

システイン導入抗体（Lc-Q124C）および膜型CEA選択的抗CEA抗体を用いたAntibody-drug conjugateの体内動態改善研究

岩野，淳子

<https://hdl.handle.net/2324/4110469>

出版情報：Kyushu University, 2020, 博士（創薬科学）, 課程博士

バージョン：

権利関係：Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

氏 名 : 岩野 淳子

論文題名 : システイン導入抗体 (Lc-Q124C) および膜型 CEA 選択的抗 CEA 抗体を用いた Antibody-drug conjugate の体内動態改善研究

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

抗体-薬物複合体 (antibody-drug conjugate; ADC) は、がん細胞に結合する抗体と高い細胞傷害活性を持つ低分子化合物 (ペイロード) を、リンカーを介して結合させた新しいタイプのがん治療薬である。ADC は結合させたペイロードを抗体によってがん細胞選択的に送達できるため、従来の抗体医薬と低分子医薬の長所を活かし短所を補うことにより、高い安全性と強い抗腫瘍作用を発揮し、既存の抗体医薬や低分子医薬では治療が困難であったがん疾患に対する治療薬として期待されている。

ADC から強い細胞傷害活性を有するペイロードが血中あるいは非標的臓器で遊離すると、非特異的に組織に取り込まれ毒性が生じることが報告されている。ADC が期待される広い治療域を達成するためには ADC が標的組織まで安定であることが前提となっており、そのためには ADC を構成するそれぞれの要素、すなわち抗体、コンジュゲーション部位、リンカーおよびペイロードを適切に選択する必要がある。これまでに、ADC の課題として 1) 製造面の課題、2) 安定性の課題、3) 抗体選択の課題に着目して研究を行ってきた。現在上市されている ADC は 1 抗体当たりの薬物結合数やそのコンジュゲート部位を制御できないため、不均一な製剤として製造されてしまう製造面の課題がある。この課題を克服するため部位特異的修飾技術とし軽鎖 124 番目グルタミンをシステイン (Cys) に置換した Cys 導入抗体 Lc-Q124C を創製した。Lc-Q124C により均一な ADC の製造が可能になったものの、Lc-Q124C を用いて調製した ADC は *in vitro* ヒト血漿中で不安定であることが明らかになった。これまでの検討において、リンカーによって *in vitro* ヒト血漿中安定性は向上したが、*in vivo* 体内動態における改善の程度については検討できていなかった。本研究では Lc-Q124C を用いた ADC がリンカー選択によって製造面の利点を活かしたまま安定性の課題を克服できるか、薬物動態学的視点から検討した。

また、これまでに抗体選択の課題について、がん特異的な抗原である Carcinoembryonic antigen (CEA) に対する抗体に着目して研究を行ってきた。CEA は古くから知られるがん特異的な抗原であるが、CEA を標的とした抗体医薬あるいは ADC は未だに上市されていない。その原因として、ADC に適した抗体の選択に課題がある可能性が考えられた。本研究では抗体クローンの選択によって従来の抗 CEA 抗体が抱えていた課題を克服し、ADC の抗体として用いる価値があるか薬物動態学的視点から検討した。

1. Cys 導入抗体 (Lc-Q124C) のリンカー選択による体内動態改善に関する検討

Lc-Q124C を用いて調製した ADC と Genentech 社の開発した Cys 導入抗体である軽鎖 205 番目の

バリンを Cys に置換した Lc-V205C を用いた ADC のマウスにおける体内動態を比較した。Val-Cit リンカーを用いた ADC である Tra-Lc-Q124C-vcMMAE は、Tra-Lc-V205C-vcMMAE と比較して全身クリアランスが大きく体内動態が悪いことが分かった。リンカーのマレイミド基を開環することでアルブミンとの Cys 交換反応が抑えられ、体内動態は部分的に改善したが Tra-Lc-V205C-vcMMAE と比較すると更なる改善が必要であった。ADC 調製に Val-Cit リンカーは抗体のコンジュゲート部位の影響を受け血漿中で不安定になることが報告されている。そこで、より安定なリンカーを用い、さらにマレイミド基を開環した hy-Tra-Lc-Q124C-mcMMAE のマウス体内動態を評価し、Tra-Lc-V205C-vcMMAE と同等まで体内動態が改善した。今回確認された、循環血中の安定性および体内動態の課題は、リンカーの選択によって解決可能であることが分かった。近年の改良型の Val-Cit リンカーや改良型チオール反応性リンカーなど様々な ADC 用のリンカーが選択可能になっており、Lc-Q124C は製造面の利点を活かしたまま安定性良好な ADC を創製できると考えられた。

2. 膜型 CEA 選択的抗 CEA 抗体 (15-1-32) を用いた最適な抗体クローン選択に関する検討

CEA を標的とした抗体医薬や ADC が未だ上市されていない原因として、一般的な抗 CEA 抗体では可溶性 CEA と結合すると肝臓に分布し分解されるため循環血中から速やかに消失し標的組織への送達が妨げられることが報告されている。適切な抗体クローンを選択することにより CEA を標的とした ADC の創製が可能と考え、これまでに膜型 CEA 選択的抗 CEA 抗体である 15-1-32 を見出した。15-1-32 では可溶性 CEA による血中からの消失促進、肝臓への分布増加を抑えられることが明らかになった。また、15-1-32 は *in vitro* において CEA 高発現がん細胞の細胞膜上に発現する膜型 CEA 依存的に細胞内に内在化しやすいことが分かった。このような 15-1-32 の性質を活かすことで、非標的組織である肝臓への毒性軽減、がん細胞内への送達量の増加によってより広い治療域を有する ADC となる可能性を見出した。同一抗原に対する抗体でもクローンによってその性質は大きく異なるため、抗原の選択のみならず抗体の選択は ADC を創製する上で重要な課題となる。本検討により、ADC の抗体として求められる性質や各抗体クローン特性を理解し、抗体選択を行うこと非常に重要であることを明らかにした。

最適な ADC 創製のために課題を理解して改善を進める上で、有機化学、抗体工学、分析化学、薬理学など異分野からのアプローチが必要であり、早期から薬物動態学的視点に基づく改良研究を行う事が非常に重要と考えられた。