

日本医療研究開発機構 先端的バイオ創薬等基盤技術開発事業 事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 抗体薬物複合体の高機能化を実現する生体高親和性ケミストリーの確立
(英語) Highly bioorthogonal chemistry for multifunctional antibody-drug conjugates

研究開発実施期間: 令和元年10月1日～令和6年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 細谷 孝充
(英語) Takamitsu Hosoya

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立大学法人東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授
(英語) Tokyo Medical and Dental University (TMDU)・Institute of Biomaterials and Bioengineering (IBB)・Professor

II 研究開発の概要

研究開発の目的・ねらい

本研究の目標は、抗体の抗原認識活性や生体内安定性を損なわずに、30～100分子という従来技術では導入困難な量の抗がん剤を抗体へと化学修飾するための基盤技術を確立し、次世代の抗体薬物複合体への道を拓くことである。具体的には、代表者（細谷）ら独自の有機合成技術を基盤に、抗がん剤やがん治療用放射性核種といった複数の機能性分子を抗体に対して導入する超多重多機能分子修飾法を確立し、治療効果の高い高機能抗体薬物複合体の開発基盤を築く。これによって単位抗体薬物複合体当たりの治療効果を飛躍的に向上させる。

抗体薬物複合体の抗がん効果の向上により、患者への投与量の低減（副作用の低減）や費用削減等が期待される。また抗体1分子当たり10分子程度までの導入が限界だった従来技術では抗体薬物複合体としての抗がん活性が見込めなかった薬剤についても、抗体薬物複合体としての抗がん効果が期待されることから、導入できる抗がん剤の種類の拡張が可能となる。これにより抗がん効果を有する候補化合物を保有する多くの製薬企業が、抗体薬物複合体の研究開発へと参入できるようになる。加えて、多量の化合物を疾患部位へと届ける本技術は、これまで抗がん剤に限られてきた抗体薬物複合体の研究開発を他の疾患へと展開する道を拓くと期待される。

研究開発の成果

① 抗体タンパク質上での多重クリック反応による dendritic 合成技術の確立

抗がん剤を抗体へ多重導入するため、代表者（細谷）らの独自技術であるクリック反応部位の保護・脱保護によるマルチクリックケミストリーを用いた dendritic 合成を行い、その抗体への連結を検討した。その結果、dendritic の抗体への連結効率が低く、その原因は巨大分子である dendritic と抗体の間で発生する立体障害や電気的反発にあると予想された。この問題を解決し、dendritic 導入抗体を作製するため、抗体タンパク質上での多重クリック反応による dendritic 合成に取り組んだ。水溶液中にある磁気ビーズに固定化した抗体タンパク質上での有機化学反応により dendritic を組み上げ、最後に抗がん剤などの機能性部位を抗体上の dendritic 末端に導入する戦略である。本研究開発では、dendritic の構成要素となる水溶性の新規クリック反応素子を複数合成し、その抗体への導入の最適化を行った。分岐構造を有するクリック反応素子の組み合わせとクリック反応部位の保護・脱保護によるマルチクリックケミストリーにより、100 分子程度の抗がん剤を導入する抗体 dendritic 複合体の合成技術確立した。

この抗体 dendritic 複合体に対して、抗がん剤などの機能性分子の導入を実施した。抗がん剤 MMAE の導入では、MMAE dendritic の疎水性が増大する結果となり、抗体薬物複合体の水溶性が低下し、培養がん細胞株に対する抗がん作用も低下した。これら低下の原因は、疎水性の増大に加え、dendritic 末端の分子の混み合いによる抗がん剤 MMAE の dendritic からの放出不全にあると考えられた。そこでこの問題を解決するため、疎水性の増大に対しては抗がん剤 MMAE と dendritic の連結部位へ水溶性ポリマーを導入し、抗がん剤 MMAE の放出不全に対してはプロテアーゼによる切断部位のタンデム化により対応した。これらの対策は一定の効果を認めたものの、dendritic サイズの増加に伴う抗がん剤 MMAE 導入抗体 dendritic 複合体の抗がん作用の低下を完全に解決するものではなかった。これらの研究成果から、dendritic サイズは 6 分子までが実施可能であり、現時点での抗がん剤 MMAE 分子の改変では 2 分子サイズが最適であると判明した。

② α線放射核種アクチニウム-225 の効率的な導入による RI 内用療法用治療薬の開発

放射核種を搭載した抗体薬物複合体は、新しい抗がん剤として注目を集めている。一方で、非常に貴重な放射核種を余すことなく抗体へと導入することができる核種捕捉技術が求められている。本研究では、上記①にて確立した抗体 dendritic 複合体を放射核種の捕捉に用いるための技術開発を行った。具体的には、抗体 dendritic 複合体の末端にある複数のクリック反応部位に対して、放射核種捕捉部位である金属キレーター部位を迅速に導入するための分子設計とその放射核種による標識効率の評価を行った。

まず、金属キレーターを導入した抗体 dendritic 複合体の物性評価を行うため、放射核種を搭載していない状態の金属キレーターを多重導入した抗体 dendritic 複合体を作製した。金属キレーター部位は親水性のため、上記①の抗がん剤 MMAE 導入とは異なり、12 分子以上を導入しても疎水性の増大は認められず、抗体薬物複合体の性能低下が認められなかった。

次に、放射核種を捕捉するための金属キレーター部位と dendritic への導入に使用するクリック反応部位の複合体を合成し、その最適化を行った。その結果、α線放射核種アクチニウム-225 のモデル核種である銅-64 とジルコニウム-89 を用いた検討の結果、80%以上の標識効率を達成できた。一方、クリック反応部位の構造によって放射核種による複合体の分解が生じることが判明した。これは放射核種を抗体へと導入する場合に注意すべき事項として有用な知見となった。

③ 光切断リンカー技術の高度化

抗体薬物複合体から任意のタイミングで薬物を放出する技術は、抗体薬物複合体からの抗がん剤のがん組織特異的放出や RI 内用療法用治療薬の体内からの迅速なクリアランスにおいて求められている。本研究では、代表者（細谷）らが独自に開発したインドリジン環を基盤とする光切断リンカーの研究開発を進めた。本光切断リンカーは組織透過性の高い赤色光による切断が可能であり、生体組織内での活用が期待できる。

まず、モデルタンパク質であるインシュリンに光切断リンカーを導入し、増感剤存在下で1分間の赤色光照射により、水溶液中のタンパク質上で97%の切断効率を達成した。さらに、インドリジン環、増感剤、抗がん剤を連結した増感剤を内包する一体型光切断リンカーの開発にも成功した。

さらに、RI 内用療法用治療薬へ応用するため、光切断リンカーに放射核種を捕捉するための金属キレーター部位を連結した分子を合成した。本分子は、光切断リンカーを介して、金属キレーター、増感剤、抗体との連結に用いるクリック反応部位を集積させた多機能型である。これらの分子の放射核種での標識を検討した結果、増感剤が放射核種による分解を受けることが判明した。そこで、増感剤を金属キレーターから分離し、毒性の低い増感剤を後から投与するプレターゲティング法を用いた方法を確認した。その結果、光切断リンカーを導入した抗体から、増感剤存在下にて5分間の赤色光照射によって、放射核種を捕捉した金属キレーターが放出されることが確認できた。

研究開発の意義

本研究成果は、従来技術では導入困難な量の薬物を抗体へと導入するための基盤技術として、次世代の抗体薬物複合体の研究開発を加速するものである。近年、抗体薬物複合体に抗がん剤以外の薬物を搭載したものが登場してきており、抗体薬物複合体が適用できる対象疾患が拡大している。一方で、抗がん剤以外の薬物の多くは、薬効を発揮するために比較的高い濃度が必要となる場合がある。このような薬剤の抗体への導入に際して、本研究で開発した抗体デンドリマー複合体は有効であると期待される。一方で、搭載する薬物の疎水性が高い場合には親水性ポリマーを導入するなどの対策により抗体薬物複合体の性能低下を防ぐことが必要である。これについては現時点では薬物ごとに個別の対応が必要であり、汎用性の高い対策は確立されていない。このようなニーズに対応するため、代表者（細谷）らは今後、親水性ポリマーを含む複数の機能性分子を抗体などのタンパク質へ容易かつ効率的に導入できる生体高親和性ケミストリーのバリエーションを増やしていく予定である。加えて、組織透過性の高い赤色光による切断リンカーの独自技術は、抗体薬物複合体からの薬物の組織特異的放出や RI 内用療法用治療薬の体内からの迅速なクリアランスなどに有効であると期待される。 α 線放射核種は次世代の抗がん剤として注目されており、今後本研究開発で得られた成果をさらに発展させ、放射核種を搭載した抗体薬物複合体の合成技術を確認し、企業等との連携を進めることで、新たな抗がん剤の開発が期待される。

The objective of this research is to develop a basic technology for the chemical modification of an antibody with drugs in quantities of 30 to 100 molecules, which is challenging to achieve using conventional technology. The aim is to maintain the antigen recognition activity and in vivo stability of the antibody while paving the way for the next generation of antibody-drug conjugates. Specifically, the antibody-drug conjugates would build upon the organic synthesis technology originally developed by Dr. Hosoya and his colleagues to establish the multifunctional molecular modification method. This method could introduce multiple functional molecules such as anti-cancer drugs and cancer therapeutic radionuclides into the antibody. This technology would lay the foundation for the development of highly functional antibody-drug conjugates with high therapeutic efficacy.

Improving the anti-cancer effect of antibody-drug conjugates has been expected to reduce the dosage (and therefore side effects) and cost burden on patients. Furthermore, it has been anticipated that the anti-cancer effect of antibody-drug conjugates can be applied to drugs that could not be expected to have anti-cancer activity as antibody-drug conjugates in the conventional technology, which is limited to the introduction of up to 10 molecules per antibody molecule. This will broaden the range of anti-cancer drugs and allow many pharmaceutical companies those have candidate compounds with anti-cancer effects to participate in the research and development of antibody-drug conjugates. Furthermore, this

technology, which delivers large amounts of compounds to a disease site, could pave the way for expanding the research and development of antibody-drug conjugates, which has been limited to anti-cancer drugs, to other diseases.

The research results could facilitate the development of the next generation of antibody-drug conjugates, which are essential for introducing drugs into antibodies in doses that are difficult to administer using conventional technologies. In recent years, antibody-drug conjugates loaded with drugs other than anti-cancer drugs have emerged, expanding the range of target diseases to which antibody-drug conjugates are applicable. On the other hand, it is worth noting that many drugs, aside from anti-cancer agents, may require relatively high concentrations to exert their medicinal effects. The antibody-dendrimer complexes developed in this study are expected to be effective in introducing such drugs into antibodies. However, if the drug to be loaded is highly hydrophobic, it may be cases where it is necessary to consider the introduction of a hydrophilic polymer or other means to prevent a decrease in the performance of the antibody-drug conjugate. Currently, a more comprehensive approach to this issue may be effective as there is no widely applicable solution available yet. To meet this need, Dr. Hosoya and colleagues are looking to expand the range of available bio-high affinity chemistries that can effectively and efficiently introduce multiple functional molecules, including hydrophilic polymers, into proteins like antibodies. The proprietary tissue-permeable red light-triggered photocleavage linker is expected to effectively release drugs from antibody-drug conjugates and rapidly clear therapeutic agents for internal therapy from the body. Since alpha-ray emitting radionuclides are attracting attention as next-generation anti-cancer agents, we expect to develop new anti-cancer drugs by further advancing the results of this research and development, establishing synthesis technology for antibody-drug conjugates loaded with radionuclides, and promoting collaboration with companies and other organizations.