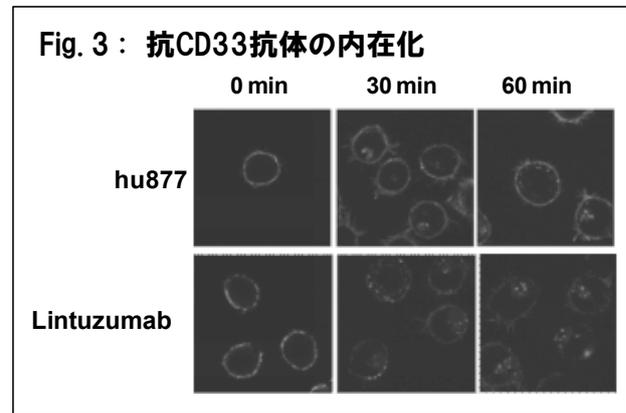
抗腫瘍活性を示した。また、hu877 投与群

は、Lintuzumab 投与群に対して、有意に高



い抗腫瘍活性を示した (Fig.2)。

抗体医薬品の ADCC 活性を高さに影響する可能性がある因子としてエピトープにより規定される抗原結合様式の違いが考えられる。このため、hu877 と Lintuzumab について、抗体間の競合性、種交差性を検討した。その結果、hu877 と Lintuzumab は、互いに抗原への結合を競合的に阻害したことから、これらの抗体のエピトープが物理的に近傍に位置することが示唆された。また、hu877 は、Lintuzumab と異なる種交差性を示し、これらの抗体が異なるアミノ酸配列をエピトープとすることが示唆された。ADCC 活性に影響する可能性がある抗体の性質として、抗原の内在化の促進や細胞表面抗原量の減少が考えられる。これらについて hu877 と Lintuzumab と比較した結果、hu877 は、



Lintuzumab に対して、抗原の内在化させにくく (Fig. 3)、かつ細胞表面上の抗原量の減少を惹起しにくい性質を有していた。

### 【考察】

本研究により、抗 CD33 抗体に高 ADCC 化技術を適応することにより、AML 細胞に対してより高い ADCC 活性を示した。抗体医薬品に対する癌の耐性や不応答の要因の一つに、標的抗原の発現量が低いこと知られている。高 ADCC 活性化技術は、低い抗原量の細胞に対しても高い ADCC 活性を示すことが報告されている [5]。本研究においても高 ADCC 活性化技術を適応した抗 CD33 抗体が AML 細胞に対してより高い ADCC 活性を示した。このため、高 ADCC 活性化技術を適応した抗 CD33 抗体が、既存の抗 CD33 抗体では治療効果が不十分だった AML 患者に対して、より高い治療効果を示すことが期待できるとことを示唆している。

ADCC 活性は生体の免疫機構に依存しており生物種によって活性が異なることが知られている。本研究では、ヒトの免疫機構と同様に ADCC 活性が誘導されるラットを用いた担癌モデルで抗 CD33 抗体の抗腫瘍活性を評価した [6]。このため、本研究で得られたラット担癌モデルにおける Lintuzumab、hu877 の抗腫瘍活性は、臨床で期待できる抗腫瘍活性を反映していると考えられる。

CD33 は抗体結合により速やかな内在化や表面抗原の減少が起こる抗原であることが報告されている [7]。本研究での検討の結果、hu877 は、Lintuzumab と比較して内在化や表面抗原の減少が起こりにくい抗体であることが示唆された。ADCC 活性は細表面上の抗原量に依存することが知られており、hu877 の AML 細胞株に対する高い ADCC 活性は、この特性に起因している可能性が示唆される。また、これらの結果から、抗体医薬品の標的として CD33 の様に内在化する抗原を選択する場合、内在化や表面抗原の減少に着目した抗体の選択が有用な方法となり得ることが示唆された。

本研究での検討の結果により、高 ADCC 活性型抗 CD33 抗体が AML に対して有用な治療薬となる可能性が示された。さらに、本研究において創出された新規抗 CD33 抗体 hu877 は、より高い抗腫瘍活性により、Lintuzumab よりも高い臨床効果を期待できる AML に対する有望な抗体医薬品となる可能性が強く示唆された。

## 【引用文献】

1. Kantarjian H, et al. *Cancer* 2008; 113: 1933-1952.
2. Ishida T, et al. *J Clin Oncol* 2012; 30(8): 837-842.
3. Kanda Y, et al. *Biotechnol Bioeng* 2006; 94: 680-688.
4. Jones PT, et al. *Nature* 1986; 321: 522-525.
5. Niwa R, et al. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2327-2336.
6. Song ES, et al. *J Leukoc Biol* 1990; 48(6): 524-530.
7. van Der Velden VH, et al. *Blood* 2001; 97(10): 3197-3204.