

抗体医薬の展望 高 ADCC 活性型抗体を中心に

設楽 研也

協和発酵工業（株）東京研究所

042-725-2555、kshitara@kyowa.co.jp

1. はじめに

現在、米国では 10 種類を超える抗体が医薬品として販売されており、抗体は新しい医療分野を開拓しつつある。しかし、抗体の臨床効果は必ずしも充分とは言えず、より高い臨床効果を示す抗体医薬の開発が望まれている。本発表では、抗体医薬の現状と課題を簡単に整理した後、抗体の薬効を高めるアプローチのひとつとして、我々が検討している糖鎖修飾による抗体の抗腫瘍活性を増強する研究について紹介したい。

2. 抗体医薬の開発の現状と課題

近年の抗体工学の進歩により、ヒトに対する抗原性が低く臨床応用可能なキメラ抗体、ヒト化抗体（CDR 移植抗体）、完全ヒト化抗体を作製することが可能となり、抗体は多くの臨床試験においてその有効性が実証されてきた。また、抗体はポストゲノム研究の主要な創薬分子として注目されていることもあり、抗体医薬の研究開発は熾烈な競争時代に入っている。がん領域では非ホジキンリンパ腫適応の Rituxan（抗 CD20 キメラ抗体）、乳癌適応の Herceptin（抗 Her2 ヒト化抗体）、大腸癌適応の Avastin（抗 VEGF ヒト化抗体）、Erbix（抗 EGFR キメラ抗体）が期待の新薬として登場し、抗体医薬は新しい医療分野を開拓しつつある。しかしながら数多くの抗体医薬の臨床開発が試みられ、さらに臨床で有効性の確認された抗体の認識する癌抗原の特徴や抗腫瘍メカニズムが分かってくるに従い、抗体医薬の限界も見えてくるようになった。現在の抗体医薬の臨床効果は必ずしも充分とは言えず、より高い効果を示す抗体医薬の開発が望まれている。抗体の有効性を高めるための解決策のひとつは抗体分子の活性増強であり、非常に多くのアプローチが検討されている。成功例として、抗がん剤や放射性同位元素を抗体に結合させた抗体コンジュゲートが血液癌適応で上市されているが、固形癌に対しては上市に至るほどの臨床での有効性は示されていない。

3. ADCC 活性の重要性と ADCC 活性を増強するアプローチ

抗体分子の活性増強を狙うためには、現在の抗体医薬の作用メカニズムを理解した上で問題点を克服するアプローチが有効である。抗体の抗腫瘍メカニズムとしては、抗体依存性細胞障害活性（antibody-dependent cell mediated cytotoxicity:

ADCC)、補体依存性細胞障害活性 (complement-dependent cytotoxicity: CDC)、アポトーシス誘導活性などが重要であると指摘されてきたが(1)、臨床上どのメカニズムが最も重要なのか最近までよく分かっていなかった。しかしながら、以下に示すように、臨床上有効な抗体である Rituxan および Herceptin の 基礎研究、臨床研究の結果から ADCC 活性の重要性がクローズアップされてきた。

Rituxan や Herceptin は多彩な抗腫瘍メカニズムを持つが、マウスモデルでの評価から Fc レセプターを介する ADCC 活性が最も重要な抗腫瘍メカニズムであると報告された(2)。Rituxan の臨床試験において、Fc R11a の多型と臨床効果の間に興味深い関連が報告された。すなわち 158 番目のアミノ酸が Val である Fc R11a は ADCC 活性が高い多型であるが、Rituxan の臨床試験において、158 番目のアミノ酸が Val である Fc R11a を有する患者の臨床効果が高かった(3)。

以上の結果は、抗腫瘍メカニズムとしての ADCC 活性の重要性を示すとともに、ADCC 活性が増強した抗体を用いるとより高い臨床効果が期待できることを示唆している。ADCC の重要性が明らかとなるに従い、抗体の ADCC 活性を増強させるアプローチが注目されている。ADCC 活性を増強するアプローチとしては、抗体の Fc 領域のアミノ酸配列を改変するものと、抗体の糖鎖構造を制御するものの 2 つの手法が報告されている。Fc 領域のアミノ酸配列の改変アプローチの一例として、Shields らは、IgG1 の Fc 部分のアミノ酸を網羅的に改変することにより、ADCC 活性が上昇したアミノ酸改変抗体の作製に成功した(3)。しかし、人工的に改変したアミノ酸配列を持つ抗体の臨床応用を考えると、ヒトで抗原性がないかをまず確認することが必要である。一方、我々は、抗体の CH2 ドメインに結合している N 型糖鎖からフコースを除去すると抗体の ADCC 活性が大幅に上昇することを見出した(5)。フコース修飾のない抗体はヒト血中 IgG にも存在することが知られている天然型の抗体である。抗体糖鎖のフコースは 1,6 フコシルトランスフェラーゼ (FUT8) により付加されるが、抗体医薬を生産する宿主細胞として代表的な CHO 細胞は FUT8 活性が高く、CHO 細胞が産生する抗体は高フコース型の低 ADCC 活性抗体である。我々は高 ADCC 活性抗体を産生する宿主細胞を樹立するため、CHO 細胞の FUT8 遺伝子をノックアウトした。FUT8 ノックアウト細胞では、期待どおり産生抗体へのフコース付加は見られず、顕著に ADCC 活性が増強した抗体が産生された。フコース修飾のない抗体は、ADCC 活性は増強するが、抗原結合活性や CDC 活性には変化は認められなかった(6)。更に、ヒトの末梢血リンパ球をエフェクター細胞として移植したマウスモデルを新たに確立して抗腫瘍活性を評価した結果、従来型の高フコース抗体に比べてフコース修飾のない高 ADCC 活性抗体は優れた抗腫瘍効果を示すことが確認できた(7)。また、フコース修飾のない抗体の ADCC 活性が増強するメカニズムを解析した結果、NK 細胞に発現している Fc R11a への結合アフィニティーの上昇に由来することが明らかとなった。Fc R11a と抗体の結合を熱力学的および速度論的に解析した結果、フコース修飾のない抗体による結合アフィニティーの上昇はエンタルピー駆動であ

りかつ結合速度定数の増加に起因するものであった(8)。上述のように Fc RIIIa の遺伝子多型は ADCC 活性の強さならびに Rituxan の臨床効果に影響を及ぼすが、フコース修飾のない抗体による ADCC 活性の増強は、いずれの多型の Fc RIIIa を持つドナーに対しても有効であった(9)。以上の結果から、フコース修飾のない抗体は ADCC 活性および抗腫瘍活性が増強しており、臨床での有用性が期待される。

4. おわりに

抗体医薬は新しい医療分野を開拓しつつあり、治療薬としての地位を確保しつつある。多くのベンチャー企業はゲノム研究の成果を抗体医薬に結びつけようとしており、抗体医薬の開発競争は益々激化している。これまでの抗体の限界をブレイクスルーする次世代抗体の研究も活発化している。本発表で紹介したフコース修飾のない抗体のように ADCC 活性が顕著に上昇した抗体は、治療効果の増強、あるいは、少ない投与量での治療効果が期待できる。本発表の成果を、従来の治療法では限界のあった難治性の疾患に対する有効な治療薬の開発につなげたい。

5. 参考文献

- (1) Carter, P. 2001. Improving the efficacy of antibody-based cancer therapies. *Nat. Rev. Cancer* 1: 118.
- (2) Clynes, R. A., Towers, T. L., Presta, L. G., Ravetch, J. V. 2000. Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. *Nat. Med.* 6: 443.
- (3) Cartron, G., Dacheux, L., Salles, G., Solal-Celigny, P., Bardos, P., Colombat, P., Watier, H. 2002. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcγRIIIa gene. *Blood* 99: 754.
- (4) Shields RL, Namenuk, AK, Hong, K, Meng, YG, Rae, J, Briggs, J, Xie, D, Lai, J, Stadlen, A, Li, B, Fox, JA, Presta, LG. 2001. High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R. *J. Biol. Chem.* 276: 6591.
- (5) Shinkawa, T., Nakamura, K., Yamane, N., Shoji-Hosaka, E., Kanda, Y., Sakurada, M., Uchida, K., Anazawa, H., Satoh, M., Yamasaki, M., Hanai, N., Shitara, K. 2003. The absence of fucose but not the presence of galactose or bisecting N-acetylglucosamine of human IgG1 complex-type oligosaccharides shows the critical role of enhancing antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J. Biol. Chem.* 278: 3466.
- (6) Yamane-Ohnuki, N., Kinoshita, S., Inoue-Urakubo, M., Kusunoki, M., Iida,

- S., Nakano, R., Wakitani, M., Niwa, R., Sakurada, M., Uchida, K., Shitara, K., Satoh M. 2004. Establishment of *FUT8* knock-out CHO cells; an ideal host cell line for producing completely defucosylated antibodies with enhanced ADCC. *Biotechnol. Bioeng.* 87: 614.
- (7) Niwa, R., Shoji-Hosaka, E., Sakurada, M., Shinkawa, T., Uchida, K., Nakamura, K., Matsushima, K., Ueda, R., Hanai, N., Shitara, K. 2004. Defucosylated anti-CC chemokine receptor 4 IgG1 with enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity shows potent therapeutic activity to T cell leukemia and lymphoma. *Cancer Res.* 64: 2127.
- (8) Okazaki, A., Shoji-Hosaka, E., Nakamura, K., Wakitani, M., Uchida, K., Kakita, S., Tsumoto, K., Kumagai, I., Shitara, K. 2004. Fucose depletion from human IgG1 oligosaccharide enhances binding enthalpy and association rate between IgG1 and Fc γ RIIIa. *J. Mol. Biol.* 336: 1239.
- (9) Niwa, R., Hatanaka, S., Shoji-Hosaka, E., Sakurada, M., Kobayashi, Y., Uehara, A., Yokoi, H., Nakamura, K., Shitara, K. 2004. Enhancement of the antibody-dependent cellular cytotoxicity of low-fucose IgG1 is independent of Fc γ RIIIa functional polymorphism. *Clin. Cancer Res.* 10: 6248