新規 DNA トポイソメラーゼ I 阻害剤を搭載する 抗体薬物複合体の研究開発

第一三共株式会社 バイオ・癌免疫ラボラトリー*

阿部有生*・中田 隆*・我妻利紀*

Development of novel DNA topoisomerase I inhibitor based ADC technology

Antibody-drug conjugate (ADC) represents a promising class of drugs with a wider therapeutic index than conventional chemotherapy due to their efficient and selective drug delivery. We have developed a novel ADC technology with a potent DNA topoisomerase I inhibitor exatecan derivative. The major advantages of the technology are high and homogeneous drug to antibody ratio, potent anti-tumor activity with bystander effect, less safety concerns due to the stable linker limiting the release of free drug in the circulation and short systemic half-life of the payload. Using this technology, we generated a new anti-HER2 ADC called DS-8201a. DS-8201a was effective against T-DM1 -insensitive patient-derived xenograft (PDX) models with high HER2 expression and also demonstrated anti-tumor efficacy against breast cancer PDX models with low HER2 expression. The results of Phase 1 study suggest that DS-8201a was well tolerated and clearly active in breast cancer patients including T-DM1 refractory patients, trastuzumab treated gastric cancer patients and other HER2 expressing and/or mutated cancer patients. Currently, Phase 2 and Phase 3 trials are on-going across multiple tumor types. We also confirmed the versatility of the technology to different combinations of targets and antibodies and showed importance of this new class of novel topoisomerase I inhibitor-based ADC technology.

がん細胞に結合する抗体に、細胞毒性を有する薬物を結合させた抗体薬物複合体 (Antibody-Drug Conjugate : ADC) は、選択的かつ効果的にがん細胞を死滅させるとともに、全身毒性軽減が期待される次世代抗体医薬品である。第一三共では独自技術の研究を進め、DNA トポイソメラーゼ I 阻害剤エキサテカンの新規誘導体を薬物本体とする薬物リンカー技術確立した。本技術は先行技術に比べ高比率かつ均一に薬物を抗体に結合させることが可能、バースタナダー効果に基づく強力な抗腫瘍活性を発揮、リンカーの高い安定性と遊離薬物の血中半減期が短いという安全性にも配慮した特徴を有する。抗HER2抗体に本技術を適用した抗HER2 ADC (DS-8201a) をリードプロジェクトとして研究開発を進めた結果、第I相臨床試験により、がん患者における安全性と忍容性、およびHER2発現またはHER2変異を有する乳がん、胃がん、肺がん、大腸がんなど複数の患者での有効性が確認された。現在、第II、第III相の複数の臨床試験を実施中である。さらに、本技術のHER2以外の標的、抗体への適合性も確認され、新規DNAトポイソメラーゼI阻害剤のADC技術の有用性が示されつつある。

Yuki Abe*, Takashi Nakada*, Toshinori Agatsuma*

Keywords: ADC, HER2, exatecan, bystander effect

1. はじめに

抗体薬物複合体 (Antibody-Drug Conjugate : ADC) の基本概念、すなわち、「抗がん剤を抗体に

結合してミサイル療法に用いる」という概念は古くから提唱されてきたものの、プロトタイプ製の製剤では目ぼしい臨床成績が得られてこなかった。ADCに適した薬剤の選択、生体内でのリンカーの安定性制御の克服に加えて、抗体取得技術や薬剤送達能の高い抗体を選抜するスクリーニング技術の向上に

* Biologics & Immuno-Oncology Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

期間を要した。近年、抗CD30抗体にチューブリン阻害剤のアウリスタチンEを結合させた Adcetris[®] (一般名：ブレンツキシマブ ペドチン)が、ホジキンリンパ腫と未分化大細胞リンパ腫の治療薬として2011年にFDAに認可され¹⁾、また、抗HER2抗体のトラスツズマブにチューブリン阻害剤のDM1を結合させた Kadcyla[®] (一般名：ado-トラスツズマブ エムタンシン)は、初めて固形がん(乳がん)を適応症として2013年にFDAに認可された²⁾。ADCは適応拡大が期待される次世代抗体医薬品の1カテゴリーとして注目度が高まっている。一方、ADC技術に関しては、いまだ改良の余地が多く残されており、さまざまながん種に適用でき、かつ、より強力な治療効果を発揮する新規ADC技術の創製が期待されている。本稿では、筆者らが開発した新規DNAトポイソメラーゼI阻害剤を搭載するADC技術、および、新規HER2 ADC DS-8201aの研究開発動向について概説する。

2. 新規ADC技術の概要

第一三共が開発したADC技術には7つの特徴がある(図1)。ADC薬物は、新規(特徴1)かつ高活性(特徴2)のDNAトポイソメラーゼI阻害剤エキサテカンの誘導体DXd(化学名：*N*-[(1*S*,9*S*)-9-エチル-5-フルオロ-2,3,9,10,13,15-ヘキサヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10,13-ジオキソ-1*H*,12*H*-ベンゾ[*de*]ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-*b*]キノリン-1-イル]-2-ヒドロキシアセトアミド)である。DXdは細胞膜透過性を有するため、がんの微小環境中において抗体標的のがん細胞のみならずその周辺のがん細胞をも治療するバイスタンダー効果を発揮しうる(特徴3)。一方、DXdは生体内での血中半減期が短く、全身毒性の軽減効果を期待できる(特徴4)。この化合物に最適化されたリンカーは生体内で安定(特徴5)、かつ、がん細胞内の酵素により選択的に切断される(特徴6)。抗体の4対の鎖間ジスルフィド結合を還元して生成するシステイン残基にチオエーテル結合することにより、抗体1個あたり平均約8個の均一性の高いADC

図1 第一三共 ADC技術の特徴

製剤を合成することができる(特徴7)。

3. ADC技術開発の経緯

ADCの独自技術開発および医薬品創生を目指して、抗体医薬、低分子医薬の専門性を有する研究者からなる混成チームを2010年に編成した。このチームにおいて、社内化合物を活用し、化合物誘導体合成、薬理評価、動態研究、安全性評価の一連の研究プロセスを構築し、複数の抗体に適用しうる汎用性の高い新規の薬物リンカーを模索した。

ADC薬物として新規DNAトポイソメラーゼI阻害剤を開発するために、リード化合物として、水溶性カンプトテシン誘導体のエキサテカン(化学名:(1*S*,9*S*)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-1,2,3,9,12,15-ヘキサヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10*H*,13*H*-ベンゾ[*de*]ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-*b*]キノリン-10,13-ジオン)に着目し^{3,4)}、抗体を用いる能動的ターゲティングの効果に期待して、エキサテカンの新規誘導体の探索合成研究、および、ADC用リンカーの最適化研究に着手した。

このエキサテカン誘導体のためのADC技術開発のポイントは、抗体から遊離される新規エキサテカ

ン誘導体の設計、ADCとしての基本物性(凝集性、薬物結合数など)、薬効、体内動態、および、安全性の一連の総合評価にあった。すなわち、エキサテカン誘導体の合成とリンカーの組み合わせによる探索合成研究を実施し、抗HER2抗体を用いて数百種類以上のADCを合成し、各種評価を行って、有用な新規薬物リンカーを選抜した。リンカーは切断タイプと非切断タイプの双方を比較検討したうえで切断タイプを選択した。薬物リンカーの結合様式は、抗体の鎖間システイン残基、あるいは、抗体のリシン残基を比較のうえ、鎖間システイン残基への結合様式を採択した。薬物リンカー展開の1例を図2に示した。特に、Entry 7のリンカー薬物構造が、高い薬物結合数を達成し、かつ凝集体含有率が低く、高活性を示し、本ADCをDS-8201aと命名した。

4. 新規HER2 ADC (DS-8201a) の創薬

抗HER2抗体であるトラスツズマブは、HER2の細胞外ドメインIVに特異的に結合し、抗体依存性細胞障害(ADCC)誘導やHER2からのシグナル伝達阻害を介して抗がん効果を発揮する^{5,6)}。トラスツズマブはHER2を過剰発現した腫瘍に対して高い効果を示すことから、HER2を過剰発現している転

移性乳がん患者での治療薬として、米国で1999年、わが国において2001年に上市された。乳がんにおけるトラスツズマブの治療効果は十分に証明されているが、いまだトラスツズマブが薬効を示さない、または投与初期に薬効を示しても後に耐性化する患者が多数存在する。

一方、トラスツズマブが十分な薬効を示さないHER2を過剰発現するがん患者のために、トラスツズマブにリンカー構造を介して抗腫瘍性薬物を結合したT-DM1⁷⁾(Kadcyla[®])、HER2の細胞

図2 薬物リンカーの展開

図3 DS-8201a から遊離薬物 (DXd) が放出する機構⁹⁾

図4 DS-8201aの薬物結合数の分布(疎水性相互作用クロマトグラフィー)

外ドメイン II を標的とし、ヘテロダイマー形成を阻害するように設計された PERGETA[®] (一般名: ペルツズマブ[®]) が開発された。しかしながら、有効性や適応範囲はまだまだ十分ではなく、医療の未充足ニーズが存在している。そこで、新規の抗HER2 ADCである DS-8201a が、この医療ニーズを満たす医薬品になりうるか詳細に検証を行った。

DS-8201a の薬効メカニズムは、抗体の内在化能によりがん細胞内に取り込まれた後、がん細胞内のリソソーム酵素による分解を受け、リンカー内の GGFG ペプチドの C 末端部分が加水分解された後に、アミノメチレン部位が自己分解することで、活性本体であるエキサテカン誘導体 DXd が遊離されると推定されている (図3)。DS-8201a の物性評価の結果、抗体あたりの平均薬物数は約 7.7 であり、DAR8 ADC を主成分とする均一性の高い ADC 製剤が再現性よく合成されることが確かめられた (図4)。

図5 胃がん細胞株NCI-N87担がんマウスに対する DS-8201aの抗腫瘍効果⁹⁾

A) DS-8201a の用量依存的な抗腫瘍効果。

B) DS-8201a の HER2 発現選択的な抗腫瘍効果。

次に、DS-8201a の *in vivo* 薬効データを図5に示した。DS-8201a は HER2 陽性の胃がん細胞株である NCI-N87 に対して単回投与で用量依存

図6 DS-8201aの抗腫瘍効果⁹⁾

A) 胃がん患者由来NIBIO G016モデルにおけるDS-8201aの抗腫瘍効果。 B) 乳がん患者由来ST313モデルにおけるDS-8201aの抗腫瘍効果。

的な有効性を示し、1 mg/kg以上の投与群においては腫瘍退縮を伴う顕著な薬効が確認され、効果は3週間以上持続した(図5 A)。また、DS-8201aのHER2発現選択的な抗腫瘍効果を確認するために、DS-8201aと同一の薬物リンカーを有するHER2非結合性のコントロールIgG抗体ADCと、DS-8201aの抗体部分である抗HER2抗体の有効性を調べた結果、コントロールIgG抗体ADCに薬効は認められず、かつ、抗HER2抗体よりもDS-8201aの薬効は顕著に増大した(図5 B)。さらに、他のHER2非発現細胞株でDS-8201aの効果が認められなかったことも併せて、DS-8201aはHER2発現選択的に高い有効性を発揮することが確認された¹⁰⁾。

さらに、DS-8201aの臨床効果を予測する非臨床薬理データを取得するために、抗HER2抗体ADCである既承認薬T-DM1との比較検討を実施した。T-DM1はトラスツズマブにチューブリン阻害剤のDM1を抗体あたり平均3.5個結合した製剤である。異種の細胞に拒絶反応を起こさない超免疫不全マウスに患者由来のがん組織を移植したPatient-derived Xenograft : PDXモデルに対する

抗腫瘍効果を図6示した。NIBIO G016は、胃がん患者由来PDXモデルであり、組織免疫化学染色法(IHC)3+のHER2高発現モデルである(図6 A)。T-DM1の薬効は10 mg/kg投与でも限定的であるのに対し、DS-8201aは3 mg/kg以上の投与で腫瘍退縮効果が認められた。また、IHC1+のHER2低発現モデルである乳がん患者由来PDXモデルST313においても、DS-8201aの単回投与による腫瘍退縮効果が確認されている(図6 B)。現在、T-DM1はIHC3+乳がん患者およびIHC2+、蛍光*in situ* ハイブリダイゼーション(FISH)陽性乳がん患者に適用されている。今回の結果からT-DM1の適用外のHER2低発現の乳がん患者、および、HER2陽性の胃がん患者にも、DS-8201aが著明な効果を発揮する可能性が示された。

また、DS-8201aとT-DM1との薬効メカニズムの違いについて検証を行った。HER2陽性のがん細胞とHER2陰性のがん細胞をマウスに混合移植し、*in vivo*で共培養を行った後、DS-8201aとT-DM1をそれぞれ投与した結果、T-DM1はHER2陽性のがん細胞を治療したが、HER2陰性のがん細胞が生存することが免疫組織染色の結果から明らかになっ

図7 DS-8201aにおけるバイスタンダー効果の検証

た(図7)。一方、DS-8201a投与によりHER2陽性のがん細胞のみならずHER2陰性のがん細胞も治療されることが確認された。T-DM1からの遊離薬物は、抗体由来のリシン残基に薬物リンカーが結合したLys-SMCC-DM1である。この遊離薬物は細胞膜透過性をもたないため、HER2陽性細胞周辺のHER2陰性がん細胞には浸透せず、バイスタンダー効果が発揮されなかったと考察された。一方、DS-8201aの遊離薬物DXdは細胞膜透過性を有することから、HER2陰性のがん細胞にも効果が発揮されたと考えられた。さらに、同じマウスの反対側にHER2陰性がん細胞のみを移植した場合、遠隔地のHER2陰性がん細胞への治療効果は確認されず、このバイスタンダー効果はHER2陽性のがん細胞周辺の局所の現象と捉えることができた。これらを総合すると、DS-8201aは、抗体あたりの薬物数がT-DM1の約2倍であること、遊離薬物のMOAの違い、バイスタンダー効果を発揮することなど、複合的な要因でT-DM1よりも高い治療効果を発揮したと考察された¹¹⁾。

このようにDS-8201aは、良好な物理化学的性質や高い有効性を発揮するが、げっ歯類と非げっ歯類の血中での高い安定性、および、ヒト臨床試験実施をサポートする安全性プロファイルも確認されている。1例として、非担がんの正常カニクイザルにおけるDS-8201aの薬物動態データを図8に示し

図8 カニクイザルのDS-8201a薬物動態⁹⁾

た。抗体薬物複合体としてのDS-8201aの血中濃度推移、全抗体量(抗体薬物複合体と薬物非結合抗体)としての血中濃度推移、および、遊離薬物の血中濃度推移を測定した。DS-8201aは抗体薬物複合体として高い安定性を有し、遊離薬物は投与直後に若干量検出される程度で、その後は検出限界以下であった。

そして、DS-8201aの非臨床安全性試験を、抗原と抗体との結合能のデータに基づき、DS-8201aの交差種であるサルと非交差種のラットを用いて実施した。ラットまたはサルに対し3週間の投与間隔で3回の静脈内投与を実施した結果、ラットでは、供試動物の10%に重篤な毒性が発現する投与量(Severe Toxic Dose: STD10)は197 mg/kg以上

であった。また、サルではDNAトポイソメラーゼI阻害剤の主要な毒性である骨髄抑制は、30 mg/kgまで認められず、重篤な毒性を発現しない最大投与量(highest non-severely toxic dose: HNSTD)は30 mg/kgとなった。いずれの動物種においてもDS-8201aの忍容性は良好であり、広い安全域が示唆されたことから、Phase I試験が計画された。

5. 臨床開発状況と今後の展望

DS-8201aのPhase I試験は、複数用量のDS-8201aを用いた多施設共同非無作為非盲検第I相global first in human試験であり、2つのPartで構成された。Part 1は、DS-8201aの最大耐用量(MTD)あるいは次相推奨用量(RP2D)を検討する用量漸増パート、Part 2は展開用量パートであり、DS-8201aの安全性、忍容性、および有効性を確認中である。臨床試験の中間解析の結果から、HER2陽性乳がん、HER2低発現乳がん、HER2陽性胃がん、HER2発現またはHER2変異のその他の固形がんにおいて良好な有効性と忍容性が確認さ

れ^{12,13)}、FDAからHER2陽性の再発・転移性乳がん治療を対象として「画期的治療薬(Breakthrough Therapy)」指定を受け、また、本邦において、がん化学療法後に増悪したHER2過剰発現が確認された治癒切除不能な進行・再発の胃がん患者に対する治療として、「先駆け審査指定制度」の対象品目に指定された。現在、DS-8201aの上市に向けて、HER2陽性乳がん、胃がんのPhase II、III試験を含め、複数の臨床試験を実施中である。

最後に、当社の新規DNAトポイソメラーゼI阻害剤を搭載するADCの研究開発の展望について記載する。2010年よりHER2以外の標的、抗体のADC化の研究を推進し、薬物リンカーの適合性、汎用性を検証した結果、数多くのプログラムにDS-8201aと同じ薬物リンカーが適合することが確認された。現在、HER3、TROP2などを標的とする複数のADCプログラムの臨床開発、非臨床研究を実施中である。当社のADCパイプラインの早期の上市により、多様ながんに苦しむがん患者のための新治療法の提供に貢献できるものと考えている。

文献

- 1) P.D. Senter, *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, **30**, 631-637 (2012)
- 2) S. Dhillon, *Drugs*, **74**, 675-686 (2014)
- 3) 特開平5-59061号公報
- 4) 特開平8-337584号公報
- 5) C.A. Hudis, *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, **357**, 39-51 (2007)
- 6) C.L. Vogel, *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, **20**, 719-726 (2002)
- 7) G.D. Lewis Phillips, *et al.*, *Cancer Res.*, **68**, 9280-9290 (2008)
- 8) C.W. Adams, *et al.*, *Cancer Immunol. Immunother.*, **55**, 717-727 (2006)
- 9) 松村保広監修, 抗体薬物複合体(ADC)の設計開発, シーエムシー出版(2016)
- 10) Y. Ogitani, *et al.*, *Clin. Cancer Res.*, **22**, 5097-5108 (2016)
- 11) Y. Ogitani, *et al.*, *Cancer Sci.*, **107**, 1039-1046 (2016)
- 12) T. Doi, *et al.*, *Lancet Oncol.*, **18**, 1512-1522 (2017)
- 13) H. Iwata, *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, **36**, suppl:abstract #2501 (2018)