ゼヴァリンの開発経緯と放射免疫療法の今後

富士フイルム RI ファーマ株式会社・RIT 開発部

戸倉雅彦・藪内由史*

Development of Zevalin and future prospect of radioimmunotherapy

Zevalin, the first approved radioimmunotherapeutic agent for Non-hodgkin's lymphoma, is not only highly effective but also kind treatment even for elderly patients. In this review, we summarize development of Zevalin and future prospect of radioimmunotherapy (RIT), and introduce our candidate as a novel radioimmunotherapeutic agent for NSCLC treatment. Prospective selection of patients responds to RIT will be essential for approval in oncology.

非ホジキンリンパ腫を対象とし最初に承認された放射免疫療法薬剤のゼヴァリンは、効果が高いだけでなく、高齢者にも投与可能な患者に優しい治療薬である。本稿では、ゼヴァリンの開発と放射免疫療法 (RIT) の今後について要約し、さらに我々が開発中である非小細胞肺癌を対象とした RIT 製剤を紹介する。今後新規の RIT 製剤ががん領域において承認を得るためには、RIT に効果を示し得る患者の選択が必須になると思われる。

Masahiko Tokura, Yoshifumi Yabuuchi*

Keywords: Armed antibody, Zevalin, Radioimmunotherapy, Cross-fire effect, Cadherin-3

はじめに

2013 年 2 月、Kadcyla (Trastuzumab emtansine) が Her2 陽性の転移性乳癌を適応症として FDA に承認された。Kadcyla は抗 Her2 抗体 Trastuzumab と細胞傷害性薬剤 maytansine をリンカーで結合させた Antibody-Drug Conjugate (ADC) 薬剤で、腫瘍細胞に結合後細胞内に取り込まれ、ライソゾーム内で分解を受ける際に maytansine が抗体から遊離して抗腫瘍効果を発現する。

CD20 や Her2、EGFR など腫瘍に過剰発現するタンパクを標的とした抗体医薬が世に出て久しいが、最近では新規標的分子の探索から抗体に修飾を加える方向へシフトしつつある。放射免疫療法 (Radioimmunotherapy: RIT) や ADC は、毒素や放射性同位元素 (RI) を腫瘍細胞まで送達させるために抗体を用いる治療戦略である。こういった、武器を持たせた抗体 (Armed 抗体) は国内において臨

床で用いられている製品もいくつかあるものの、その全てが血液がんの治療薬であった。一般的に、150kDa もの大分子である抗体が血管を抜け出て間質を通過し腫瘍細胞へ到達する割合は極めて低いと考えられており^{1,2)}、間質に富む固形癌の治療に Armed 抗体は適さない、と考える研究者も数多くいたと想像される。固形癌の治療薬で最初の Armed 抗体医薬である Kadcyla は、その固定概念を覆した正に Epoch-making なプロダクトであると言え、今後は固形癌の分野でも ADC や RIT など Armed 抗体の開発がますます加速すると思われる。

本稿では、世界初の RIT 製剤イブリツモマブ チウキセタン (以下ゼヴァリン) の開発経緯を紹介し、化学療法剤に対する RIT の利点と欠点、さらには RIT 製剤の今後の展望について述べたい。

ゼヴァリンの開発経緯

ゼヴァリンは、マウス抗ヒト CD20 モノクローナル抗体に、キレート剤を介して RI を結合させた薬

* FUJIFILM RI Pharma Co., Ltd

図1 B細胞の分化とCD20の発現⁴⁾

剤で、日本ではCD20陽性の再発・難治性低悪性度B細胞性非ホジキンリンパ腫およびマントル細胞リンパ腫を対象に、イメージング用のゼヴァリンインジウム(¹¹¹In標識抗体)と治療用のゼヴァリンイットリウム(⁹⁰Y標識抗体)がキットとして販売されている。

(1) 標的抗原の選定

ゼヴァリンの標的分子であるCD20は、Bリンパ球の細胞膜表面に発現している約35kDaの膜貫通型タンパクであり、B細胞の活性化や増殖、またはCa²⁺輸送に関与しているとされている³⁾。また次のような特徴を有する。①他の既知タンパクとの相同性がない、②成熟B細胞や活性化B細胞のみに高発現し、造血幹細胞、Pre-pre(Pro) B細胞では認められず、形質細胞に分化すると発現が失われる(図1)、③ほとんど全てのB細胞性リンパ腫で高発現している。特に②の特性から、正常B細胞は幹細胞より再び分化し増殖することができるため、CD20を標的とした治療においてはB細胞の枯渇を引き起こさないと考えられた。以上の理由により、B細胞性非ホジキンリンパ腫におけるRITの標的分子としてCD20が選択された。

(2) 放射性核種の選定

当初ゼヴァリンの治療用核種として、すでに使用経験が豊富であったベータ核種のヨウ素-131(¹³¹I)が候補とされたが、ゼヴァリンの開発企業 Biogen Idec 社(当時 Idec 社、米国)は最終的にイットリウ

ム-90(⁹⁰Y)を選択した。その理由は次の通りである。①⁹⁰Yは純ベータ核種でありガンマ線を放出しないため、¹³¹Iのような病院内管理区域での患者の隔離が不要⁵⁾。②物理的半減期が64.1時間であり、¹³¹Iの192時間と比べて短時間で生体内から消失する。③ベータ線の飛程距離が5.3mmと¹³¹Iの0.8mmより長いため、結合した腫瘍細胞だけでなく近傍の腫瘍細胞にも抗腫瘍効果をもたらす

図2 Cross-fire effect⁶⁾

(図 2: Cross-fire effect)。④ ^{90}Y 標識抗体の安定性が ^{131}I 標識抗体に比べて高く、 ^{90}Y が容易に抗体から脱離しない。

一方、 ^{90}Y のベータ線は体外へは透過しないため、腫瘍や正常組織への分布をイメージングにより確認することは不可能である。そこで透過力が高くイメージング可能なガンマ線を放出し、物理的半減期が ^{90}Y と近いガンマ核種のインジウム-111 (^{111}In : 半減期 67.3 時間) を用いることが検討され、 ^{90}Y 標識抗体と ^{111}In 標識抗体の生体内分布にほとんど差がないことが動物実験の結果から確認されたため、イメージング用の核種として選択された。

(3) 製剤的安定性の確保

ゼヴァリンイットリウムから放出されるベータ線は、その電離作用により活性酸素種を生成し、細胞の DNA 切断などの損傷を与えること(放射線の間接作用)が主な薬効発現機序である。しかし標識調製後のゼヴァリン注射液中ではすでにベータ線が放出されており、抗体自体が電離作用によって変性等のダメージを受ける。これを回避すべく、抗体へのダメージを代わりに受ける物質として、ゼヴァリン注射液調製用緩衝液にヒト血清アルブミンが添加されたが、安定性の担保をより確実にするためにゼヴァリンの標識調製は投与前に医療施設で実施されることとなった。

(4) リツキシマブの前投与

先述の通り、CD20 は成熟 B 細胞及び B 細胞性リンパ腫に特異的に発現する抗原であるが、これらの細胞は循環血中・脾臓にも多く存在するため、ゼヴァリンのみを投与すると腫瘍よりも脾臓に多く集積する可能性が、担がんマウスを用いた実験結果から示唆されていた。RI 非標識抗体の前投与によって腫瘍以外の組織への RI 標識抗体の結合を妨げる、いわゆるマスキング効果が報告されており^{7,8)}、ゼヴァリンの臨床試験においても非標識抗体の前投与の検討が行われた。ゼヴァリンインジウム投与後の生体内分布検討の結果、非標識抗 CD20 抗体の前投与を行わなかった場合、CT で確認された腫瘍のうち 18% しか描出されなかったが、前投与した場合描出された腫瘍数は 56 ~ 92% に増加した。また、非標識抗体の前投与により脾臓における放射線の吸

収線量は 1/4 まで抑制され、腫瘍組織における吸収線量は約 2.4 倍まで増加した(図 3)。

以上より、ゼヴァリンを標的腫瘍へ特異的に集積させるためには非標識抗 CD20 抗体の前投与が効果的であることが臨床でも確認され、非ホジキンリンパ腫の治療で既に用いられていたリツキシマブを前投与とするゼヴァリンの投与法が確立された。

RIT の利点と欠点

従来の化学療法剤あるいは分子標的薬に対して RIT が優れる点としては、次の 4 つが挙げられる。

1. 抗体が結合していない近傍の腫瘍細胞にも抗腫瘍効果を発揮する

分子標的薬は結合した腫瘍細胞にのみ抗腫瘍効果をもたらす。また、ADC 薬剤の薬効発現には抗体の細胞内在化(Internalization)が必須である。しかし RIT の場合は Internalization が不要であるばかりか、腫瘍細胞の膜表面に結合しなくても腫瘍近傍に抗体が存在すれば Cross-fire effect により薬効をもたらす得る。特に固形癌では標的分子の不均一な分布(Heterogeneity)が治療において克服すべき重要な課題とされているが、RIT は Heterogeneity の有無に関わらず抗腫瘍効果を発揮できる可能性を有する。

2. 高い QOL が得られる

近年の分子標的薬の開発傾向としてマルチターゲット化が挙げられる。例えば EGFR だけでなく VEGFR や他の標的分子に対しても阻害活性を示すいわゆるマルチキナーゼ阻害剤は、従来の分子標的薬に比べ薬効が増強した反面、毒性も増している。

ゼヴァリンの有害事象のうち Grade 3/4 を占めるのは血液毒性のみである。一般的な化学療法で頻発する嘔気・嘔吐、下痢、口内炎、脱毛、末梢神経障害などは患者の QOL を著しく低下させ、治療のコンプライアンスを妨げる主因となり得るが、こういった副作用は RIT においては発生頻度・Grade 共に極めて低い(表 1)。ゼヴァリンの血液毒性は患者にとって自覚がない上に、血小板数などの減少も急激ではなく緩徐であり、外来管理で充分対処可能であるため、高い QOL が得られる治療法であると

図3 非標識抗体による前投与の有無別・臓器別吸収線量⁹⁾

表1 国内臨床試験第I相およびII相におけるゼヴァリンの有害事象発生頻度 (N=55、承認時)¹⁰⁾

有害事象の種類		発現例数	発生頻度 (%)	
			全グレード	グレード3 + 4
血液毒性	リンパ球数減少	47	85.5	78.2
	好中球数減少	47	85.5	69.1
	血小板数減少	47	85.5	58.2
	白血球数減少	47	85.5	69.1
	ヘモグロビン減少	38	69.1	21.8
	ヘマトクリット減少	37	67.3	10.9
	赤血球数減少	35	63.6	10.9
非血液毒性	血中乳酸脱水素酵素 (LDH) 増加	15	27.3	0
	倦怠感	13	23.6	0
	血中ビリルビン増加	12	21.8	1.8
	頭痛	11	20	0
	便秘	10	18.2	0
	口内炎	10	18.2	0
	発熱	10	18.2	0
	悪心	9	16.4	0
	アラニン・アミノトランスフェラーゼ (ALT) 増加	8	14.5	0
	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 増加	7	12.7	0
	尿中血陽性	7	12.7	0
	下痢	7	12.7	1.8
	食欲不振	7	12.7	0
	胃不快感	6	10.9	0
	皮下出血	6	10.9	0
	鼻咽頭炎	6	10.9	0

グレード分類はNCI-CTC (National Cancer Institute - Common Toxicity Criteria, Version 2.0) による

考えられる。

3. 費用対効果が高い

本邦においてゼヴァリンの治療を1回受けるとおよそ500万円かかる。しかし、ゼヴァリンイットリウムの投与は1回きりである上、治療効果が高いために、一般的に考えられているよりはるかに費用対効果の高い治療法である。通常の抗体医薬では、1回当たりの単価はゼヴァリンより安いものの、何クールも投与し続けるためトータルの薬価ではゼヴァリンより高くなる事例も存在する。なお、年齢や所得によって変わるが、日本では高額医療費制度により、ゼヴァリン治療を最大でも20万円程度の自己負担額で受けることが可能。

4. 遺伝子変異がんに対しても有効

RITは放射線によって腫瘍細胞のDNA損傷をも

たらすため、がんのシグナル伝達系に影響を受けないのが最大の利点であろう。分子標的薬が直面している臨床上的問題は耐性である。極めて複雑に分岐したがんのシグナル伝達系において、一つのカスケードをブロックしたとしても代替のパスウェイによって増殖シグナルは伝達され、標的分子の下流に位置するタンパクの変異によってその薬効はキャンセルされる。一方RITの薬効発現は放射線の作用によるため、受容体など細胞表面に発現するタンパクから開始されるシグナル伝達系を全て無視して、直接細胞のDNAへ作用をおよぼすことが可能である(図4)。

ゼヴァリンが2002年に米国で販売開始され、さらに2番目のRIT製剤としてBexxar(¹³¹I標識抗

図4 RI標識抗体からの放射線によるDNA傷害作用は、がんの複雑なシグナル伝達系や途中のタンパク変異にほとんど影響を受けない(図は文献¹¹⁾を改変)

CD20 抗体：本邦では未承認)が翌年の 2003 年に承認されるも、その後 RIT 製剤の上市が続くことはなく現在に至る。一時期“魔法の弾丸”として期待された RIT であるが¹²⁾、開発が進められていた固形癌を対象とした RIT 製剤が次々とドロップし、下火になっていった。抗体の腫瘍選択性が低く薬効が出ない、あるいは治療域が狭い、などの理由が多かったと推察されるが、RIT 製剤の開発自体のハードルが高いことも原因の 1 つと考えられる。以下に RIT の欠点を挙げる。

1. 薬効発現がコントロールできない

ADC の場合、抗体と結合した毒素の細胞内遊離により薬効を発現するようデザインされているが、RIT において RI の壊変(放射線の放出)は自発的な物理現象でありコントロールできない。よって、患者に投与された後、腫瘍に到達する前にはすでに壊変が終わっている所謂“空の”RI 標識抗体も一部存在する。

2. 医療機関の施設整備や扱う医療関係者のトレーニングが必要

RI を扱う施設では、医療法や放射線障害防止法などの規制法に従い遮蔽など一定の基準を満たす設備が必要とされる。また、ゼヴァリンの場合は医療施設内で RI 標識作業が行われるが、血液内科医と放射線科医(薬剤師が標識を実施する場合は薬剤師も)のトレーニングがゼヴァリン治療開始の要件となっている。

3. 治療に関わる診療科が複数にまたがる

ゼヴァリンを例に挙げると、対象疾患が非ホジキンリンパ腫であるため血液内科医が関わるのはもちろんのこと、放射線科、核医学の医師も関与するため、診療科間の横断的な協働が必須となる。

今後の展望

ゼヴァリンインジウムは、骨髄への著明な取り込みが確認され重度な骨髄抑制のリスクが高い患者を事前に予測するために用いられている。こういった不適格生体内分布が認められた場合はゼヴァリンイットリウムを投与できなくなるが、ゼヴァリンイットリウム投与不可の例が極端に少ないこと、お

よび不適格と診断された例に偽陽性が半数以上含まれていたことを理由に、米国では 2011 年 11 月からゼヴァリンインジウムによるイメージングが削除された¹³⁾。この例に示されるように、RIT においては患者選択の最適化がなされているとは言い難い。また、今まで固形癌における RIT 製剤の開発が全て失敗に終わっている要因の 1 つとして、薬効が期待される患者(レスポnder)の選択が治験に組み込まれていないことが挙げられる。

ある疾患の全ての患者を対象とするのではなく、ハーセプチンのようにバイオマーカーでレスポnderを選択する治療戦略がますます重要となってくるであろう。RIT は未だ発展途上にある治療法であるが、こういった戦略を取り込むことでゼヴァリンに次ぐ治療薬として上市される可能性を秘めている。最後に我々の RIT 製剤開発候補品をここで紹介させていただきたい。

富士フイルムグループが開発中の RIT 製剤の標的分子であるカドヘリン-3(CDH3)は、1 回膜通過型タンパクで二量体を形成し、細胞間接着に関与するカドヘリンファミリーの 1 つである。膵臓癌や肺癌を初めとする固形癌において過剰発現が認められ、さらにその発現と乳癌患者の予後が相関していることが文献上報告されている¹⁴⁾。ヒト遺伝子発現プロファイル解析により CDH3 が腫瘍特異的に発現することがベルセウスプロテオミクス(PPMX)社により確認されたため、我々と PPMX は *In vitro*、*In vivo* での検討により抗 CDH3 抗体のスクリーニングを行い、RIT の候補抗体を見出した。この抗体をイットリウム-90 で標識した FF-21101(⁹⁰Y)は、非常に高い腫瘍集積を示し、顕著な体重減少あるいは遷延性の血液毒性を発現することなく、ヒト肺癌皮下移植マウスの腫瘍増殖を完全に抑制した(図 5)。さらにインジウム-111 で標識した FF-21101(¹¹¹In)をカニクイザルに投与して得た経時的体内分布から、ヒトに FF-21101(⁹⁰Y)を投与した際の正常組織の吸収線量を算出した結果、主要臓器において被ばく量は充分安全域であることを確認した。FF-21101 はサル組織への交差反応性を示すため、本実験結果はヒトにおける安全性を示唆するものと考えられる。我々は、抗体の腫瘍集積が画像で

図5 PET核種 ^{64}Cu 標識FF-21101による担癌マウスイメージング(左)と、治療核種 ^{90}Y 標識FF-21101による薬効(右)
PETイメージングは投与45時間後に撮像。治療実験は3.7MBqの標識抗体をヒト肺腺癌(NCI-H1373)移植マウスに単回投与し、陰性コントロール抗体として同量の ^{90}Y 標識ヒトIgGを用いた(N=6)。

確認可能なPET薬剤をRIT薬剤と同時に開発し、治療適格者のスクリーニングを組み込むことで、より多くのベネフィットを固形癌患者にもたらし得るべく抗CDH3抗体のRIT薬剤開発を進めている。2014年には米国で非小細胞肺癌の患者を対象とした臨床試験を開始する予定である。

おわりに

副作用が少なく高い薬効が期待された抗体医薬は、リツキサンやハーセプチン、アバスタチンなどの上市によってオンコロジーの領域に確固とした地位を築くことに成功した。しかし現在では抗体医薬の標的分子は枯渇しつつあり、さらにADCCやCDCなど患者の免疫機能に依存的な薬効が限界を示している中、再びArmed抗体に注目が集まりつつある。特にRITでは従来用いられてきたベータ核種だけでなく、より抗腫瘍効果の高いアルファ核種を用いたRITの臨床試験も企業の主導により始まっている。アルファ線の飛程は細胞2、3個分と短いもの

の、腫瘍細胞のDNAに及ぼす効果は極めて高く、修復不可能な損傷を引き起こすため、微小転移や腹膜播種など小さな腫瘍に対する効果が期待されている¹⁵⁾。

昔からがん治療の三本柱は、外科的療法、化学療法、放射線療法であり、RITはこのうち化学療法と放射線療法の2つの性質を併せ持つ。アルファ線とベータ線は飛程が大きく異なるため、治療の対象となる腫瘍の大きさや場所によって使い分けるのがベストであろう。遠隔転移をきたした患者が選択し得る唯一の治療法は化学療法であるが、RITは体内に散らばった腫瘍細胞のターゲティングにより薬効を示す可能性を有しており、今後の開発によって新たな治療の選択肢を提案し得る。さらに、ゼヴァリンの治療例にもあるように、RIT薬剤は高齢者にも投与可能でかつシビアな非血液毒性がほとんど見られないという、患者に優しい稀有な抗がん剤である。近年、がん治療ではQOLの向上が重要視されており、その点においてもRITの臨床的価値は今後高まると思われる。

文献

- 1) Thurber GM, Zajic SC, Wittrup KD. Theoretic criteria for antibody penetration into solid tumors and micrometastasis. *J Nucl Med.* 48(6): 995-999, 2007.
- 2) Jain M, Venkatraman G, Batra SK. Optimization of radioimmunotherapy of solid tumors: biological impediments and their modulation. *Clin Cancer Res.* 13(5): 1374-1382, 2007.
- 3) Uchida J, Lee Y, Hasegawa M, Liang Y, Bradney A, et al. Mouse CD20 expression and function. *Int Immunol.* 16(1): 119-129, 2004.
- 4) Press OW. Radiolabeled antibody therapy of B-cell lymphomas. *Semin Oncol.* 26: 58-65, 1999.
- 5) Witzig TE, White CA, Wiseman GA, Gordon LI, Emmanouilides C, et al. Phase I/II trial of IDEC-Y2B8 radioimmunotherapy for treatment of relapsed or refractory CD20+ B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 17(12): 3793-3803, 1999.
- 6) Spies SM. Imaging and dosing in radioimmunotherapy with yttrium 90 ibritumomab tiuxetan (Zevalin). *Semin Nucl Med.* 34(1 Suppl 1): 10-13, 2004.
- 7) Bianco JA, Sandmaier B, Brown PA, Badger C, Bernstein I, et al. Specific marrow localization of an ¹³¹I-labeled anti-myeloid antibody in normal dogs: effects of a "cold" antibody pretreatment dose on marrow localization. *Exp Hematol.* 17(9): 929-934, 1989.
- 8) Buchsbaum DJ, Wahl RL, Glenn SD, Normolle DP, Kaminski MS. Improved delivery of radiolabeled anti-B1 monoclonal antibody to Raji lymphoma xenografts by predosing with unlabeled anti-B1 monoclonal antibody. *Cancer Res.* 52(3): 637-642, 1992.
- 9) Knox SJ, Goris ML, Trisler K, Negrin R, Davis T, et al. Yttrium-90-labeled anti-CD20 monoclonal antibody therapy of recurrent B-cell lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2(3): 457-470, 1996.
- 10) ゼヴァリンインタビューフォーム 8.2 - 項目別副作用発現頻度及び臨床検査値異常一覧
- 11) Abcam® EGF Pathway Poster
- 12) Forero A, Lobuqlio AF. History of antibody therapy for non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol.* 30(6 Suppl 17): 1-5, 2003.
- 13) Spectrum Pharmaceuticals Inc. プレスリリース 'FDA Approves the Removal of the Bioscan Requirement for Zevalin Treatment' (2011.11.21)
- 14) Paredes J, Albergaria A, Oliveira JT, Jeronimo C, Milanezi F, et al. P-cadherin overexpression is an indicator of clinical outcome in invasive breast carcinomas and is associated with CDH3 promoter hypomethylation. *Clin Cancer Res.* 11: 5869-5877, 2005.
- 15) Song H, Hobbs RF, Vajravelu R, Huso DL, Esaias C, et al. Radioimmunotherapy of breast cancer metastases with alpha-particle emitter ²²⁵Ac: comparing efficacy with ²¹³Bi and ⁹⁰Y. *Cancer Res.* 69(23): 8941-8948, 2009