新薬開発状況

ゲムツズマブオゾガマイシンと癌ターゲット療法剤

今泉 正洋

要約：本邦においても特定の分子を標的とした抗体製剤が抗癌薬として承認されたが，米国では抗体に活性物質を結合したイムノコンジュゲートを使って殺細胞化合物や放射性同位元素を癌細胞に運び標的細胞選択的に強い作用を示す抗癌薬が承認されている．ゲムツズマブオゾガマイシンはヒト化抗 CD33 抗体に殺細胞化合物であるカリケアマイシン誘導体を結合したイムノコンジュゲートである．CD33 抗原に結合した後インターナリゼーションされてリソソーム内の酸性環境下でカリケアマイシン誘導体が遊離し，核内の DNA を切断して殺細胞作用を示す．ゲムツズマブオゾガマイシンは再発急性骨髄性白血病患者を対象とした臨床試験において良好な結果が得られ，2000 年に米国で承認された．本邦においても現在承認申請中である．さらに，近年米国では抗 CD20 抗体に放射性化合物を結合した 2 種類の放射性免疫療法剤も非ホジキンリンパ腫を適応症として承認されている．これらの薬剤はいずれも従来の化学療法剤の作用が期待できない再発難治の癌患者で有効性を示しており，イムノコンジュゲートにより特定の細胞を狙って活性物質を作用させる療法は今後の有望な癌治療法として期待される．

1. はじめに

癌細胞に特異的に発現する分子に選択的に作用すると期待されていた癌治療のための抗体製剤が近年，臨床使用されるようになってきた．本邦ではトラスツマブ（ハーセプチン®）が，HER2 過剰発現が確認された転移性乳癌を適応症として 2001 年に中外から，リツキシマブ（リツキサン®）が CD20 陽性の低悪性度または濾胞性 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適応症として同じく 2001 年に全薬工業 - 中外より発売されている．これらの抗体製剤はそれぞれ HER2 (1) や CD20 (2) を発現した標的腫瘍細胞に結合することにより抗原抗体反応を惹起し腫瘍細胞に対する細胞傷害性を発揮しているものと考えられる．ゲムツズマブオゾガマイシンはこれらの薬剤とは異なり抗 CD33 抗体と殺細胞活性をもつ低分子化合物の結合体（イムノコンジュゲート）で抗体は標的細胞へのデリバリーのために用いられ，低分子化合物により細胞傷害性を示すユニークな薬剤である．本稿ではゲムツズマブオゾガマイシンをはじめとして，放射性同位元素を結合した化合物を含む，現在抗癌薬として開発されているイムノコンジュゲートについて紹介する．

2. ゲムツズマブオゾガマイシン

ゲムツズマブオゾガマイシンはヒト化抗 CD33 抗体 hP67.6 と *N*-アセチルカリケアマイシンをリンカーで結合した構造をしている．カリケアマイシンは放線菌培養液より単離された抗腫瘍性抗生物質で DNA のマイナーグループに結合して切断し (3, 4)，強い殺細胞作用を示す．いくつかのカリケアマイシン誘導体はそのままではいずれも正常マウスにおける耐薬性が低く，最大耐薬量は担癌マウスにおける抗腫瘍作用の有効量を下回っていたが，腫瘍細胞の表面マーカーを標的とした抗体と結合させることにより，腫瘍細胞に対する選択性と良好な抗腫瘍作用が得られた (5)．カリケアマイシン誘導体が抗腫瘍作用を発揮するためには細胞内に取り込まれる必要があるが，CD33 抗原は結合した抗体がインターナリゼーションされることが知られており (6, 7)，ターゲットとして適切である．CD33 は骨髄細胞の表面マーカーとして知られ，正常骨髄系細胞に発現しているが (8)，骨髄芽球細胞が未分化のまま増殖する急性骨髄性白血病 (AML) 細胞において強く発現している (9~11)．さらに，初期の多能性造血幹細胞には発現していないため (12)，正常骨髄系細胞がターゲットとなり傷害されても CD33 陰性の幹細胞が守られており，休薬に

キーワード：ゲムツズマブオゾガマイシン，
急性骨髄性白血病，イムノコンジュゲート，
抗体，CD33

ワイス(株)医薬研究所非臨床調査室

(〒353-8511 埼玉県志木市柏町 1-6-34)

e-mail: imaizum@wyeth.com

原稿受領日：2004 年 4 月 26 日，編集委員会依頼原稿

Fig. 1 Chemical structure of gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®)

より骨髓細胞の再生が期待できる．このような背景から CD33 抗原は AML 治療のためのターゲット分子として最適と考えられた．インターナリゼーションされた後にカリケアマイシン誘導体が核内に取り込まれるためには抗体から遊離する必要がある．血中で遊離すれば，強い毒性を発揮することが予想されるため，体循環中に遊離せず，CD33 陽性細胞に取り込まれた後に遊離するようにリンカーをデザインする必要があった．ゲムツズマブオゾガマイシンに用いられているリンカーはリソソーム内の低い pH によりカリケアマイシン誘導体が遊離するようにデザインされ，CD33 陽性細胞への選択的な作用を可能としている (13) (Fig. 1)．

3. ゲムツズマブオゾガマイシンの臨床試験成績

臨床第 I 相試験は再発または難治の AML 患者を対象として点滴静注で行い，耐薬性が認められる患者については少なくとも 14 日間休薬後さらに 1 回か 2 回投与した (14)．

9 mg/m² の用量で第 II 相試験を行ったところ殆んど全例で骨髓抑制が惹起され，グレード 3 以上の重篤な好中球減少症および血小板減少症が認められた (15, 16)．これらの速やかな回復が認められ芽球が消失した完全寛解 (CR) と，血小板の回復が十分ではないもののその他の基準は満たしている CRp を含せて，奏効率 (OR) として評価したところ，OR は 60 歳未満で 34%，60 歳以上で 26%，全体で 32% であった．AML の化学療法に対する CR は高齢者

で低いことが知られているが，ゲムツズマブオゾガマイシンは高齢者においても十分に高い奏効率を示すことが認められた．敗血症や肺炎などの重篤な感染症，悪寒，発熱，低血圧などの点滴投与関連毒性も認められたが，脱毛は認められず，重篤な粘膜炎の発現も低かった．臨床試験で，ヒト化抗 CD33 抗体に対する抗体は検出されなかった．

比較的良好な副作用プロファイルと高齢者においても高い奏効率が認められたため，60 歳以上の CD33 陽性初回再発 AML 患者に対する治療薬として 2000 年 5 月に米国で承認された．ワイス社はこのような海外データをもとに本邦においても臨床第 I 相および第 II 相試験を行い，再発難治 AML を対象として現在承認申請中である．臨床試験において認められた肝機能異常の多くは一過性のものであったが，肝毒性に関しては致死的な肝静脈閉塞症が報告されており，注意を要する．肝類洞には Kupffer 細胞などの CD33 発現細胞の存在が知られているが，これらの細胞に対するゲムツズマブオゾガマイシンの作用が肝静脈閉塞症の発現に関与しているか否かについては不明である (17)．

CD33 陽性の AML 患者においてもゲムツズマブオゾガマイシンに反応性を示さない例が多く認められる．ゲムツズマブオゾガマイシンに対する耐性に関しては，多剤耐性に関与する P 糖タンパク (Pgp) や多剤耐性関連タンパク (MRP) の発現によるゲムツズマブオゾガマイシンに対する活性の低下が報告されている (18~20)．さらに，アポトーシスを抑制する Bcl-2 や Bcl-xL の過剰発現によっても

Table 1 Comparison of gemtuzumab ozogamicin and CMC-544

	Gemtuzumab ozogamicin	CMC-544
Target cancer	Acute myeloid leukemia	B-cell lymphoma
Target antigen	CD33	CD22
Antibody	hP67.6, humanized anti-CD33 antibody (IgG4)	G5/44, humanized anti-CD22 antibody (IgG4)
Cytotoxic compound	<i>N</i> -Acetyl calicheamicin dimethyl hydrazide	
Conjugation technique	4(4'-acetylphenoxy)butanoic acid linker	

活性が低下することが報告されている(20) .

4. カリケアマイシン誘導体を結合したイムノコンジュゲート

ゲムツズマブオゾガマイシンの合成に用いられた技術によりカリケアマイシン誘導体を他の適当な抗体と結合させることにより他の癌細胞を標的とした治療薬の開発が可能と考えられる . Wyeth と Celltech は CD22 に対する抗体とカリケアマイシン誘導体を結合させた化合物 CMC-544 を合成した(21, 22) . CD22 は成熟した正常 B リンパ球の細胞表面および悪性の B 細胞リンパ腫に発現しているが、造血幹細胞や B 細胞系以外の細胞には発現していない(23) . さらに CD33 と同様に抗体が結合するとインターナリゼーションされる(24) . CMC-544 の CD22 陽性細胞への *in vitro* での選択的な殺細胞活性とヒト B 細胞リンパ腫をヌードマウスに移植した *in vivo* 測定系における強い抗腫瘍活性が示されている(22) . CMC-544 の抗体 G5/44 は IgG4 タイプの抗体であるが、結合していない G5/44 は *in vitro* および *in vivo* において全く活性を示さない . IgG1 タイプであるリツキシマブ(2) やトラスツズマブ(1) は補体依存性細胞傷害作用(CDC) や抗体依存性細胞介在性細胞傷害作用(ADCC) を誘導することにより細胞傷害性を示しているものと考えられるが、G5/44 は hP67.6 と同様にヒト IgG4 タイプの抗体で CDC や ADCC を誘発しない . CMC-544 やゲムツズマブオゾガマイシンはこれらの免疫反応を誘発せずに殺細胞活性物質により作用を示しており、免疫療法剤ではなく特定の細胞を標的とした化学療法剤といえる(Table 1) .

5. 放射性化合物を結合したイムノコンジュゲート

イムノコンジュゲートとしては、上記ゲムツズマブオゾガマイシンや CMC-544 のように抗体に低分子の殺細胞活

性物質を結合した化合物の他に、抗体に放射性同位元素を結合した化合物がある . イブリットモブチウキセタン(Ibritumomab tiuxetan, Zevalin[®]) は 2002 年の 2 月に、¹³¹I-トシツモマブ(Iodine ¹³¹I-tositumomab, Bexxar[®]) は 2003 年 6 月に、FDA より放射性免疫療法の薬剤として認可されている . いずれもリツキシマブと同様の抗 CD20 抗体に放射性元素を結合させた化合物で、リツキシマブ耐性の B 細胞性非ホジキンリンパ腫に有効性を示す . イブリットモブチウキセタンはマウス抗 CD20 抗体(IgG1 kappa) であるイブリットモブにリンカー(チウキセタン) を結合した化合物で放射性元素であるインジウム¹¹¹In またはイットリウム⁹⁰Y を安定的にキレートできる . 抗 CD20 抗体リツキシマブの投与後、線量を放出する¹¹¹In-イブリットモブチウキセタンを投与してイメージングおよび線量測定を行い治療に適した患者を選択して、さらに 8 日目にリツキシマブ投与後線量を放出する⁹⁰Y-イブリットモブチウキセタンを投与する(25, 26) . このような投与方法によりイブリットモブチウキセタンは再発または難治の低悪性度、濾胞性または形質転換した B 細胞性非ホジキンリンパ腫患者におけるリツキシマブを対象とした比較試験においてリツキシマブを上回る有効性を示している(27) . トシツモマブは抗 CD20 マウス IgG2a 抗体にヨウ素¹³¹I を直接結合した化合物で および線量を放出する¹³¹I を線量測定と治療の両方に用いる . ヨウ素を結合していないトシツモマブを投与後、低放射線量の¹³¹I-トシツモマブを投与し 1 週間イメージングと線量測定を行い、治療用量を決定し非標識トシツモマブ投与後 1 週間治療用の¹³¹I-トシツモマブを投与する . ¹³¹I 標識化合物投与の際には、予め非放射性のヨウ化カリウムを投与することにより甲状腺を保護する . このような用法によりイブリットモブチウキセタンと同様に再発または難治の低悪性度または形質転換した B 細胞性非ホジキンリンパ腫患者において臨床第 II 相および第 III

相試験を行い良好な成績を得ている(28~30)。イブリツモマブチウキセタンおよびトシツモマブ共に用量制限毒性として骨髄抑制が見られるほか他の抗体製剤と同様な点滴投与関連毒性が認められている。

6. おわりに

放射性免疫療法剤がインターナリゼーションされる抗原を標的とした際には、細胞内に取り込まれて代謝され遊離する放射性物質により標的細胞以外の細胞が広範囲にわたって傷害される危険性がある。したがって、インターナリゼーションされないCD20抗原を標的としているが、ゲムツズマブオゾガマイシンは細胞内に入って核内のDNAに作用し活性を示すため、標的抗原がインターナリゼーションされる必要がある。このように標的抗原の性質と殺細胞化合物の性質をうまく組み合わせることにより、いずれも従来の化学療法あるいは抗体製剤の効かない患者に有効性を示しており、イムノコンジュゲートは癌治療における新しい可能性を示している。

ゲムツズマブオゾガマイシンは抗体を使って化学療法剤を特定の癌細胞に運ぶコンセプトにより臨床の有効性を実証し、現在までに承認されている唯一の薬剤であり、イムノコンジュゲートとして最初に承認された薬剤である。この画期的な技術は高く評価されゲムツズマブオゾガマイシンの開発に対して米国製薬工業会から2003年に“Discoverers Award”が与えられている。本薬は他に治療法がない再発難治のAML患者に寛解導入の可能性を与える薬剤であり、本邦でも早期の承認が望まれている。

文 献

- 仁平新一. ヒト化抗HER2モノクローナル抗体ハーセプチン®の創薬の経験. 日薬理誌. 2003;122:504-514.
- Smith MR. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody) mechanisms of action and resistance. *Oncogene*. 2003;22:7359-7368.
- Zein N, Poncin M, Nilakantan R, Ellestad GA. Calicheamicin₁ and DNA: molecular recognition process responsible for site-specificity. *Science*. 1989;244:697-699.
- Walker S, Landovitz R, Ding WD, Ellestad GA, Kahne D. Cleavage behavior of calicheamicin₁ and calicheamicin T. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:4608-4612.
- Hinman LM, Hamann PR, Wallace R, Menendez AT, Durr FE, Upeslaciis J. Preparation and characterization of monoclonal antibody conjugates of the calicheamicins: a novel and potent family of antitumor antibiotics. *Cancer Res*. 1993;53:3336-3342.
- van der Jagt RH, Badger CC, Appelbaum FR, et al. Localization of radiolabeled antimyeloid antibodies in a human acute leukemia xenograft tumor model. *Cancer Res*. 1992;52:89-94.
- van Der Velden VH, te Marvelde JG, Hoogeveen PG, et al. Targeting of the CD33-calicheamicin immunoconjugate Mylotarg (CMA-676) in acute myeloid leukemia: in vivo and in vitro saturation and internalization by leukemic and normal myeloid cells. *Blood*. 2001;97:3197-3204.
- 石田陽治, 厨信一郎. 造血幹細胞の分化・増殖とサイトカイン. *Mol Med*. 1998;35:166-177.
- Griffin JD, Linch D, Sabbath K, Larcom P, Schlossman SF. A monoclonal antibody reactive with normal and leukemic human myeloid progenitor cells. *Leuk Res*. 1984;8:521-534.
- Dinndorf PA, Andrews RG, Benjamin D, Ridgway D, Wolff L, Bernstein ID. Expression of normal myeloid-associated antigens by acute leukemia cells. *Blood*. 1986;67:1048-1053.
- Casasnovas RO, Slimane FK, Garand R, et al. Immunological classification of acute myeloblastic leukemias: relevance to patient outcome. *Leukemia*. 2003;17:515-527.
- Andrews RG, Singer JW, Bernstein ID. Precursors of colony-forming cells in humans can be distinguished from colony-forming cells by expression of the CD33 and CD34 antigens and light scatter properties. *J Exp Med*. 1989;169:1721-1731.
- Hamann PR, Hinman LM, Hollander I, et al. Gemtuzumab ozogamicin, a potent and selective anti-CD33 antibody-calicheamicin conjugate for treatment of acute myeloid leukemia. *Bioconjug Chem*. 2002;13:47-58.
- Sievers EL, Appelbaum FR, Spielberger RT, et al. Selective ablation of acute myeloid leukemia using antibody-targeted chemotherapy: a phase I study of an anti-CD33 calicheamicin immunoconjugate. *Blood*. 1999;93:3678-3684.
- Sievers EL, Larson RA, Stadtmauer EA, et al. Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse. *J Clin Oncol*. 2001;19:3244-3254.
- Larson RA, Boogaerts M, Estey E, et al. Antibody-targeted chemotherapy of older patients with acute myeloid leukemia in first relapse using Mylotarg (gemtuzumab ozogamicin). *Leukemia*. 2002;16:1627-1636.
- Rajvanshi P, Shulman HM, Sievers EL, McDonald GB. Hepatic sinusoidal obstruction after gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg) therapy. *Blood*. 2002;99:2310-2314.
- Linenberger ML, Hong T, Flowers D, et al. Multidrug-resistance phenotype and clinical responses to gemtuzumab ozogamicin. *Blood*. 2001;98:988-994.
- Matsui H, Takeshita A, Naito K, et al. Reduced effect of gemtuzumab ozogamicin (CMA-676) on P-glycoprotein and/or CD34-positive leukemia cells and its restoration by multidrug resistance modifiers. *Leukemia*. 2002;16:813-819.
- Walter RB, Raden BW, Cronk MR, Bernstein ID, Appelbaum FR, Banker DE. The peripheral benzodiazepine receptor ligand, PK11195, overcomes different resistance mechanisms to sensitize AML cells to gemtuzumab ozogamicin. *Blood*. 2004 Feb

- 12.
- 21) Damle NK, Frost P. Antibody-targeted chemotherapy with immunoconjugates of calicheamicin. *Curr Opin Pharmacol.* 2003;3:386-390.
- 22) DiJoseph JF, Armellino DC, Boghaert ER, et al. Antibody-targeted chemotherapy with CMC-544: a CD22-targeted immunoconjugate of calicheamicin for the treatment of B-lymphoid malignancies. *Blood.* 2004;103:1807-1814.
- 23) Cesano A, Gayko U. CD22 as a target of passive immunotherapy. *Semin Oncol.* 2003;30:253-257.
- 24) Carnahan J, Wang P, Kendall R, et al. Epratuzumab, a humanized monoclonal antibody targeting CD22: characterization of in vitro properties. *Clin Cancer Res.* 2003;9:3982S-3990S.
- 25) Knox SJ, Goris ML, Trisler K, et al. Yttrium-90-labeled anti-CD20 monoclonal antibody therapy of recurrent B-cell lymphoma. *Clin Cancer Res.* 1996;2:457-470.
- 26) Witzig TE, White CA, Wiseman GA, 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.* 1999;17:3793-3803.
- 27) Witzig TE, Gordon LI, Cabanillas F, et al. Randomized controlled trial of yttrium-90-labeled ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy versus rituximab immunotherapy for patients with relapsed or refractory low-grade, follicular, or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2002;20:2453-2463.
- 28) Kaminski MS, Estes J, Zasadny KR, et al. Radioimmunotherapy with iodine ¹³¹I tositumomab for relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma: updated results and long-term follow-up of the University of Michigan experience. *Blood.* 2000;96:1259-1266.
- 29) Vose JM, Wahl RL, Saleh M, et al. Multicenter phase II study of iodine-131 tositumomab for chemotherapy-relapsed/refractory low-grade and transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol.* 2000;18:1316-1323.
- 30) Kaminski MS, Zelenetz AD, Press OW, et al. Pivotal study of iodine I 131 tositumomab for chemotherapy-refractory low-grade or transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol.* 2001;19:3918-3928.

Abstract - Gemtuzumab ozogamicin and targeted cancer therapy. Masahiro IMAIZUMI (Non-clinical Evaluations, Medical Research Laboratories, Wyeth K.K., Shiki-shi 353-8511, Japan). *Folia Pharmacol. Jpn.* (Nippon Yakurigaku Zasshi) **124**, 25 ~ 29 (2004)

Recently, anti-cancer antibodies have been launched in Japan and also immunoconjugates with a cytotoxic compound or a radioisotope have been launched in the USA. Gemtuzumab ozogamicin is a conjugate of anti-CD33 antibody and a cytotoxic calicheamicin derivative. After binding the CD33-positive leukemia cells, gemtuzumab ozogamicin is internalized and releases the calicheamicin derivative. The calicheamicin derivative breaks DNA and kills the cells. Gemtuzumab ozogamicin was effective and well tolerated in clinical trials in patients with acute myeloid leukemia (AML) in relapse. It was approved in 2000 by the FDA, and Wyeth K.K. has submitted it as an anti-tumor drug for CD33 positive AML. Two kinds of immunoconjugates, anti-CD20 antibodies with radioisotopes, recently have been launched in the USA for CD20-positive non-Hodgkin's lymphoma. These conjugates showed efficacy in patients who are refractory to the conventional chemotherapies. Targeted therapy with the immunoconjugate that can deliver cytotoxic compounds to specific cells is promising for use in oncology.

Keywords: gemtuzumab ozogamicin; acute myeloid leukemia; immunoconjugate; antibody; CD33.

著者プロフィール

今泉 正洋 (いまいずみ まさひろ)

ワイス株式会社医薬研究所非臨床調査室主席部員, 農学博士.

1985 年京都大学農学部食品工学科卒業, '85 年 ~ '98 年ヤマサ醤油株式会社生物研究室勤務, '98 年 ~ '01 年学術振興会研究員 (京都大学農学部農学研究科勤務), '01 年より日本ワイスレダリー株式会社 (現ワイス株式会社) 勤務.

趣味: 旅行. 著書: 食品機能研究法 (光琳: 共著).