九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

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

氏　　名	村上　拓也
論　文　名	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
論文調査委員	主　査　九州大学　　教授　黒瀬　等 副　査　九州大学　　教授　植田　正 副　査　九州大学　　教授　小柳　悟 副　査　九州大学　　教授　藤田　雅俊

論文審査の結果の要旨

急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia; AML）は再発率が高く、また現在用いられている化学療法では耐性を生じる患者も多く存在し、その予後も不良な難治性の疾患である。そこで、化学療法に替わる治療効果の高い薬剤の開発が望まれている。近年、血液がんに対して高い治療効果を示す抗体医薬品が開発されてきた。抗体医薬品が癌細胞を傷害するメカニズムの一つとして、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。申請者が勤務する会社では、抗体の ADCC 活性を飛躍的に高める高 ADCC 活性化技術の確立に成功している。そこで、AML の治療に抗 ADCC 活性化技術を適用した抗 CD33 抗体（hu877 と命名）の有用性について検討した。

はじめに、AML 治療を目的として開発されていた抗 CD33 抗体 Lintuzumab から高 ADCC 活性化技術を適応した抗体 Lintuzumab F(-)を作製した。また、新たにラット抗ヒト CD33 抗体 877 を取得し、相補性決定領域（CDR）をヒト IgG1 のフレームワークに移植した。さらに、構造予測より適切なアミノ酸に変異を導入することで高 ADCC 活性を持つように変更し、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 抗原との結合親和性を SPR 法にて測定したところ、CD33 に対する解離定数（K_D）が 10^{-8} 以上の高い親和性を示すことが明らかになった。次に、AML 細胞株に対する ADCC 活性を測定した。細胞傷害活性は LDH 活性によって評価している。その結果、Lintuzumab F(-)は、Lintuzumab と比較してより高い ADCC 活性すなわち細胞傷害活性を示すことを見出した。さらに、hu877 は、Lintuzumab F(-)よりも高い ADCC 活性／細胞傷害活性を示した。また、hu877 は AML 患者由来の細胞に対しても ADCC 活性を示していた。

高 ADCC 活性化技術を適用した hu877 の抗腫瘍活性を in vivo で評価するために、AML 細胞株である CMK11-5 をラットの皮下に移植した担癌モデルを用いた。CMK11-5 による腫瘍形成が確認された個体に対して、Lintuzumab または hu877 を週 2 回、3 mg/mL の条件にて処置した。その結果、Lintuzumab または hu877 を投与したグループでは、Vehicle を投与したグループよりも有意に高い抗腫瘍効果が観察された。また、hu877 を投与したグループでは、Lintuzumab を投与したグループよりも有意に強い抗腫瘍効果が確認された。

抗体医薬品の ADCC 活性の強さに影響を与える因子に抗体が結合するエピトープの違いがある。そこで、Lintuzumab と hu877 について、２つの抗体の競合性および種差による認識の違いを検討したところ、hu877 と Lintuzumab は、抗原への結合を互いに競合的に阻害することが明らかになった。この結果は、これらの抗体によって認識されるエピトープが物理的に近傍な位置にあることを示唆していた。しかし、hu877 は、Lintuzumab と異なる種交差性を示したことから、これら２種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 活性に影響する因子の一つとして、抗体の結合した抗原が細胞表面から消失する現象がある。

CD33 は抗体の結合によって細胞表面から速やかにインターナライズされる抗原である。そこで、CD33 が抗体の結合によって細胞内に取り込まれ（インターナライズされ）、細胞表面から消失する割合をフローサイトメトリーにて測定した。その結果、hu877 は Lintuzumab よりも抗原のインターナリゼーションを起こしにくいため、細胞表面上の抗原量が Lintuzumab に比べ高く維持されていた。本研究で作製した hu877 は、Lintuzumab と比較してインターナライズによる表面抗原の減少が起こりにくい抗体である。ADCC 活性は細表面上の抗原量に依存することから、hu877 の AML 細胞株に対する高い ADCC 活性は、このインターナリゼーションが起きにくいことに起因している可能性がある。また、この結果は、抗体医薬品の標的として結合によってインターナライズする抗原を選択する場合、インターナライズに着目した抗体の選択を行うことが重要なことを示した。

ADCC 活性は生体の免疫機構に依存して発揮されるため、その活性は動物種によって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ている。したがって、ラットの担癌モデルで得られた抗 CD33 抗体（Lintuzumab および 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。

抗体医薬品を癌の治療に用いる際の問題点の一つに標的抗原の発現量の低さがある。高 ADCC 活性化技術を適用した抗体は、抗原量が低くても高い ADCC 活性を示すことが報告されており、本研究においても新たに作製した hu877 が AML 細胞に対してより高い ADCC 活性を示すことを確認した。このため、hu877 は既存の抗体医薬品では治療効果が不十分な AML 患者に対しも高い治療効果を示すことが期待できる。

本研究より、高 ADCC 活性を持つ hu877 が AML に対して、既存の抗体医薬品と比べより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、それが持つ強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。

これらのことから、申請者は博士（創薬科学）の学位を取得するにふさわしいと判断した。