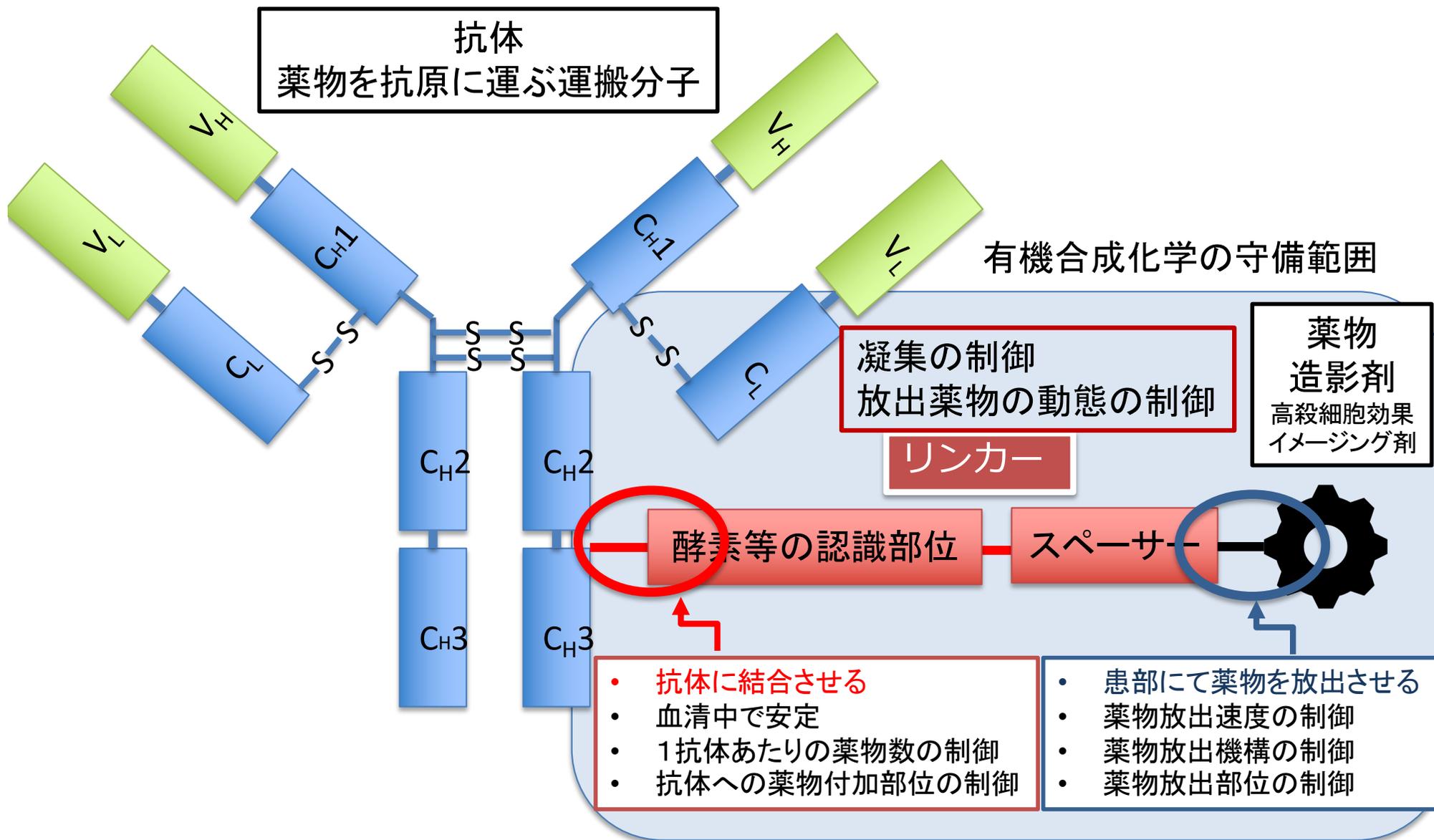


抗体-藥物複合体

ADCとは

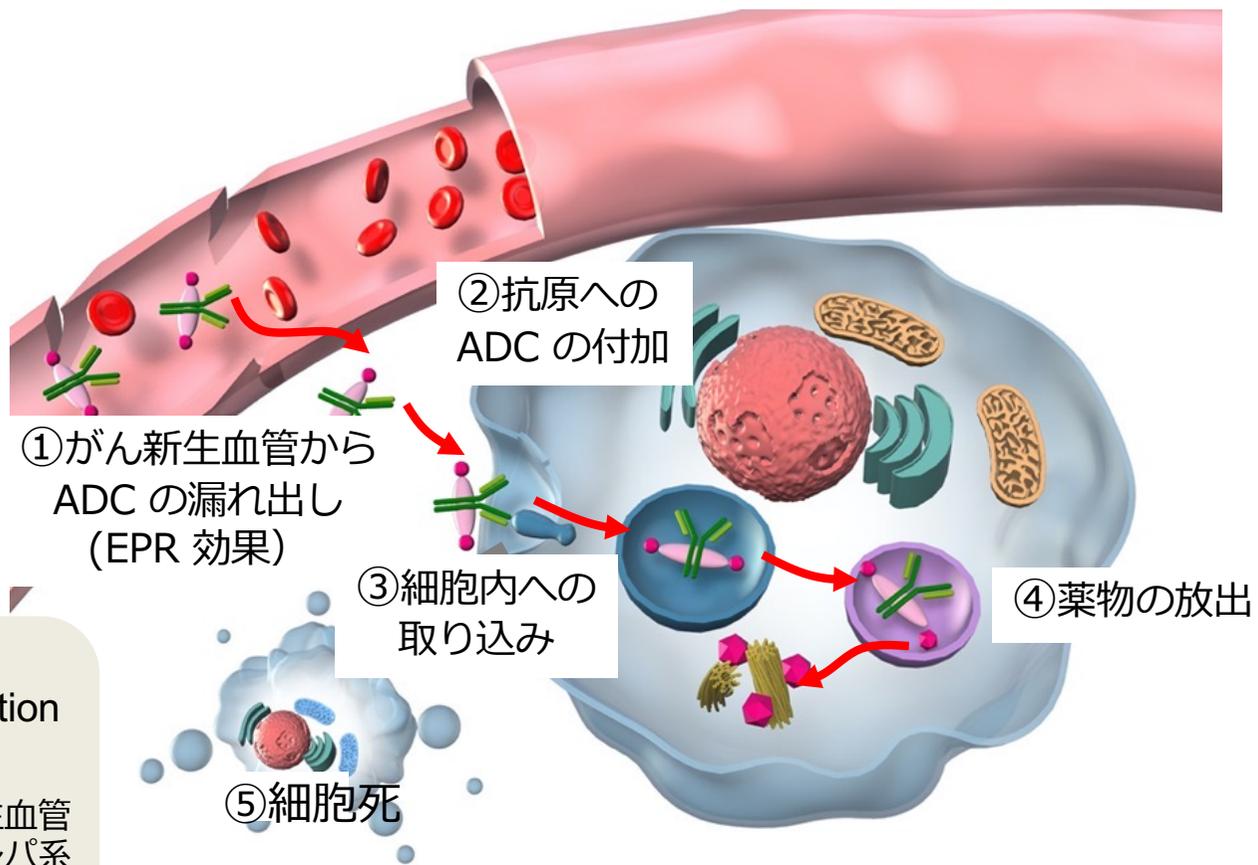
有機化学でより付加価値の高い次世代抗体医薬品をつくる 抗体-薬物複合体

(Antibody-Drug Conjugate: ADC) の構造



リンカーはADCの司令塔

ADCの作用機構



EPR 効果
(Enhanced permeation and retention)

高分子化合物ががん新生血管から流出しやすい。リンパ系が発達していないため、漏れ出した物質は蓄積する。

	抗体医薬	低分子医薬
選択性	非常に高い	低い場合が多い
ターゲット	細胞表面の抗原のみ	透過性が高く、細胞内タンパク質もターゲットにできる

- ドラッグ・デリバリー・システムとしての期待
- 構成化合物の特性を生かした剤形

抗体の命名方法

固有名 + 疾患標的 + 由来生物 + mab

Infliximab (レミケード)

Inf (固有名) + li (免疫系標的) + xi (キメラ抗体) + mab (モノクローナル抗体)

Rituzimab(リツキサン)

Ri(固有名) + tu (腫瘍標的) + xi (キメラ抗体) + mab (モノクローナル抗体)

Trastuzumab(ハーセプチン)

Tras(固有名) + tu (腫瘍標的) + zu (ヒト化抗体) + mab (モノクローナル抗体)

モノクローナル抗体の場合には、最後は“mab”
ポリクローナル抗体の場合には、最後は“pab”

抗体の起源（動物）を表すサブシステム

a	rat	ラット
e	hamster	ハムスター
i	primate	霊長類
o	mouse	マウス
u	human	ヒト
xi	chimeric	キメラ
zu	humanized	ヒト化
xizu		キメラ/ヒト化ーハイブリッド
axo		ラット/マウスーハイブリッド

ハムスター由来抗体や霊長類抗体は使用されなくなっている。

モノクローナル抗体の場合には、最後は"mab"
ポリクローナル抗体の場合には、最後は"pab"

抗体の標的疾患によるサブシステム

旧	新	意味
anibi		血管新生（阻害）
ba(c)	b(a)	細菌
ci(r)	c(i)	循環系
fung	f(u)	真菌
gr(o)	gr(o)	成長因子
ki(n)	k(i)	インターロイキン
les	-	炎症性の腫瘍
li(m)	l(i)	免疫系
mul	-	筋骨格系
ne(u)(r)	n(e)	神経系
os	s(o)	骨
toxa	tox(a)	毒素
co(l)	t(u)	大腸腫瘍
go(t)	t(u)	精巣腫瘍
go(v)	t(u)	卵巣腫瘍
ma(r)	t(u)	乳腺腫瘍
me(l)	t(u)	メラノーマ
pr(o)	t(u)	前立腺腫瘍
tu(m)	t(u)	種々の腫瘍
vi(r)	v(i)	ウイルス

発音しにくい場合には、母音が省略されることがある。

修飾抗体の命名

PEG（ポリエチレングリコール）付加抗体
分解の遅延と抗体の抗原性の減弱を目的として付加
pegol をつける。

ADC

結合しているpayload を抗体の後ろにつける。
Val-Cit-MMAE というpayload はvedotin

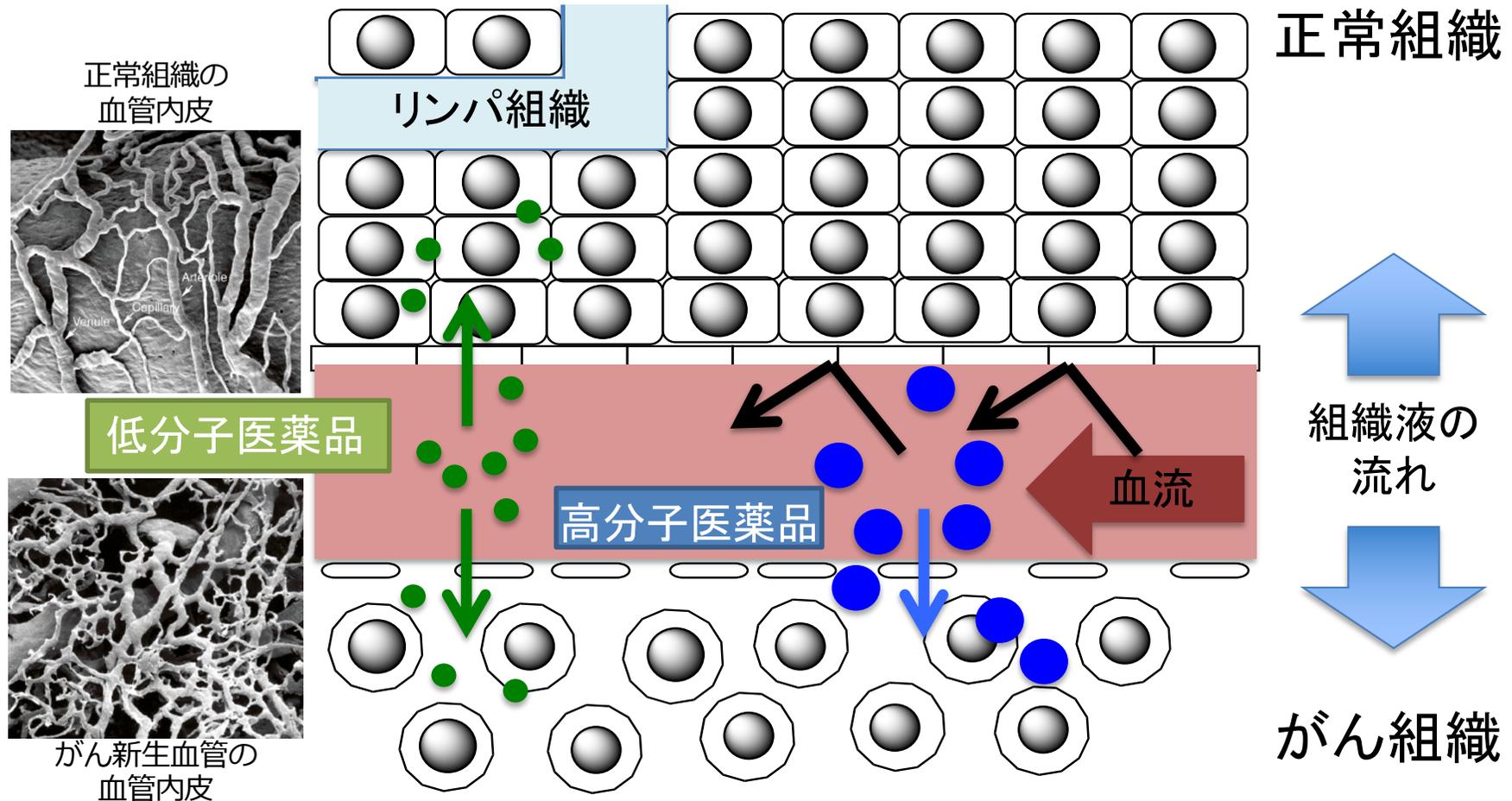
Adcetris (Brentuximab Vedotin)

Polivy (Polatuzumab Vedotin)

EPR 効果

Enhanced Permeability and Retention Effect

Y. Matsumura and H. Maeda *Cancer Res.* **46**, 6387 (1986)

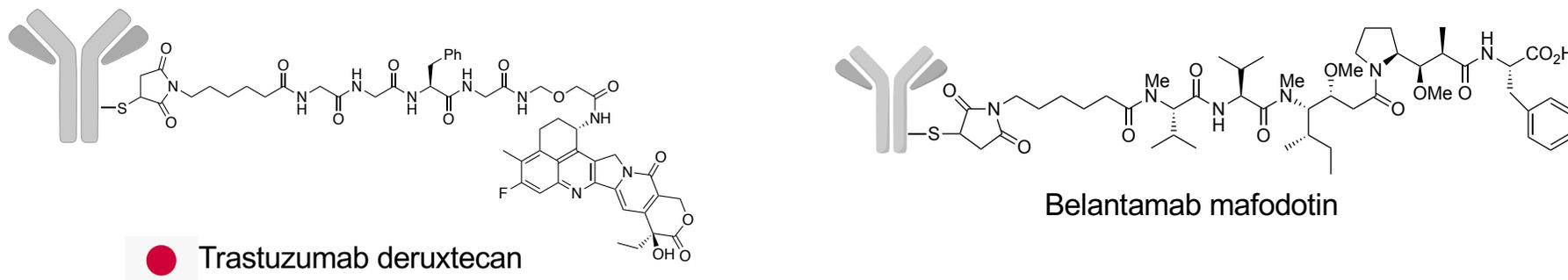
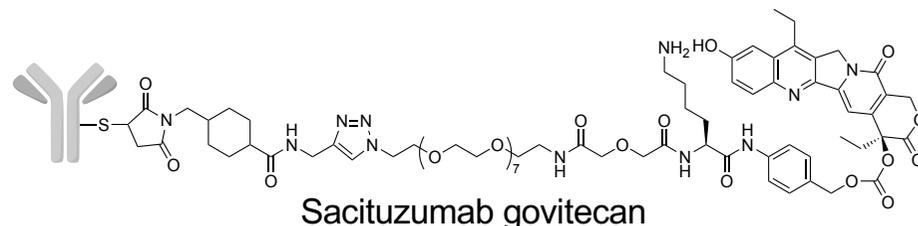
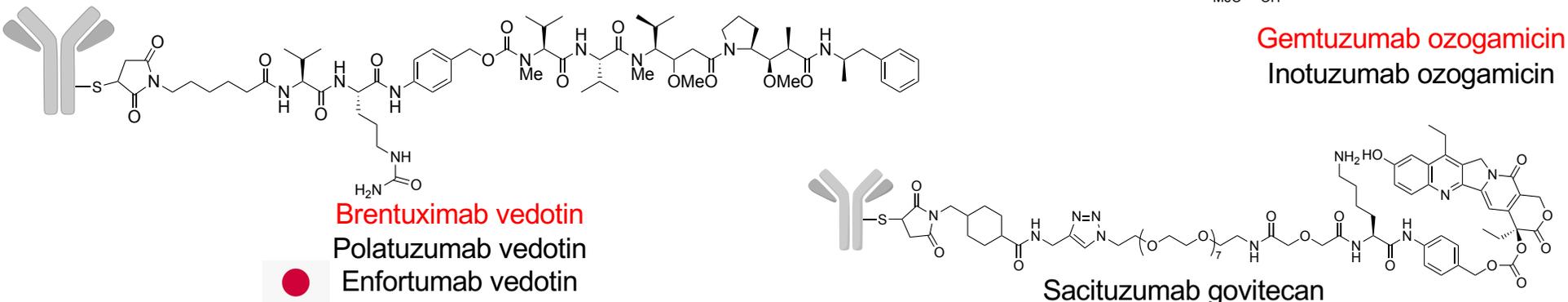
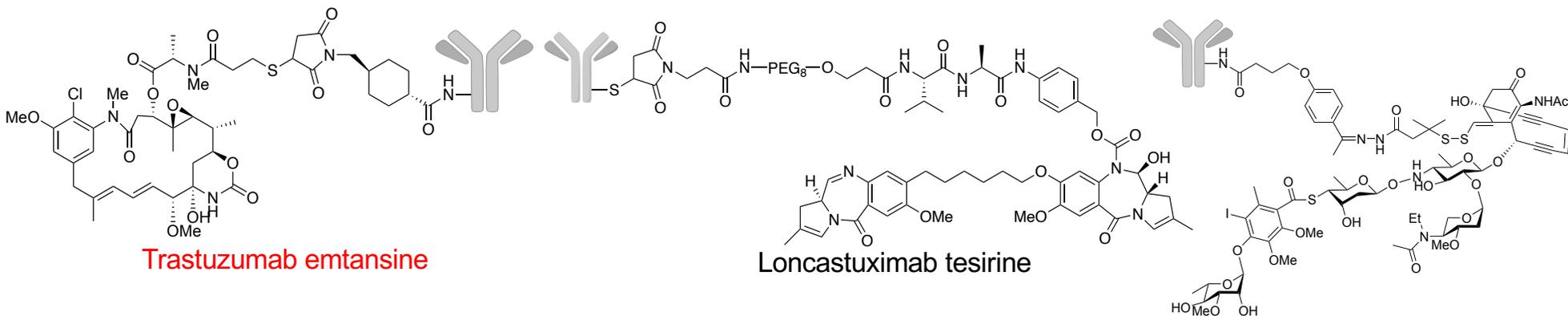


- がん新生血管の内皮細胞は、隙間がある。
- がん組織では、リンパ組織が発達していない。

数百nmの大きさを持つ分子が血管から漏れでて滞留する。

低分子医薬品を高分子に担持させて、送達させる。

2021年10月時点で世界で認可されているADCs



2017年では赤字の3例（2例）だったが、急激に増えた。
パイプラインには80種以上。
今後も急激に増えることが予想される。

抗体の発見者：Paul EhrlichによるADCの提唱

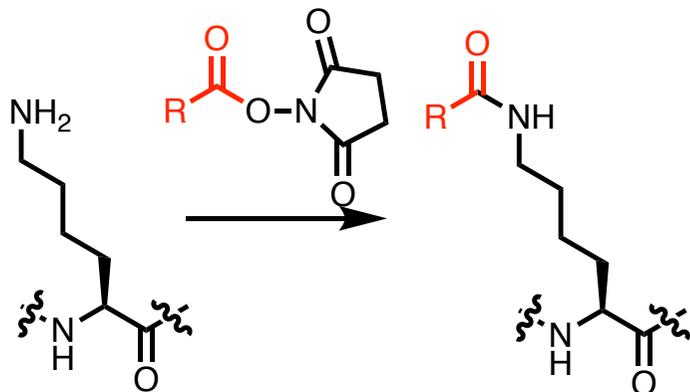
Blood Brain Barrier の発見、化学療法の創始も



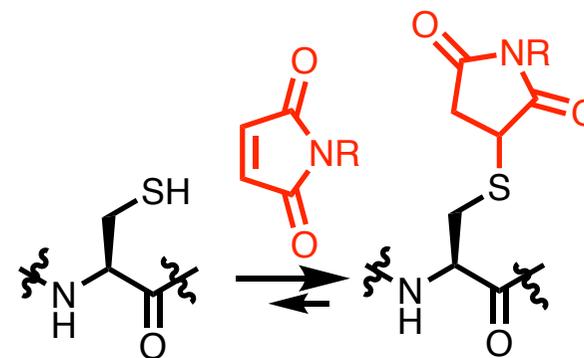
抗体に毒物を結合させ、到達させれば、
目的の細胞を死滅させることができるであろう。

では、なぜ抗体—薬物複合体はこれまで未開拓であったのか？

通常使用されるADC合成法とその限界



Lys と活性化エステルによるアミド形成



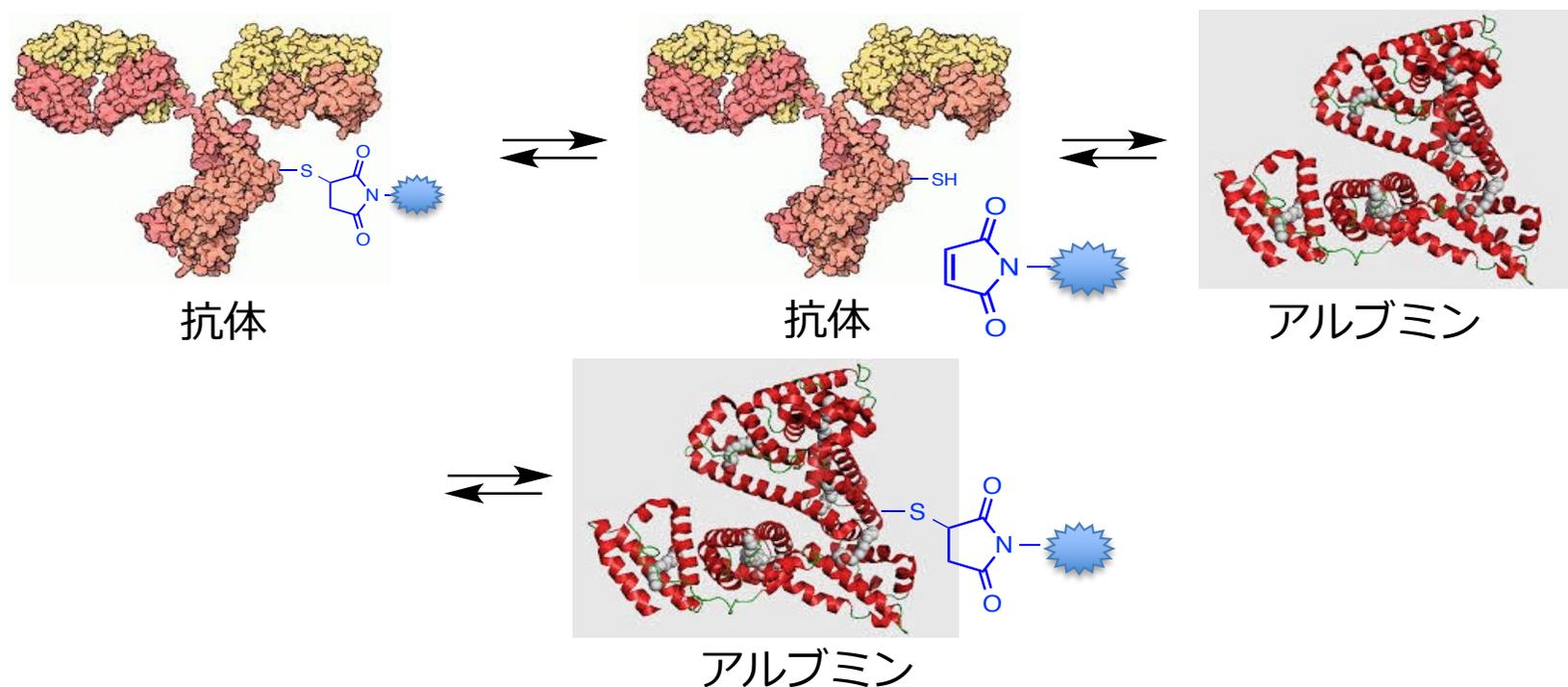
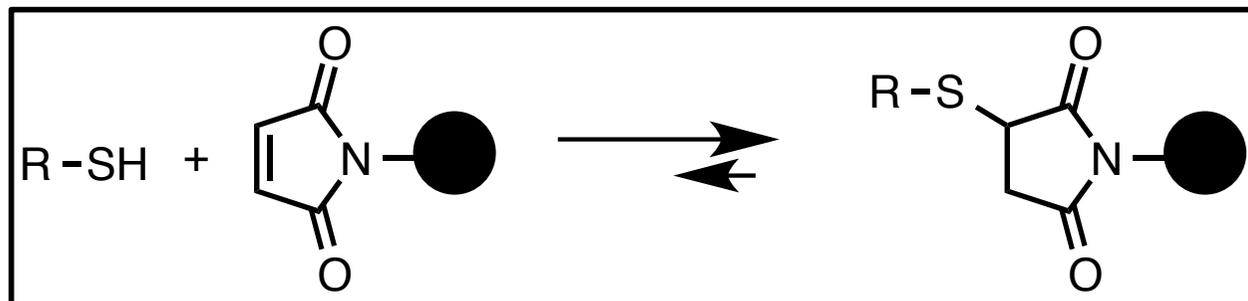
Cys とマレイミドによるマイケル付加

	特徴	欠点
Lys 結合型	<ul style="list-style-type: none"> アミノ基の反応性が高い。 1抗体当たり約90個のLysが存在する。 親水性で表面に存在する。 	<ul style="list-style-type: none"> 付加位置と数の制御ができず、多種 (> 10⁶種) のADCsが生成する。 薬物が可変領域に結合する。 薬物は疎水性であり、親水性基である部位が疎水性に変化することで、薬物動態などが変化する。
Cys 結合型	<ul style="list-style-type: none"> Cys はLys よりも数が少ない (1抗体あたり8個) 	<ul style="list-style-type: none"> Lys よりも数は減るが、複数のADCs は生成する。 Cys とマレイミドの反応は可逆的

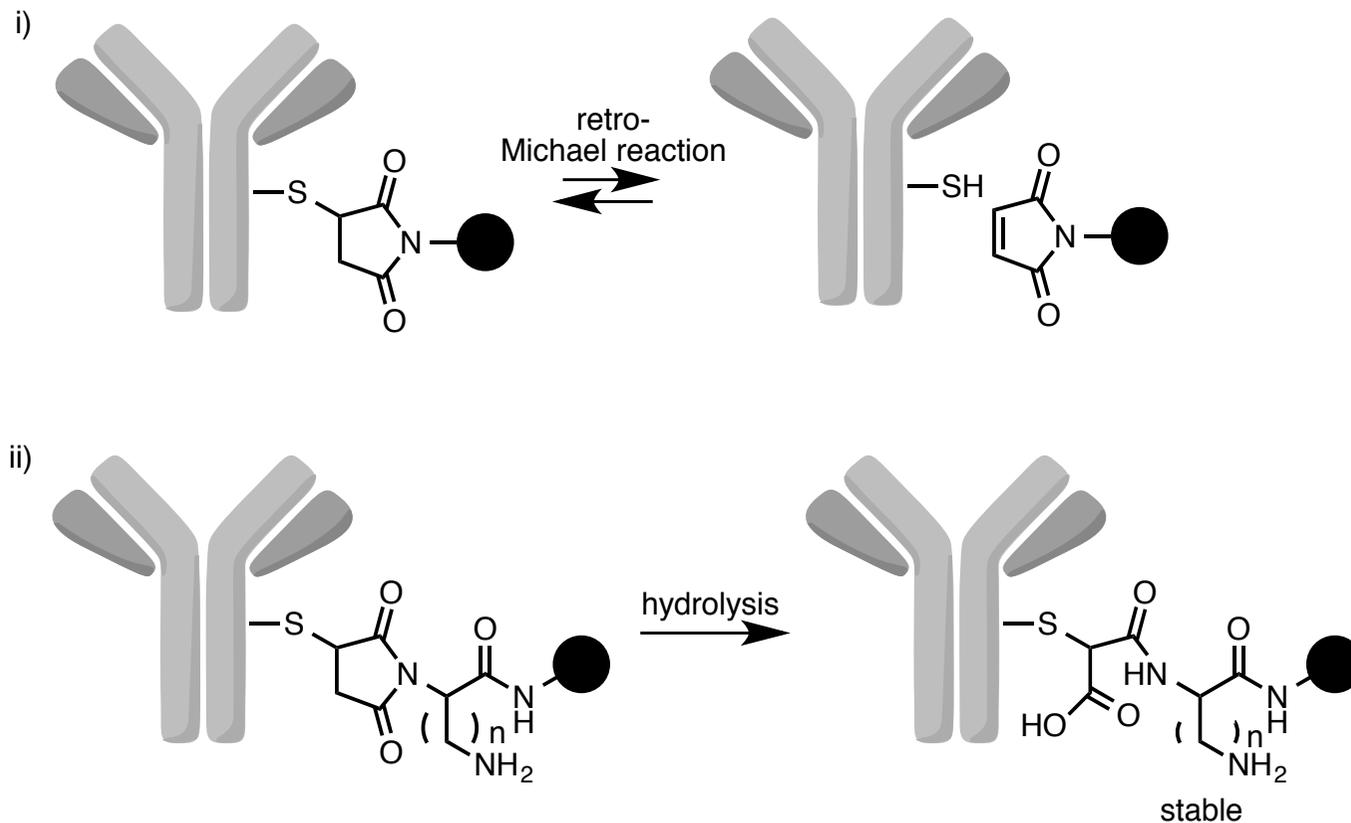
均一なADC を合成することができない。

スルフヒドリル基とマレイミド基との結合の不安定性

平衡反応であり、可逆的である。
抗体からアルブミンへの薬物の移動が観測されている。

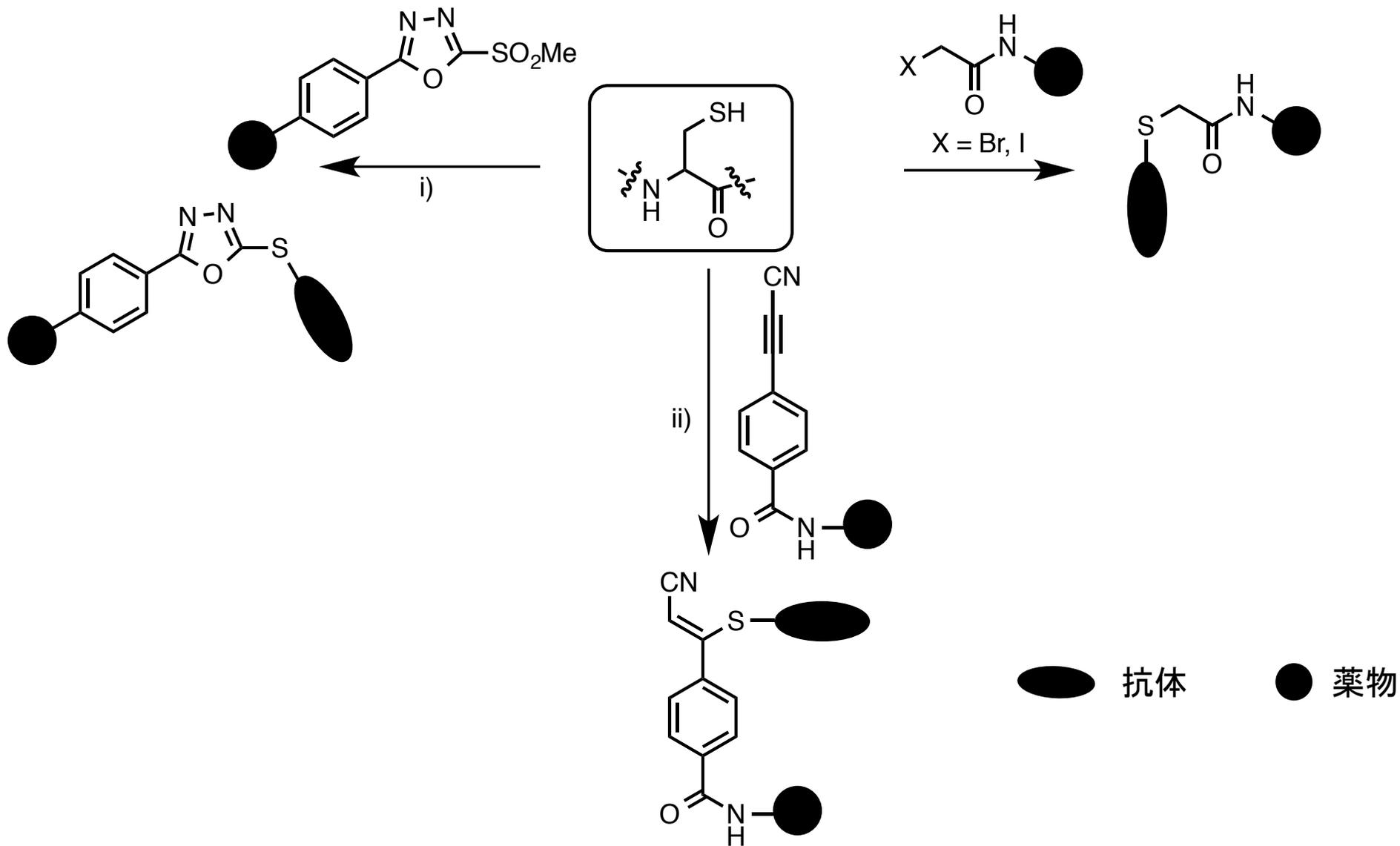


加水分解促進官能基付加による マレイミドリンカーの安定性向上



- i) マレイミドとシステインSH 基の結合とレトロ-マイケル反応による可逆性
- ii) 加水分解促進官能基付加による安定化

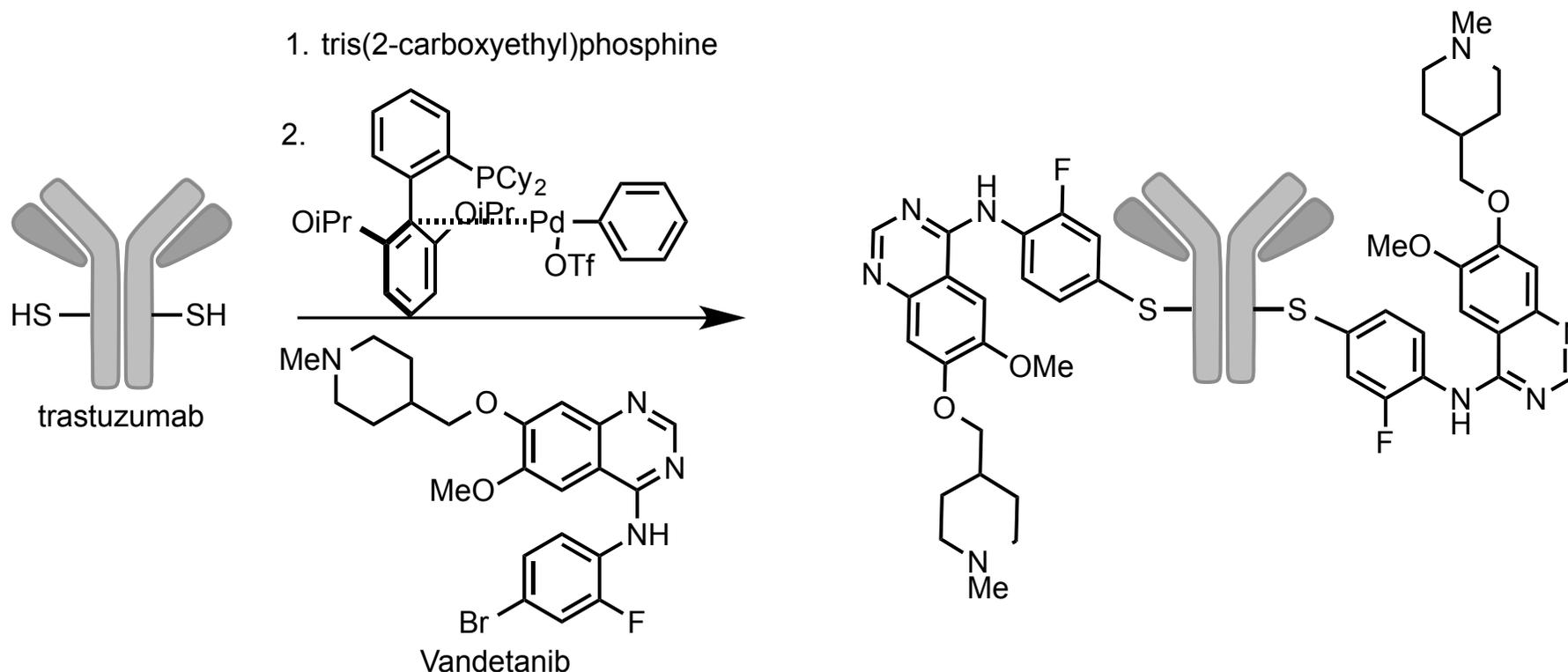
システインを介するconjugation 反応



i) J. T. Patterson *et al. Bioconj. Chem.* **25**, 1402 (2014)

ii) S. Kolodych *et al. Bioconj. Chem.* **26**, 197 (2015)

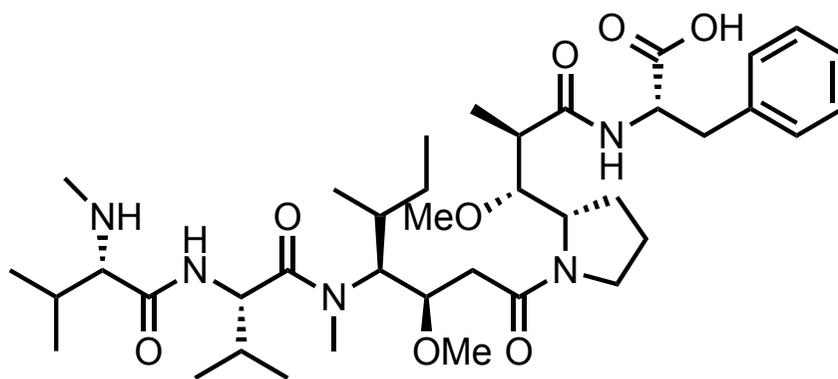
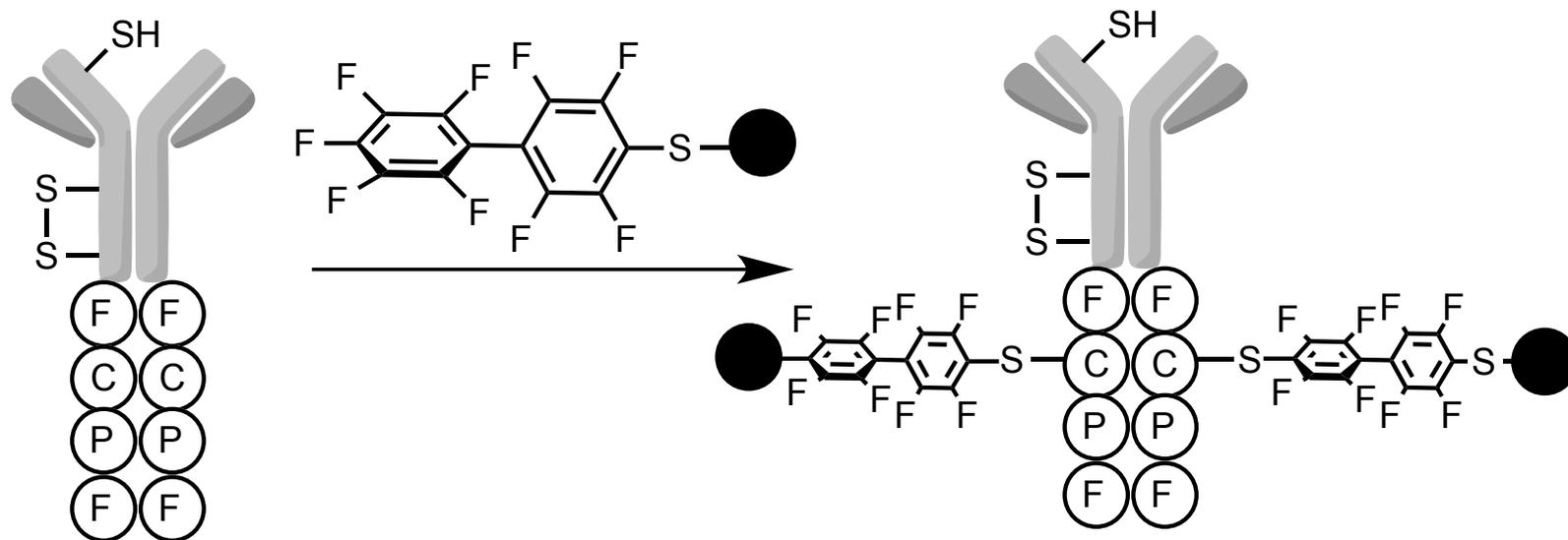
遷移金属触媒を用いたシステインを介した芳香環の結合



- 5 min 以内に反応が完結。
- 触媒は室温にて安定。
- Lysアミノ基やSer/Thrの水酸基に優先してシステインのスルフヒドリル基に反応。

フッ化ビフェニルの S_NAr 反応を利用した結合法

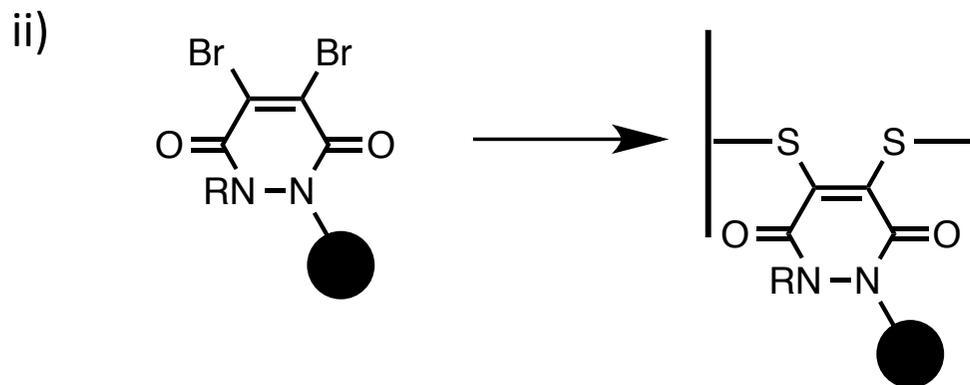
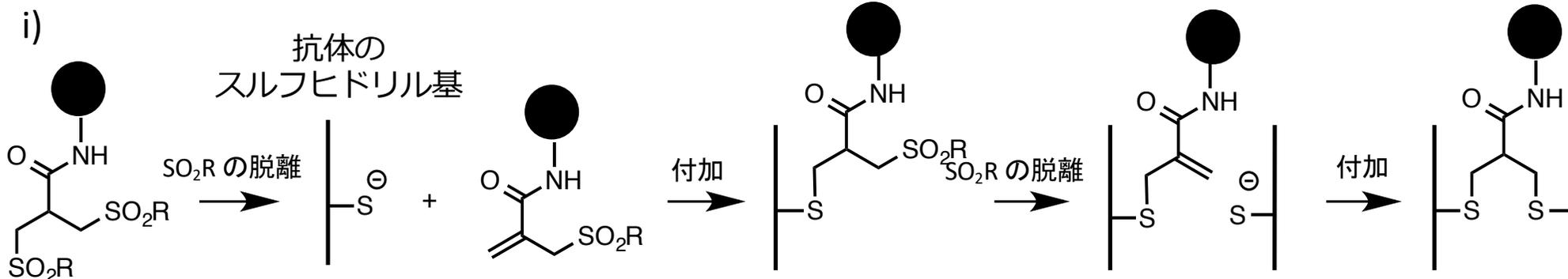
酵素反応に近づく、アミノ酸配列を認識できる化学反応



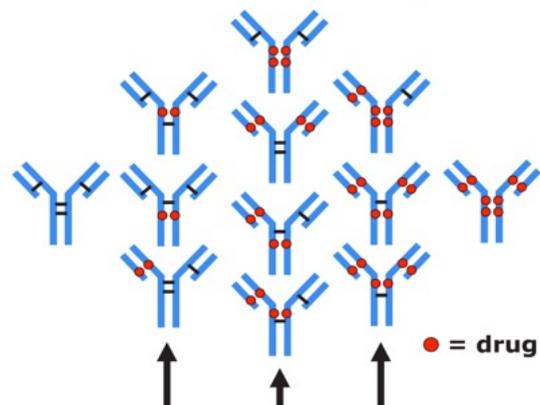
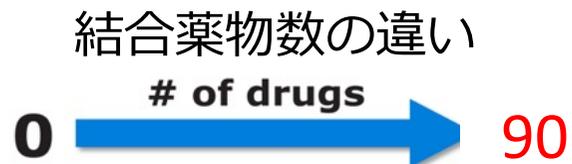
MMAF

安定なジスルフィドリンカー

抗体がもともと持つジスルフィド結合に近い形を保てる。



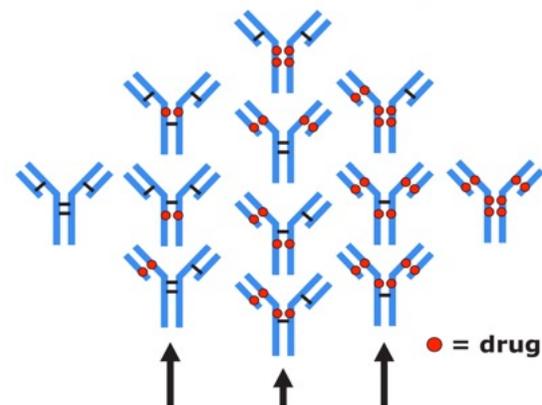
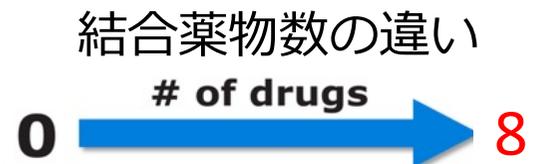
古典的ADC 合成により作製される化学種



結合位置の違い

結合数	ADC の数
0	1
1	90
2	4005
3	117,480
4	2,555,190
5	43,949,268
6	622,614,630
7	7,471,375,560
8	77,515,521,435

10¹⁰種



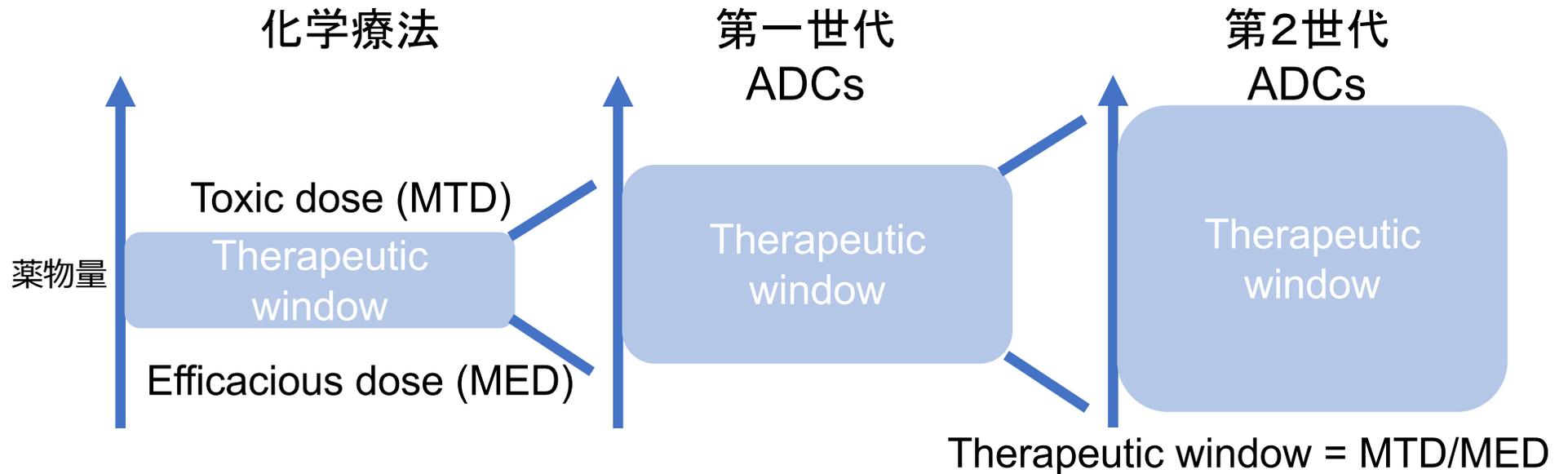
結合位置の違い

結合数	ADC の数
0	1
1	8
2	28
3	56
4	70
5	56
6	28
7	8
8	1

256種

均一構造ADC の開発が望まれている。

1. Therapeutic window が上昇する。



- がんへの選択的送達
- 非常に強い搭載薬物の使用
- リンカーの改良
- 抗体への位置選択的付加
- 放出機構制御

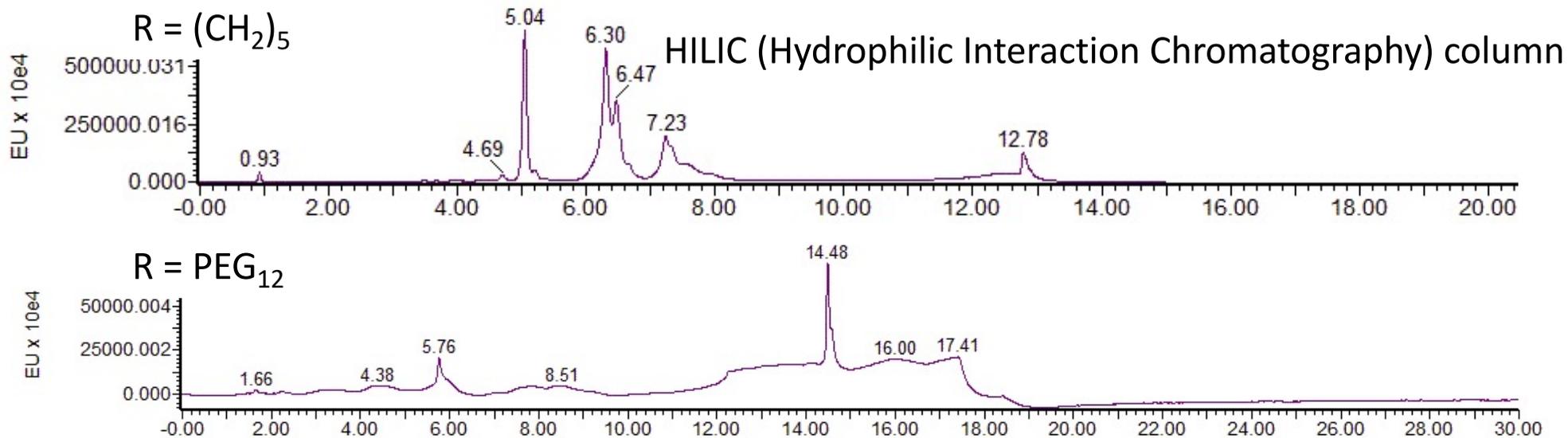
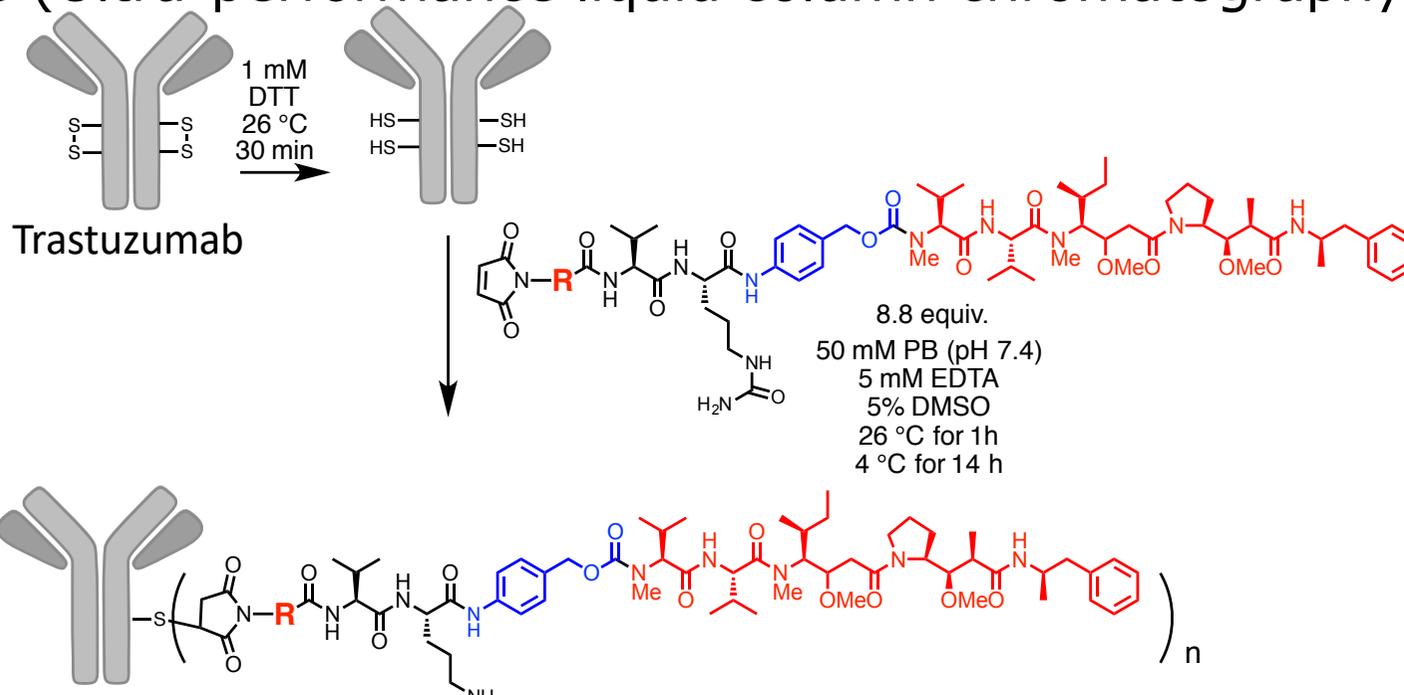
2. 合成/薬効の再現性が担保できる。

薬物付加位置や数によってADCの安定性や薬効などが異なる。

3. レギュラトリーサイエンスへの対応ができる。

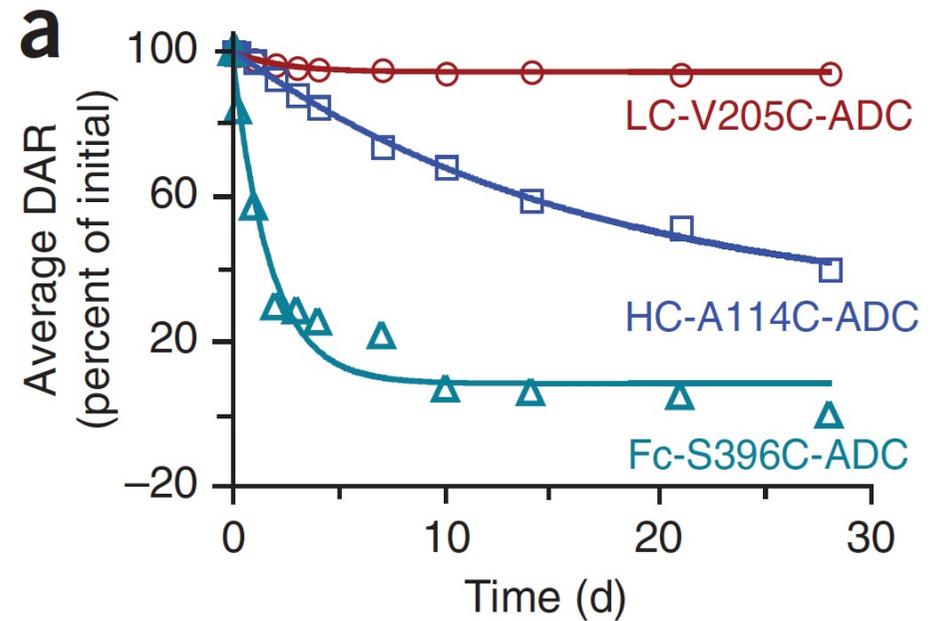
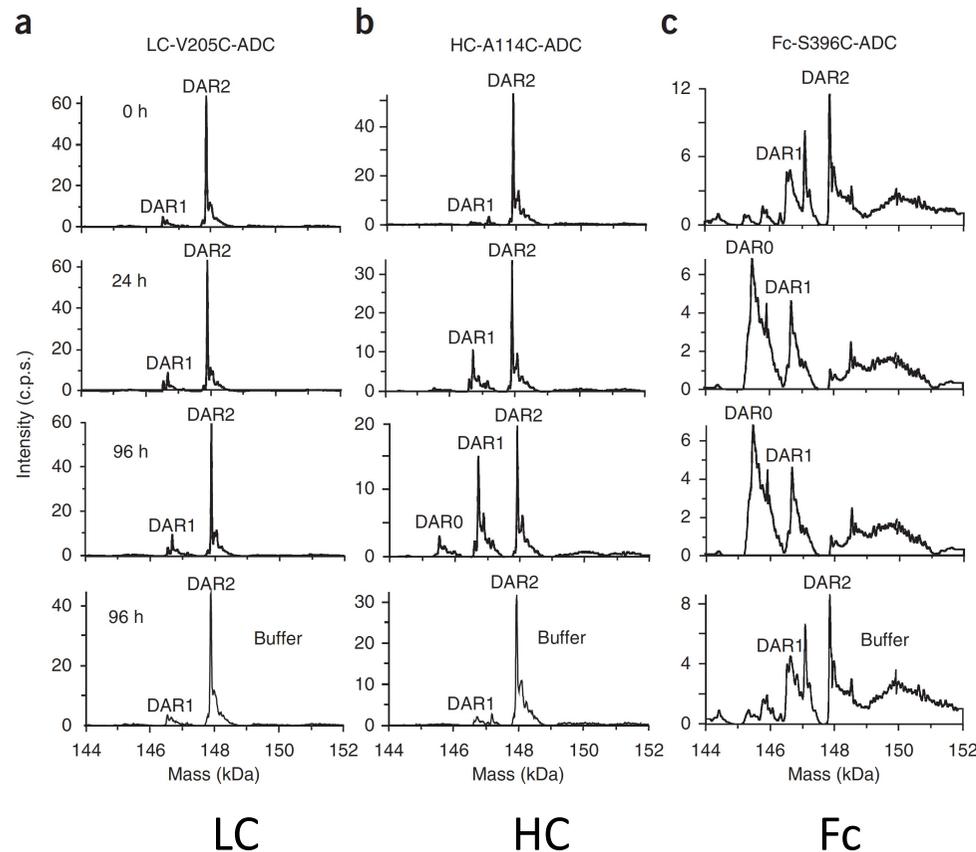
「抗体医薬品の品質評価のためのガイダンス」平成24年厚生労働省

SH基とマレイミドの反応により作製したADCの不均一性 UPLC (Ultra-performance liquid column chromatography)解析



Glycoprotein BEH Amide 300 A, 1.7 μ m ex 280 nm, em320 nm

薬物の付加位置によってADC の安定性が異なる



低分子医薬品では ラセミックスイッチ (キラルスイッチ)

低分子医薬品において
1992年 FDA

- キラルな構造を持つ医薬品は鏡像的に純粋にした上で市販すること
- もしラセミ体で販売したいならば、不要の鏡像異性体が無害であることを証明すること



不斉反応開発・不斉合成
キラルカラムによる光学分割

1980年代から現在に至るまで有機合成化学のトピックのひとつ

バイオ医薬品では

抗体医薬品の品質評価のためのガイダンス

平成24年12月 厚生労働省

放射性同位元素を配位させるためのキレート化合物、細胞障害活性を有する化合物、ポリエチレングリコールなどの高分子等、修飾剤を共有結合させた修飾抗体では、修飾剤の結合数と結合位置を可能な限り明らかにする。

薬物付加位置の制御の困難さと均一化への様々な試み

官能基選択的である反応

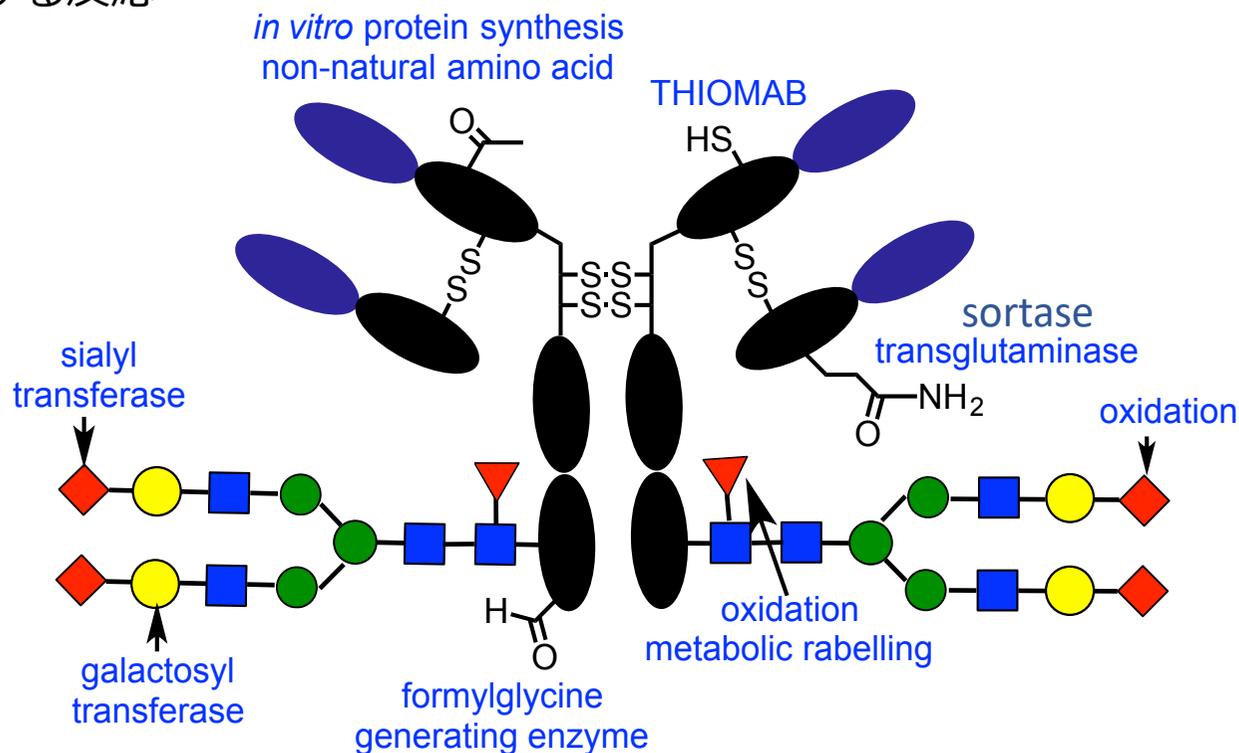
- 多様な官能基（アミノ基、カルボキシル基、インドール、スルフィドなど）が存在する中で特定の官能基を選択しなければならない必要性
- 酸性、塩基性、酸化に敏感な官能基の存在

位置選択的である反応

- アミノ酸残基特異的な反応が開発されても、抗体に存在する複数個の同じ種類のアミノ酸を区別する必要性

温和な反応条件

- 室温付近の温度
- 水を主溶媒とする反応



均一ADC 合成のポイント

ステップ1-1.

抗体に含まれていない官能基（アルデヒド、ケトン、アジド、アルキンなど）を部位特異的に作り出す。

1-2.

あるいは、酵素により、ペプチド配列や糖鎖を認識して、抗体に含まれていない官能基を付加する。

ステップ2. 生物直交性反応で搭載化合物（リンカー + 毒性化合物）を付加する。

生物直交性反応

生命系に含まれている分子を損なうことなく、
細胞などの中で起こしうる反応

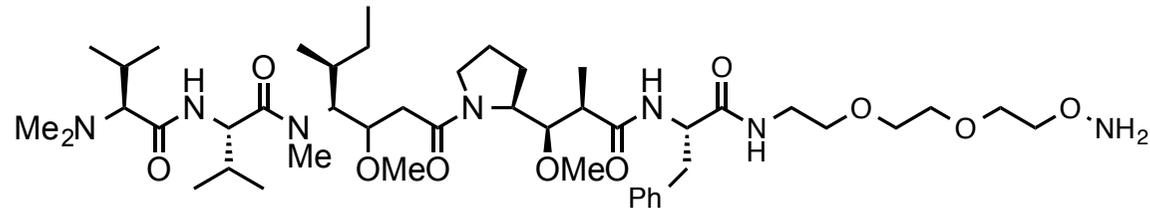
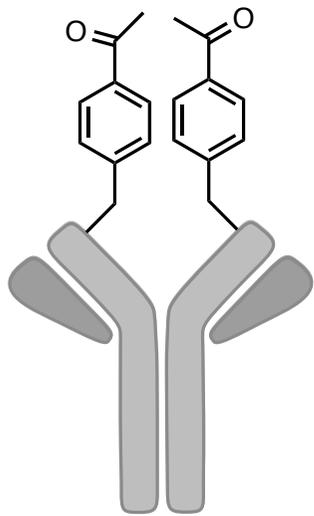
生物直交型反応の反応速度

Lang, K., Chin, J. W., *ACS Chem. Biol.* **9**, 16 (2014)

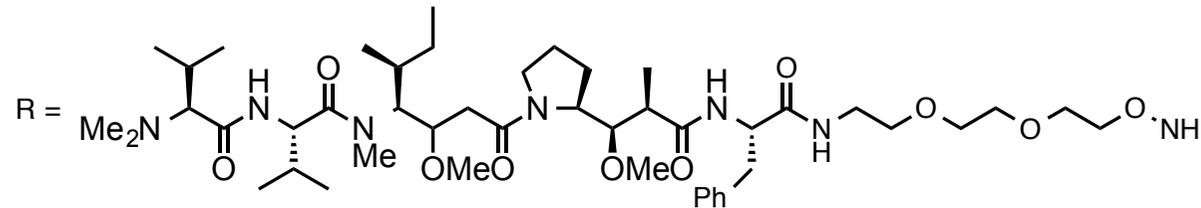
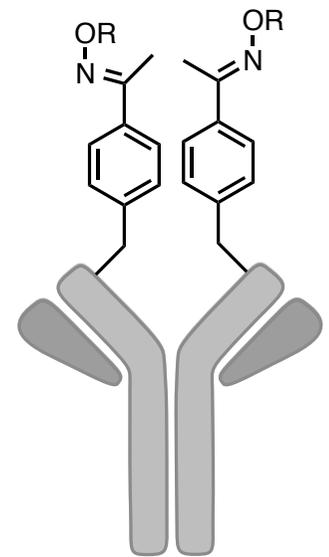
均一ADCの合成例：1

in vitro protein 合成法による非天然アミノ酸の導入

抗体に含まれていない官能基を部位特異的に作り出す。
 抗体に含まれていない官能基=ケトン



pH 4.5
 37 ° C, 1~4 days



J. Y. Axup *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **109**, 16101 (2012)

同様にアジド基を導入して、クリック反応を行う例

E. S. Zimmerman *et al.* *Bioconj. Chem.* **25**, 351 (2014)

均一ADCの合成例：2

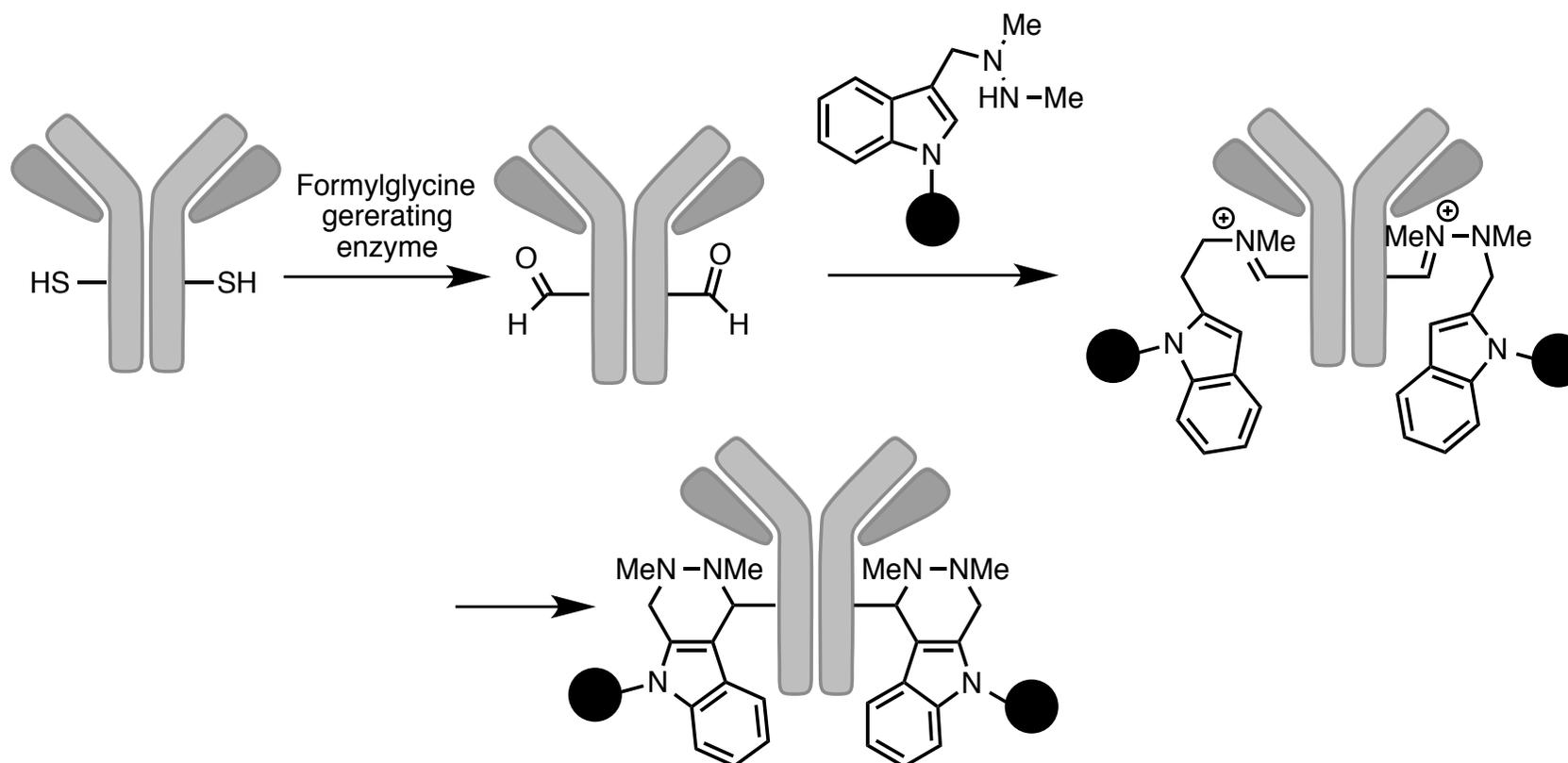
Formylglycine generating enzyme によるアルデヒド基導入と
Hydrazone-Pictet-Spengler反応の組み合わせ

Formylglycine generating enzyme:

Leu-Cys-Thr-Pro-Ser-Arg配列のCysをホルミルグリシンに変換

抗体に含まれていない官能基を部位特異的に作り出す。

抗体に含まれていない官能基=ホルミル基



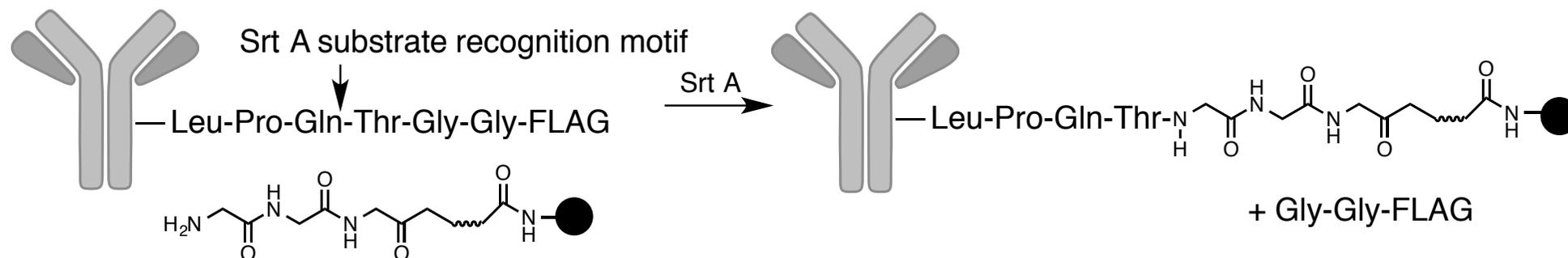
均一ADCの合成例：3

Sortase による位置選択的付加

酵素により、ペプチド配列や糖鎖を認識する。

Sortase: Leu-Pro-any-Thr-GlyのThrとGly の間を切断

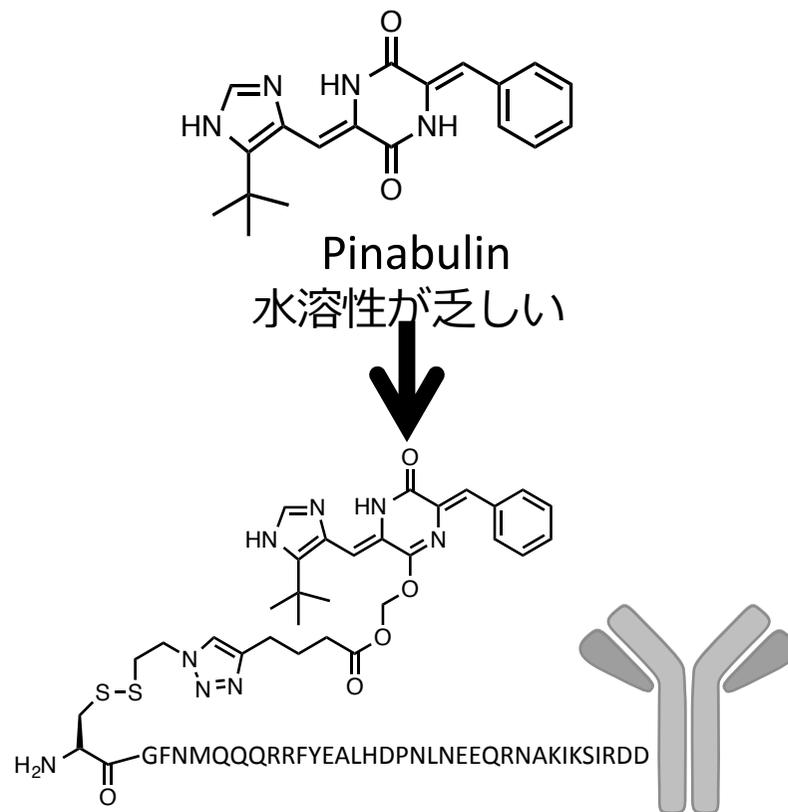
生成物もLeu-Pro-any-Thr-Glyの配列を持つため、反応は可逆的であることに注意



均一ADCの合成例：4

非共有結合ペプチドによる結合

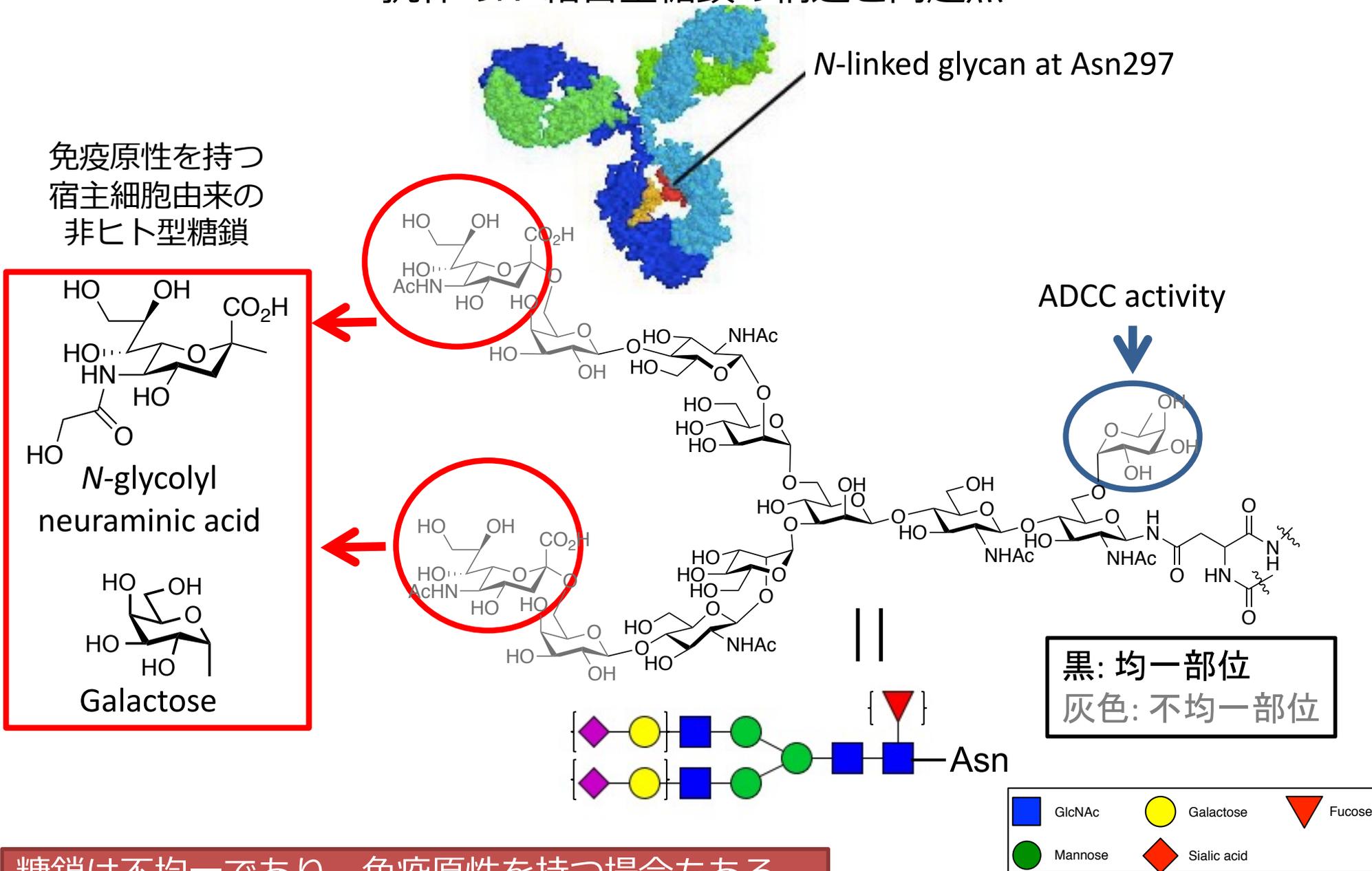
Z33 = FNMQQRRFYEALHDPNLNEEQRNAKIKSIRDD
ヒトIgG のFc 領域に非共有結合により結合するペプチド



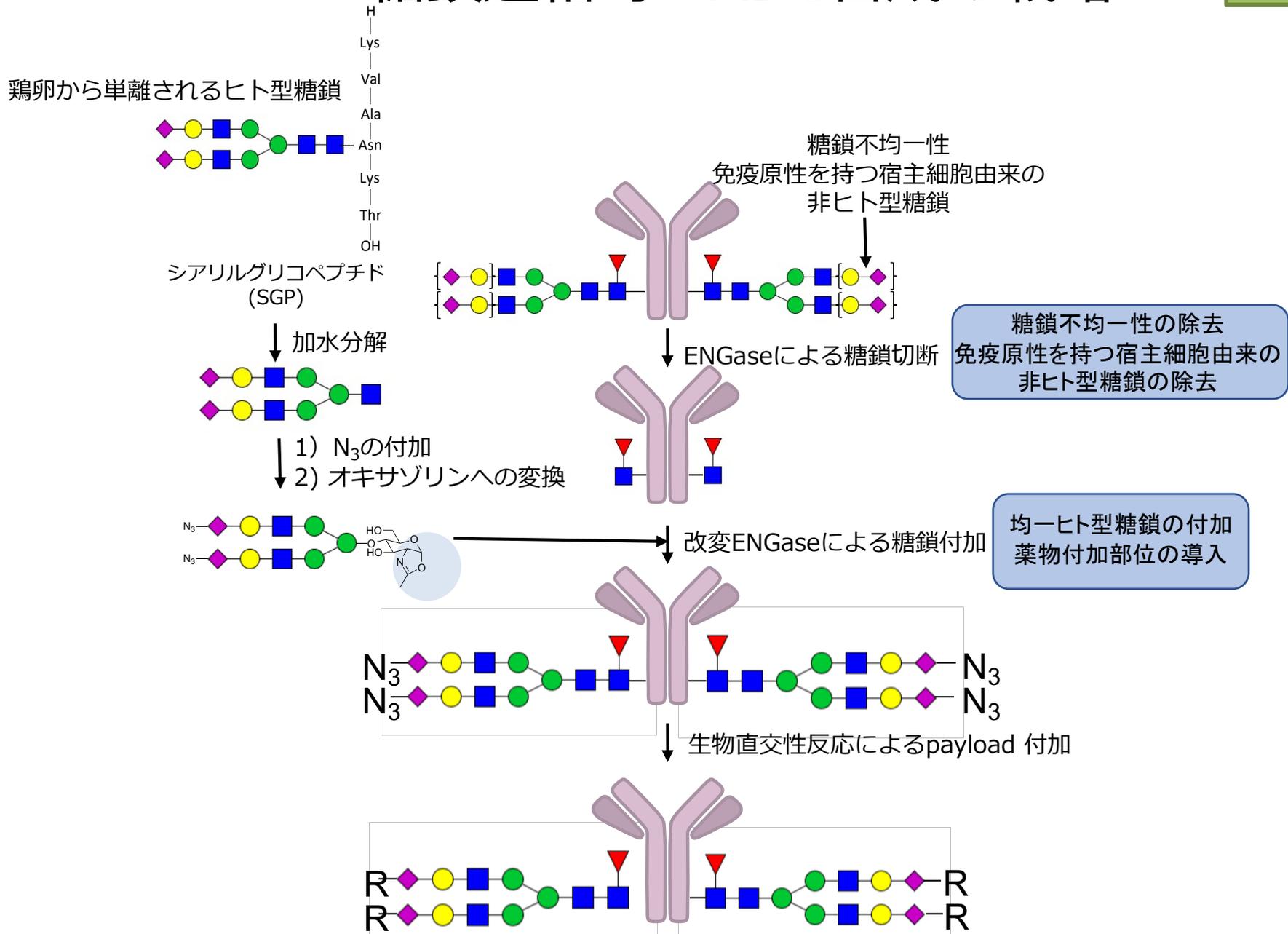
Fc 領域にのみ結合するので、抗原との結合に影響を及ぼさない。
この改良型は味の素株式会社によって実用化されている。

均一ADCの合成例：5

抗体のN-結合型糖鎖の構造と問題点



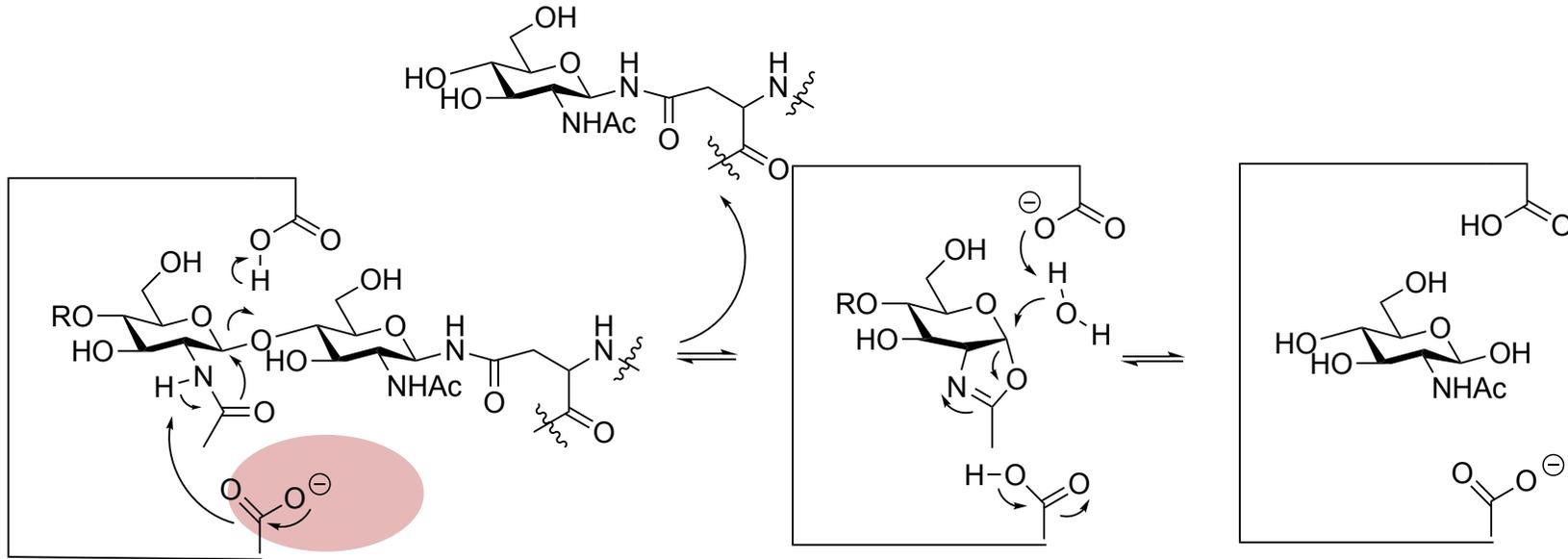
糖鎖は不均一であり、免疫原性を持つ場合もある。



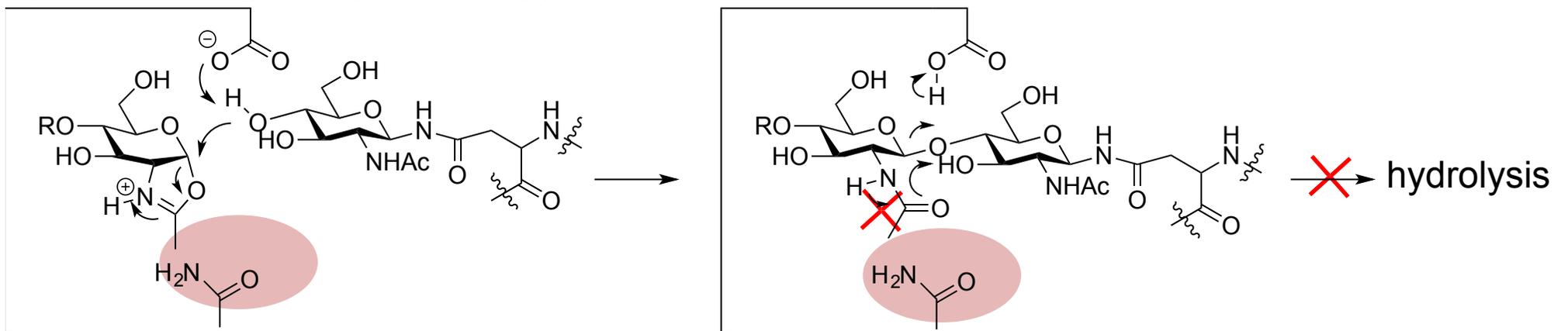
- 糖鎖部位にのみ薬物を結合できる（1抗体あたり4個の薬物）。
- 糖鎖構造も均一に制御できる。
- 宿主動物細胞由来の免疫原性を持つ部分を除去できる。

糖加水分解酵素の反応機構と酵素改変

オキサゾリンは反応遷移状態ミミックである。



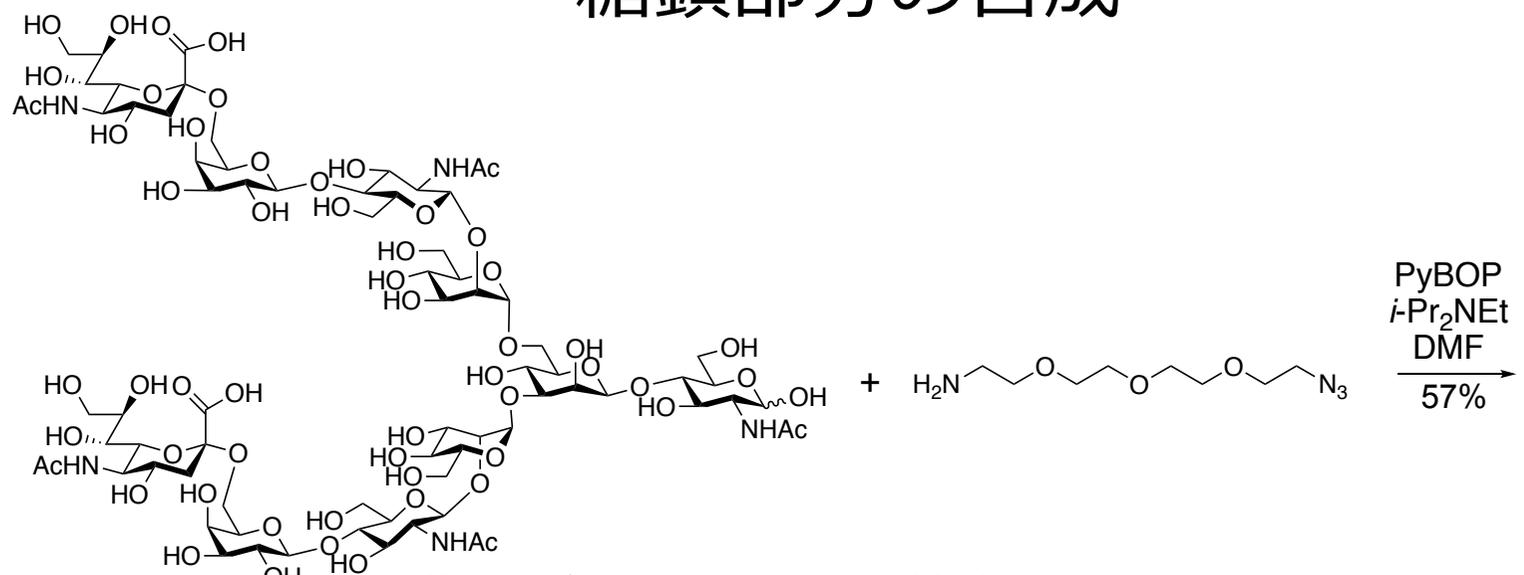
糖加水分解酵素を糖転移能はあるが、加水分解は抑えることができる酵素に改変できる。
オキサゾリンを糖供与体として使用できる。



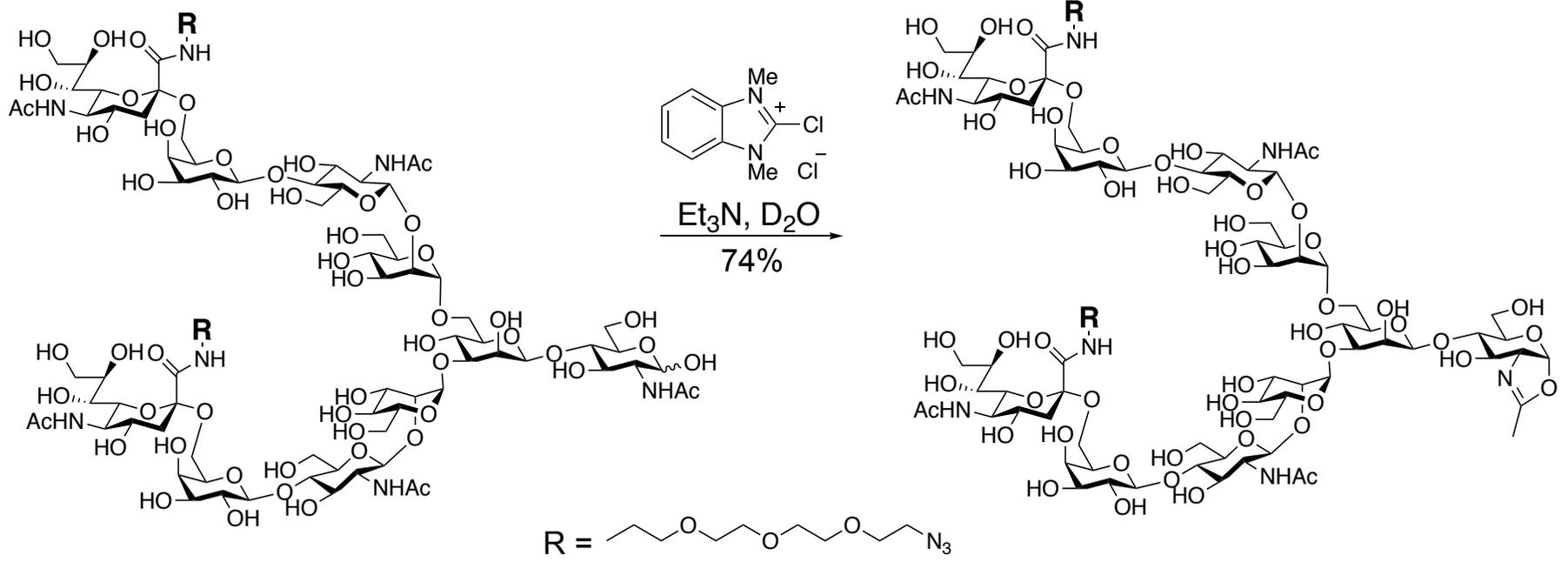
M. Fujita *et al.* *Biochim. Biophys. Acta.* **2001**, 1528, 9: M. Umekawa *et al.* *J. Biol. Chem.* **2011**, 285, 511: W. Huang *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 12308.

S. Manabe *et al.* *R. Soc. Open Sci.* **2018**, 5, 171521.

糖鎖部分の合成

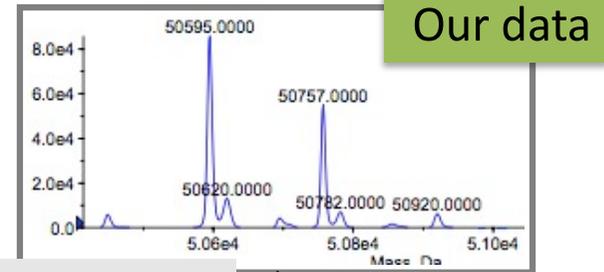


卵黄から単離できるヒト型糖鎖



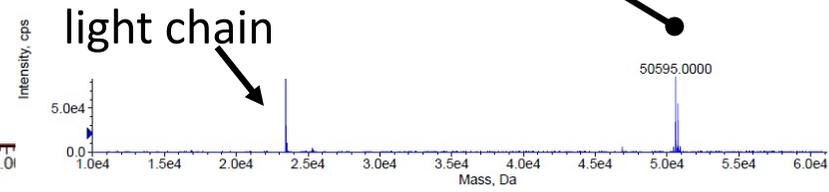
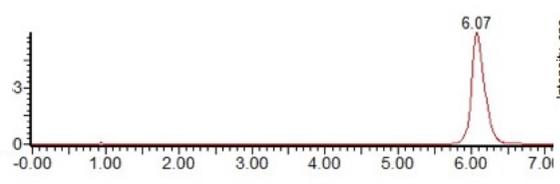
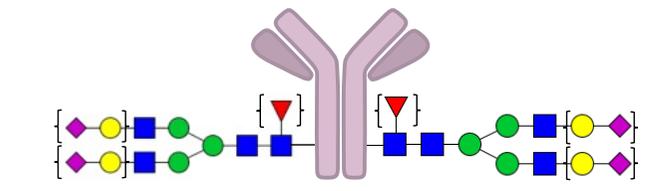
M. Noguchi *et al.* *Helv. Chim. Acta.* **95**, 1928 (2012)
S. Manabe *et al.* *HeteroCycles*, **97**, 1203 (2018)

糖鎖連結ADCの各工程の均一性

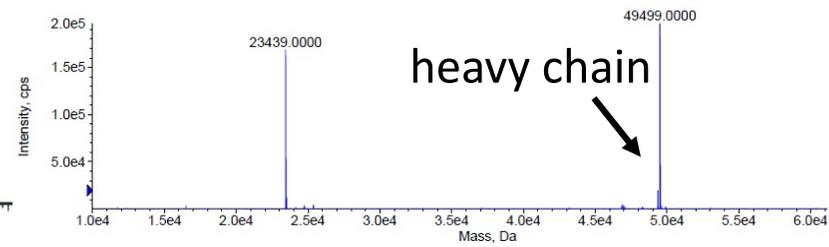
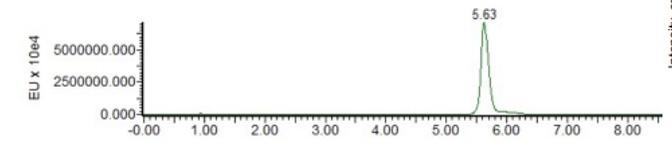
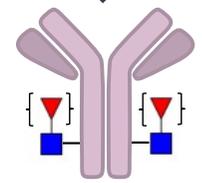


HILIC analyses

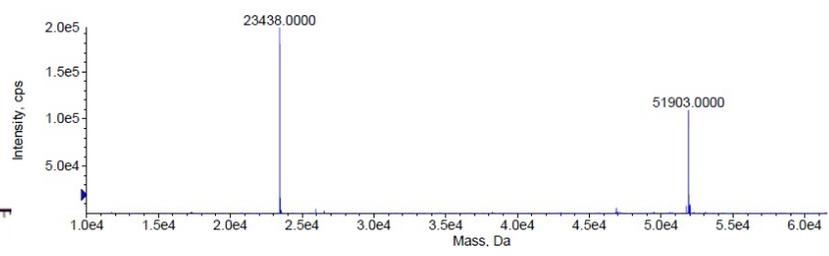
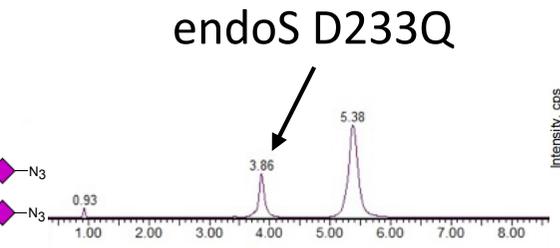
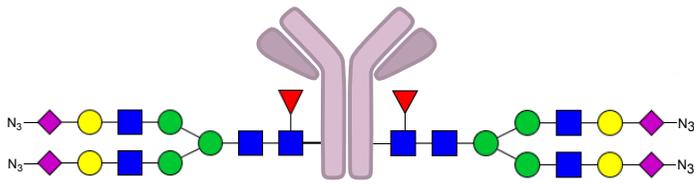
ESI-MS analyses



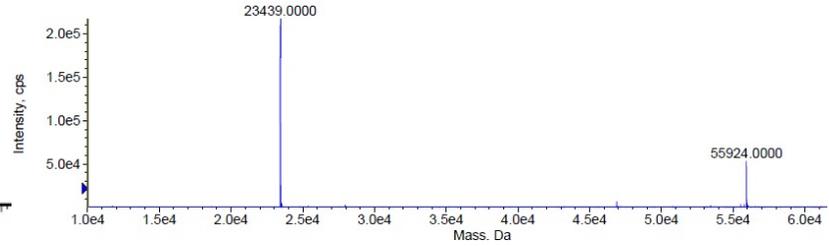
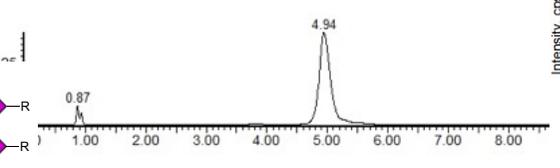
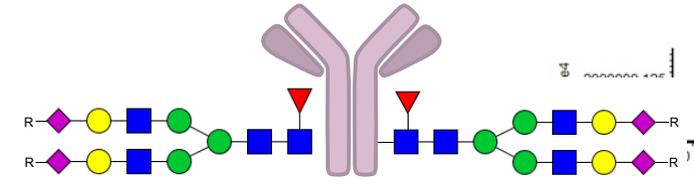
Trastuzumab
糖鎖除去 ↓ endoS



糖鎖付加 ↓ endoS D233Q



payload 付加 ↓

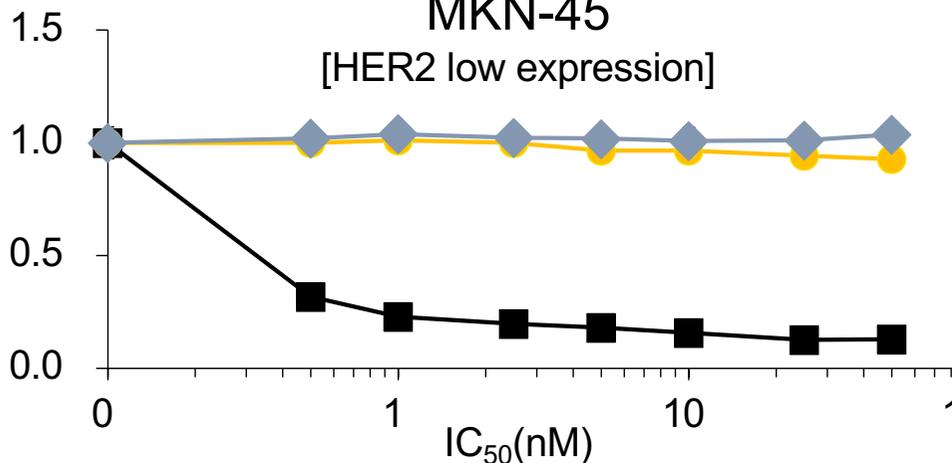


Glycoprotein BEH Amide 300 A
1.7μm ex 280nm, em 320nm

After DTT treatment
S. Manabe *et al. Bioconj. Chem.* **30**, 1343 (2019)

細胞毒性 (*in vitro*)

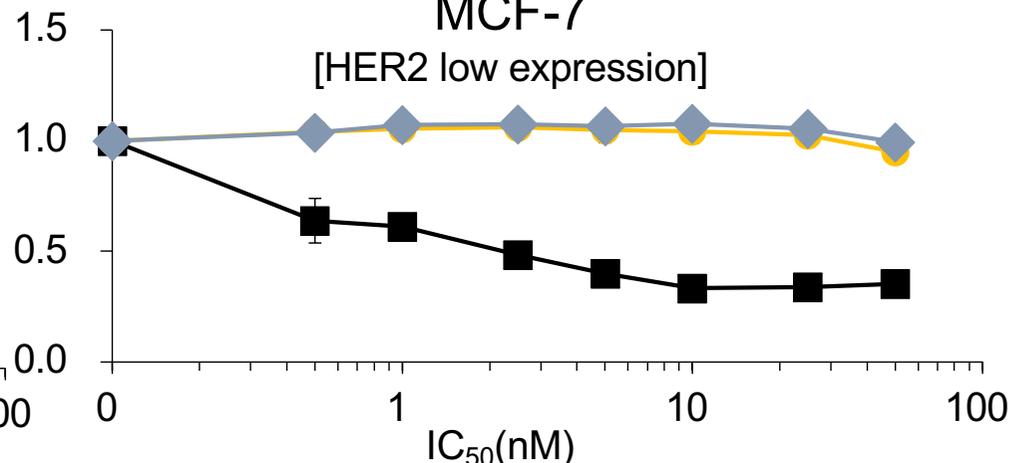
Gastric cancer cell line
MKN-45



MMAE: 0.3

Trastuzumab:-
Trastuzumab-ADC: -

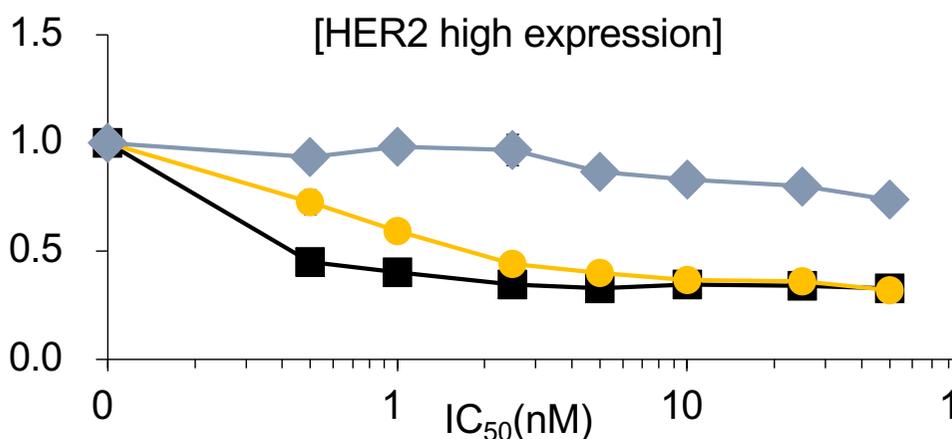
Breast cancer cell line
MCF-7



MMAE: 2.2

Trastuzumab:-
Trastuzumab-ADC: -

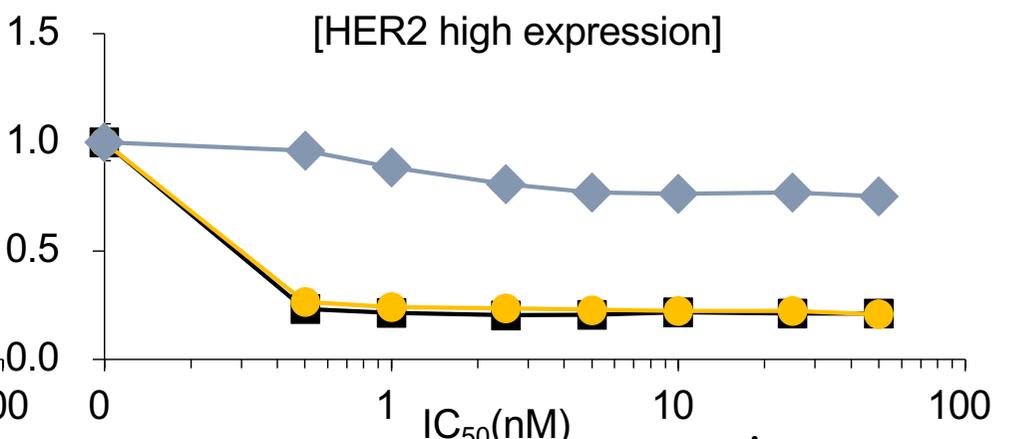
N-87



MMAE: 0.4

Trastuzumab:-
Trastuzumab-ADC: 1.8

SK-BR-3



MMAE: 0.3

Trastuzumab:-
Trastuzumab-ADC: 0.3

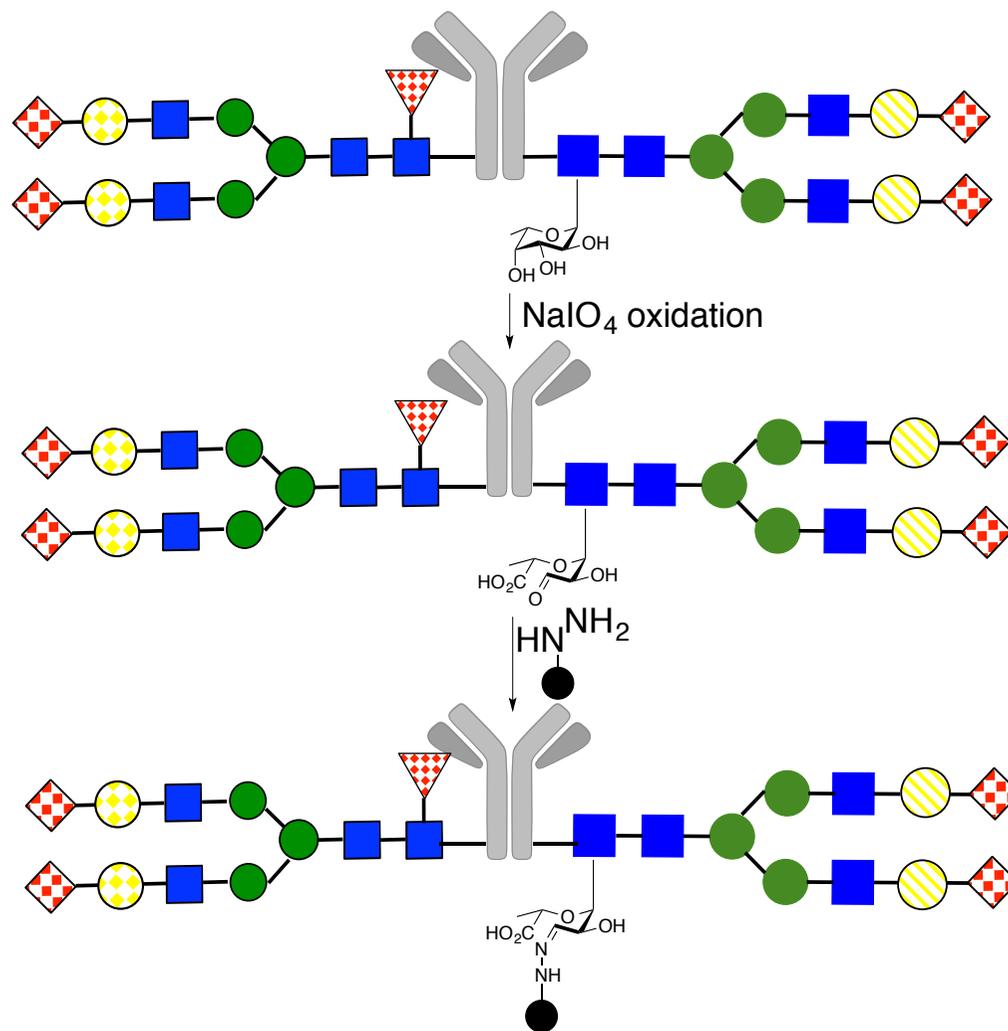
— : MMAE
— : Trastuzumab
— : Trastuzumab-ADC

他の糖鎖連結ADC合成

糖鎖のcis-ジオール酸化開裂により生成した
カルボニル基への付加による薬物の結合

抗体に含まれていない官能基を部位特異的に作り出す。

抗体に含まれていない官能基=ホルミル基

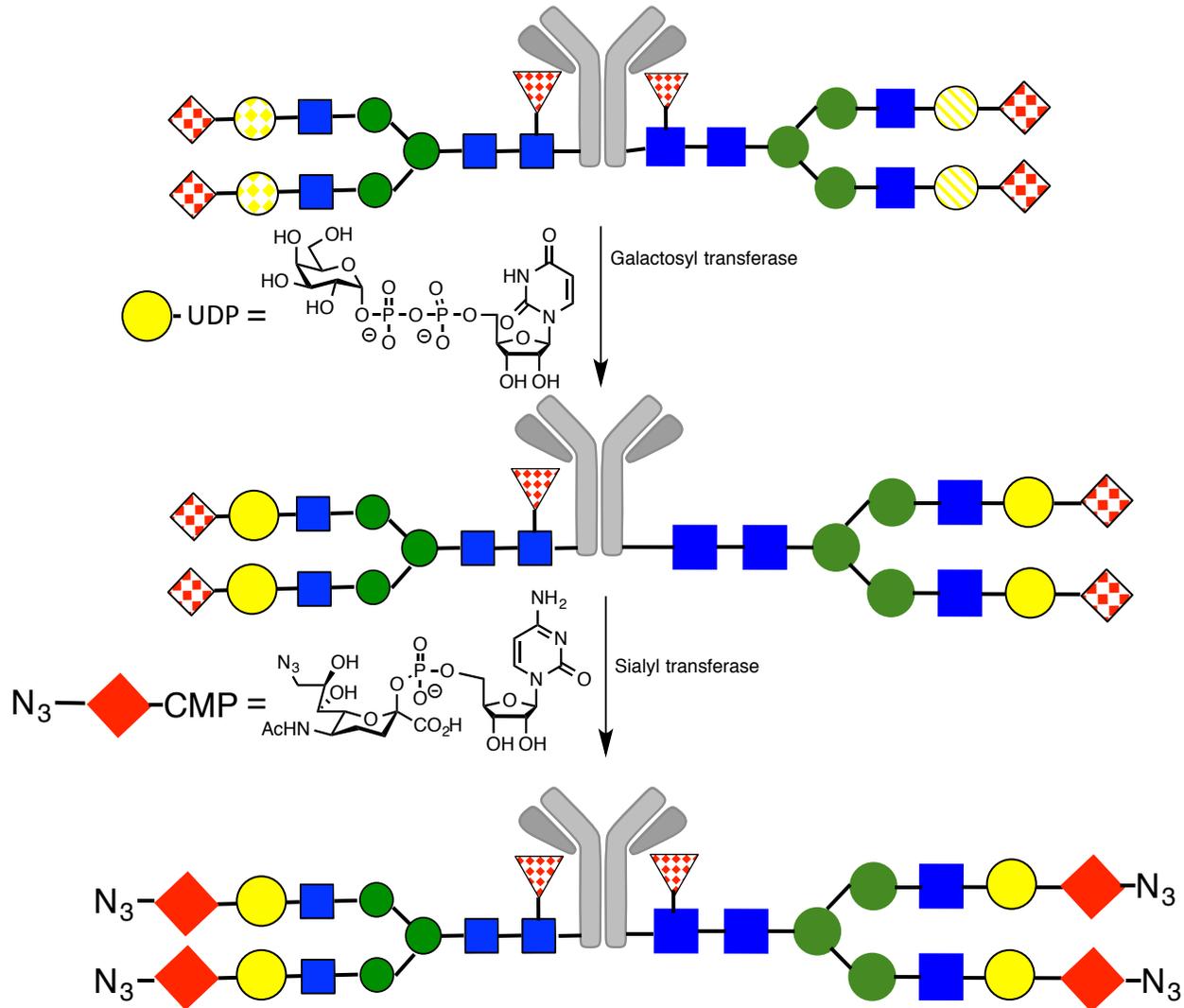


メチオニンやインドールなどの酸化に弱い官能基が損傷する欠点

他の糖鎖連結ADC合成

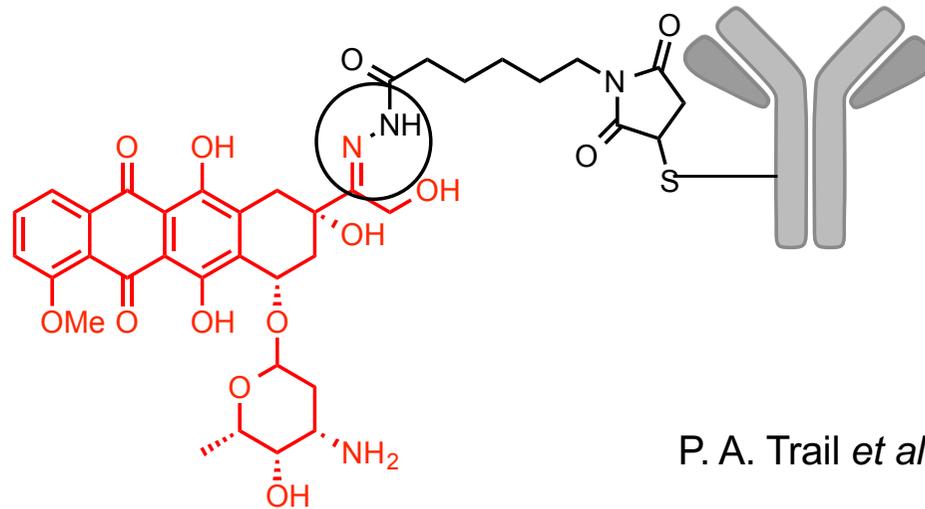
シアル酸転移酵素によるアジド修飾型
シアル酸導入による抗体-薬物複合体の合成 I

3



初期のリンカー

加水分解による薬物の放出がなされる。
選択的な切断ではないので、血清中でも薬物の放出がおこってしまう問題点。

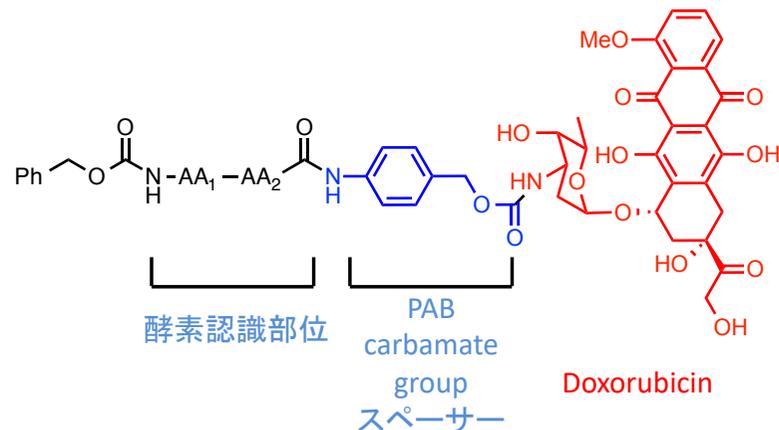


P. A. Trail *et al.* *Science*, **261**, 212 (1994)

ADCでは除放性と特異的放出が大事。
酵素による切断が望ましい。

リンカーの構造と薬物放出速度の制御

カテプシンB 切断型リンカー



	AA1	AA2	PAB carbamate	薬物放出速度 (半減期)
1	Phe	Lys	-	放出されない
2	Phe	Lys	+	8 min
3	Val	Cit	+	630 min

G. M. Dubowchik et al. *Bioconj. Chem.* **13**, 855 (2002)

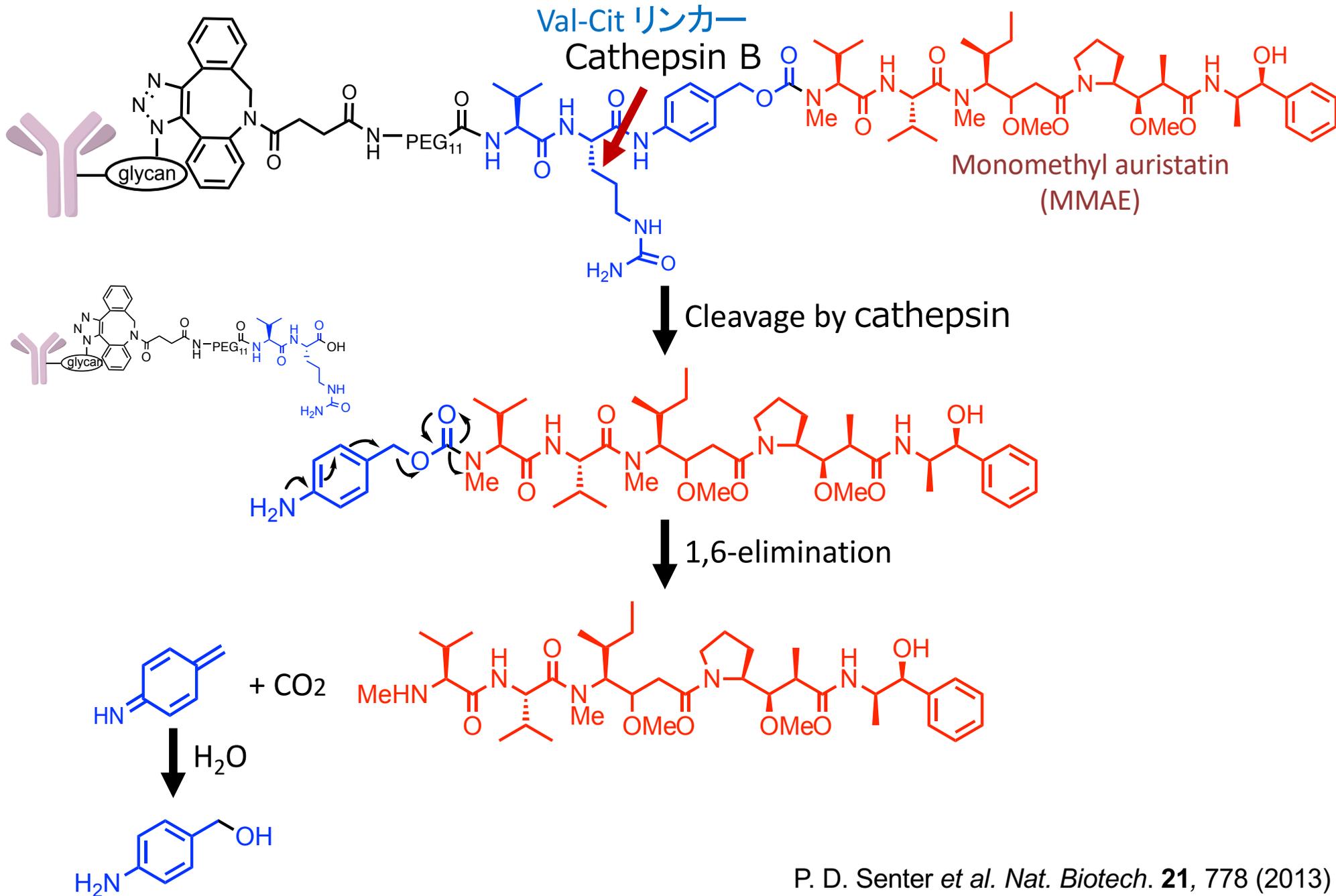
最も一般的なリンカー。

ただし、最近、

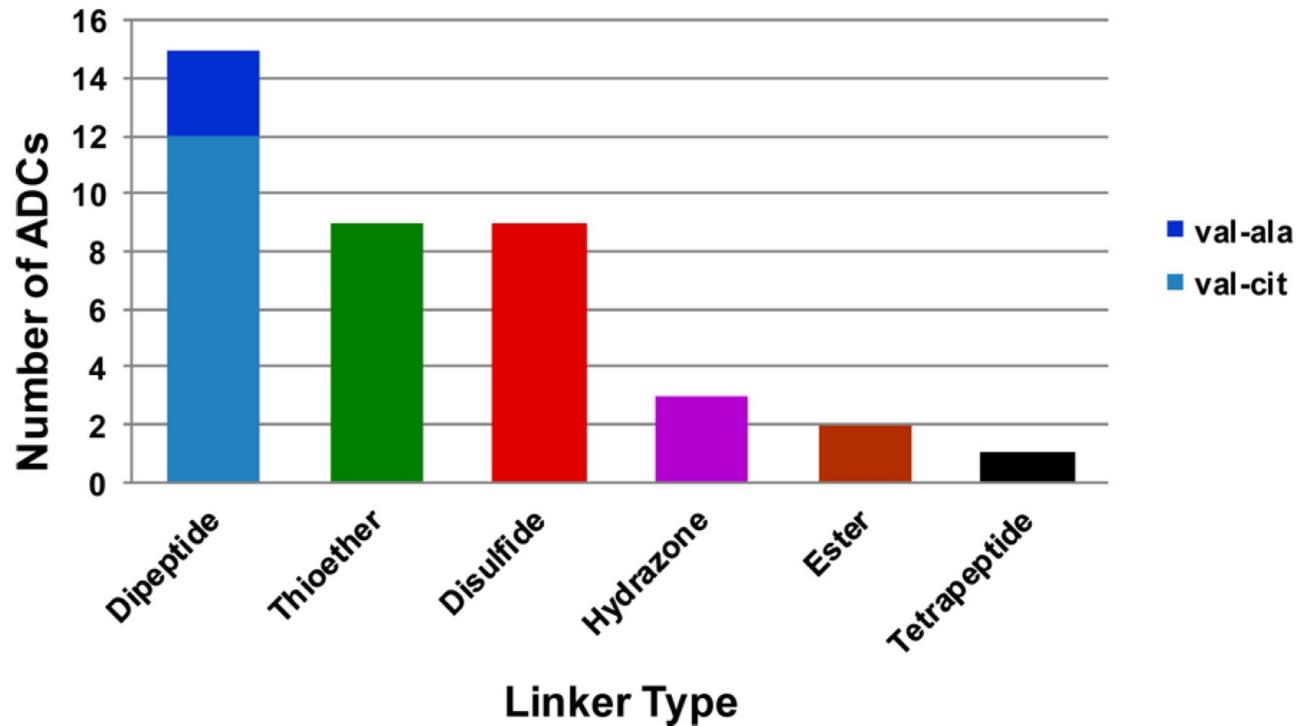
- CRISPR-Cas9によりカテプシンB をノックアウトした系でも薬物が放出される。
- カテプシンBよりもカテプシンSの方が切断速度がはやい。
- 細胞の外でも薬物が放出される（本来は、リソソームに存在するカテプシンが病変により細胞外に漏れ出すことから原因？）
- ことが、報告されている。

N. G. Caculitan et al., *Cancer Res.* **77**, 7027 (2017) ; M Dorywalska et al., *Mol. Cancer Ther.* **15**, 958 (2016)

リンカーの設計



現在ADC において使用されているリンカー

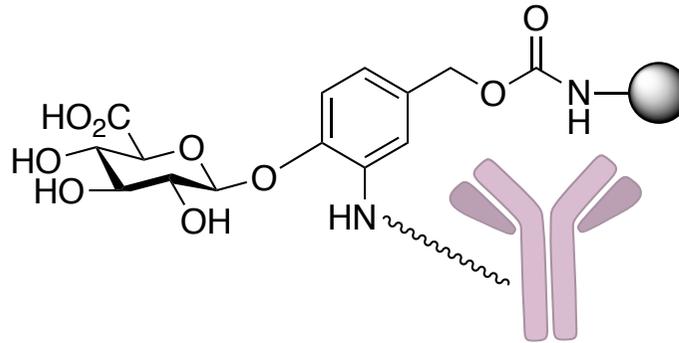


V. J. Chari, *ACS Med. Chem. Lett.* 7, 974 (2016)

実はリンカーのバリエーションは少ない。

酵素切断リンカーのバリエーション

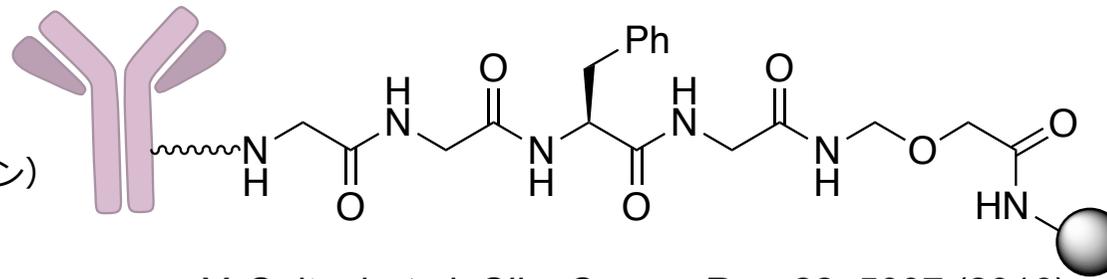
グルクロン酸切断



S. C. Jeffrey *et al.* *ACS Med. Chem. Lett.* **1**, 277 (2010)

プロテアーゼ切断

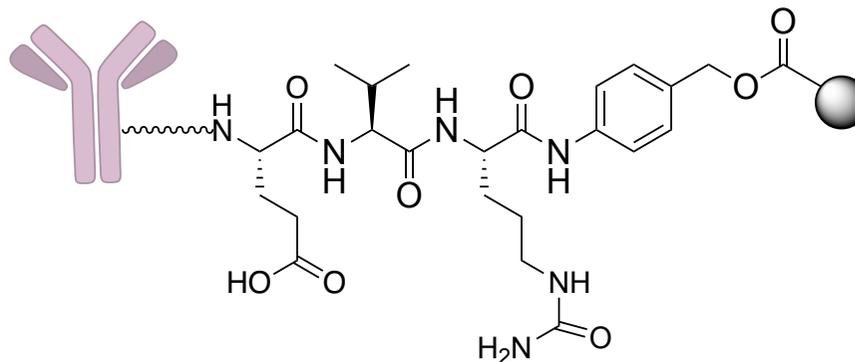
(トラスツズマブ デルクステカン)



Y. Ogitani *et al.* *Clin. Cancer Res.* **22**, 5097 (2016)

カテプシン切断

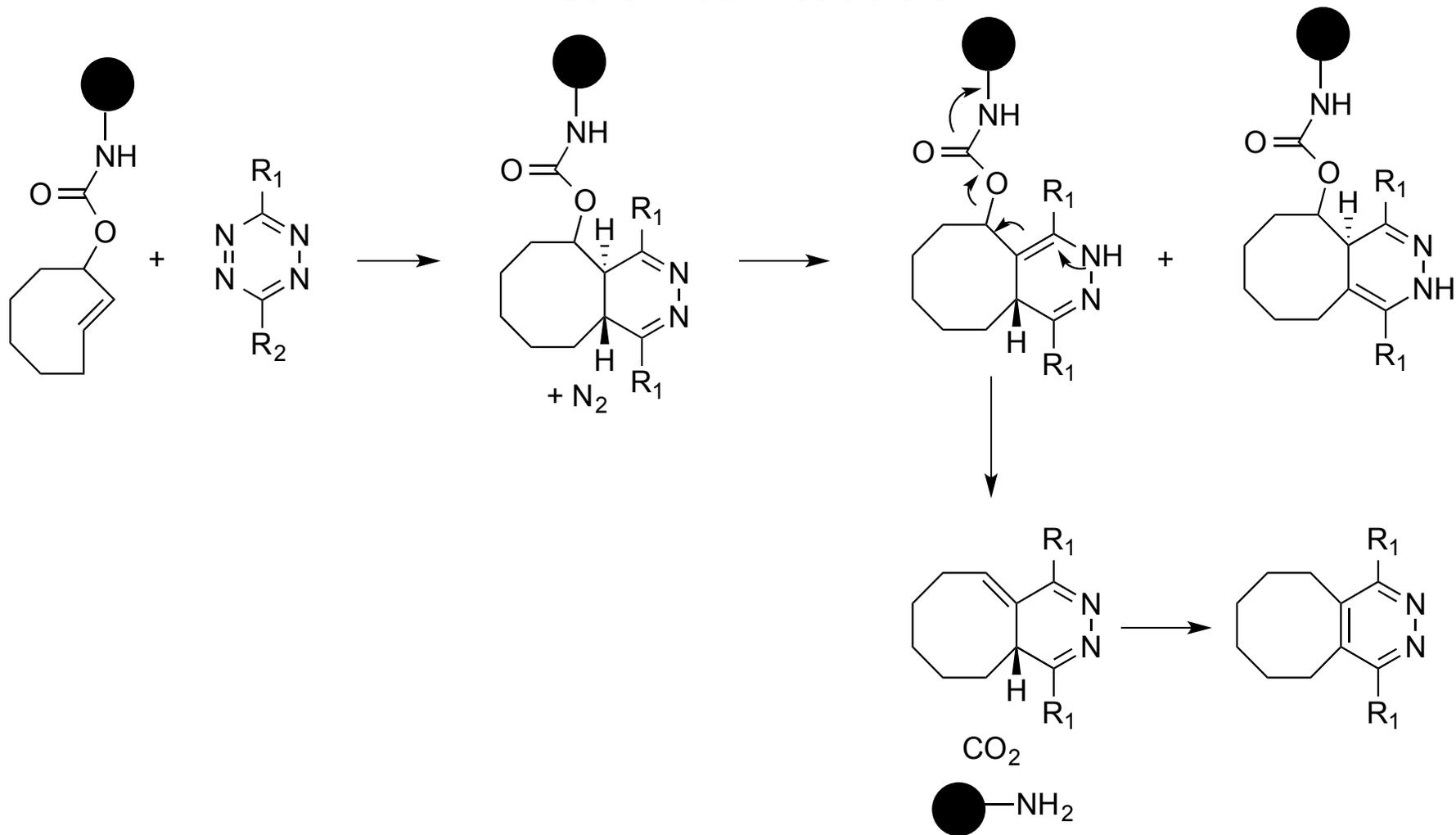
マウス内エステラーゼに対して
Val-Cit よりも安定



Y. Anami *et al.* *Nature Commun.* **9**, 1 (2018)

逆電子要請Diels-Alder 反応による薬物放出機構

Click to release

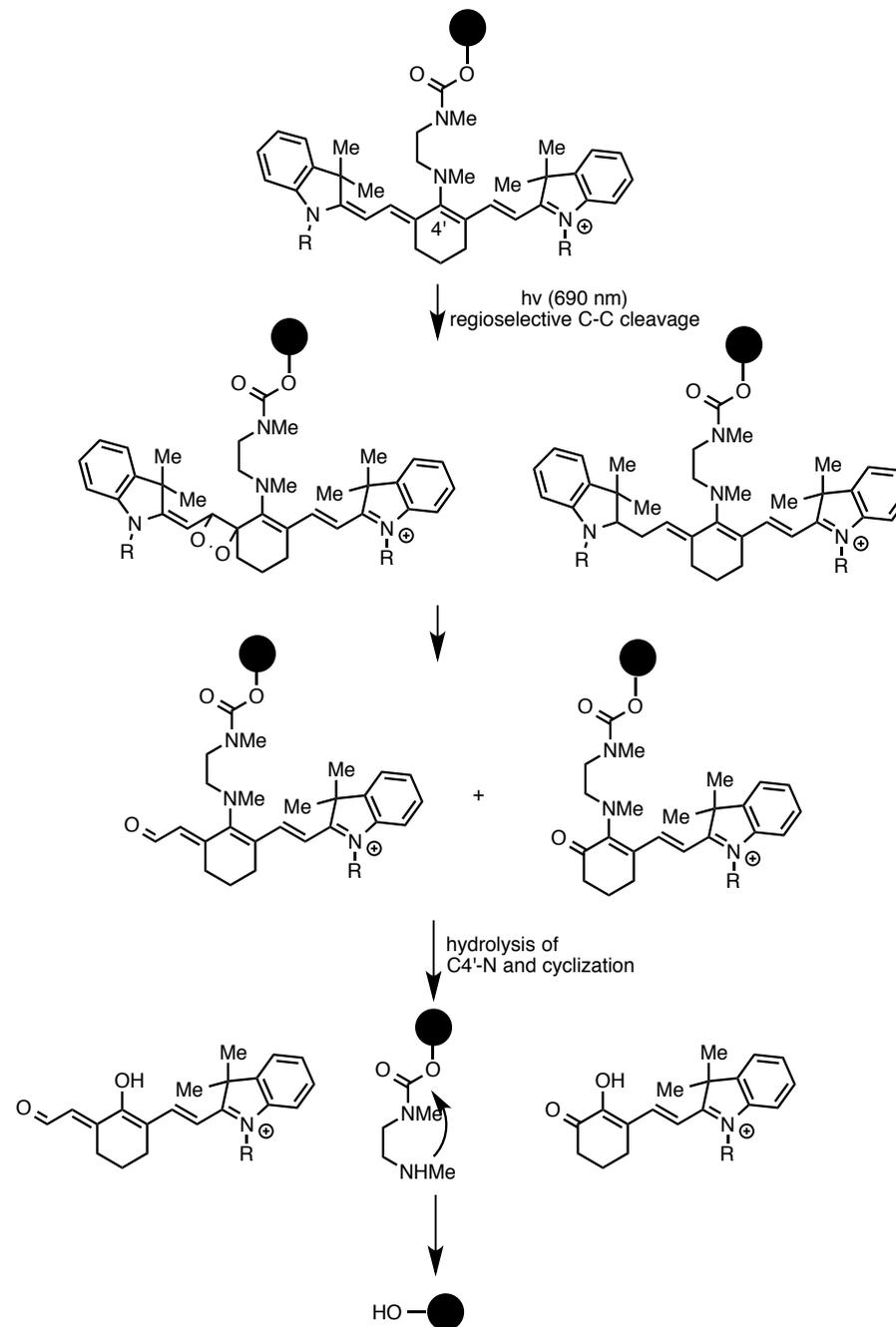


R. M. Versteegen *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed.* **52**, 14112 (2013)

R. Rossin *et al.*, *Bioconj. Chem.* **27**, 1697 (2016)

J. Li, P. R. Chen, *Nat. Chem.* **12**, 129 (2016)

近赤外光による薬物放出機構

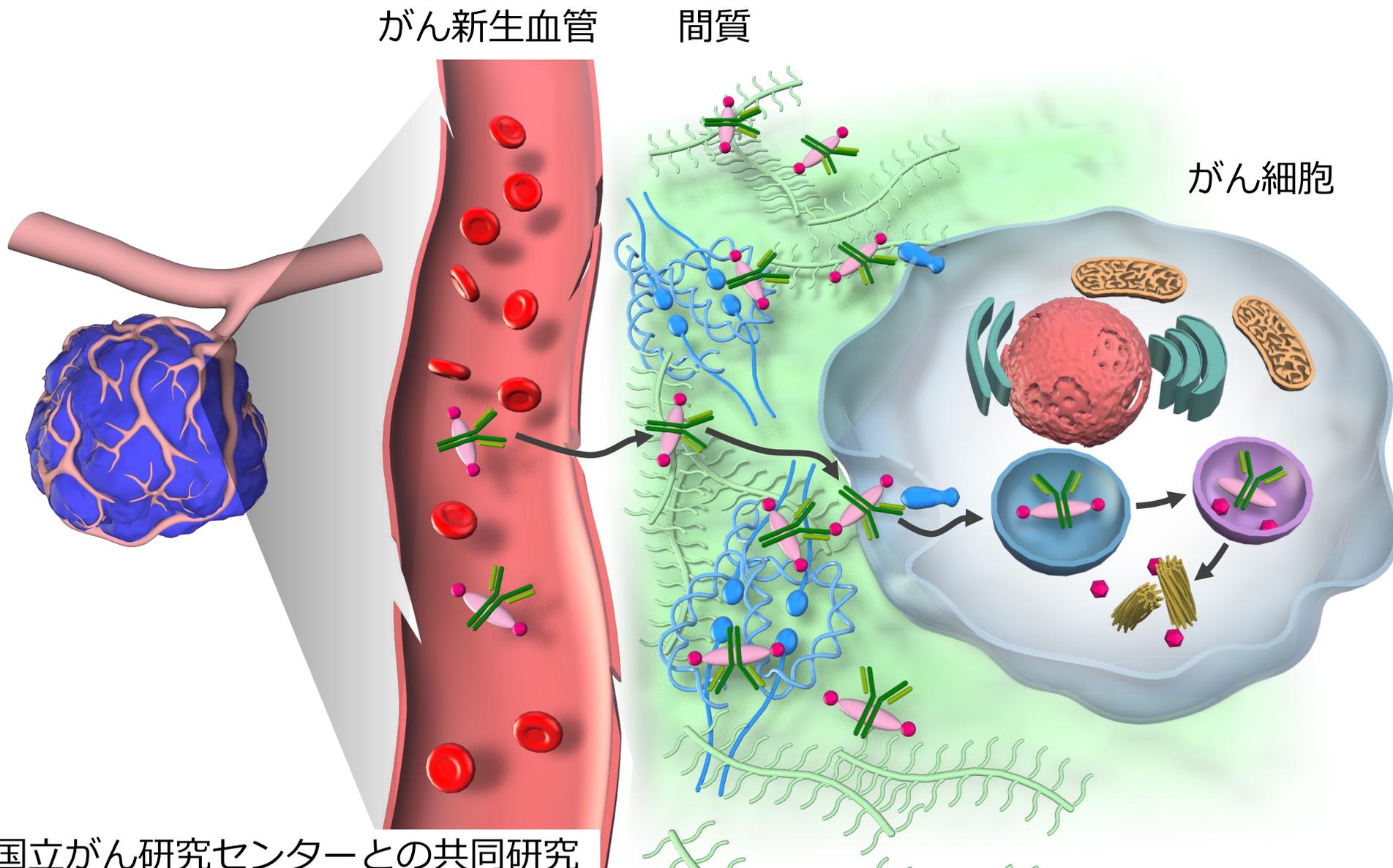


実は抗体医薬は固形がんには効きにくい

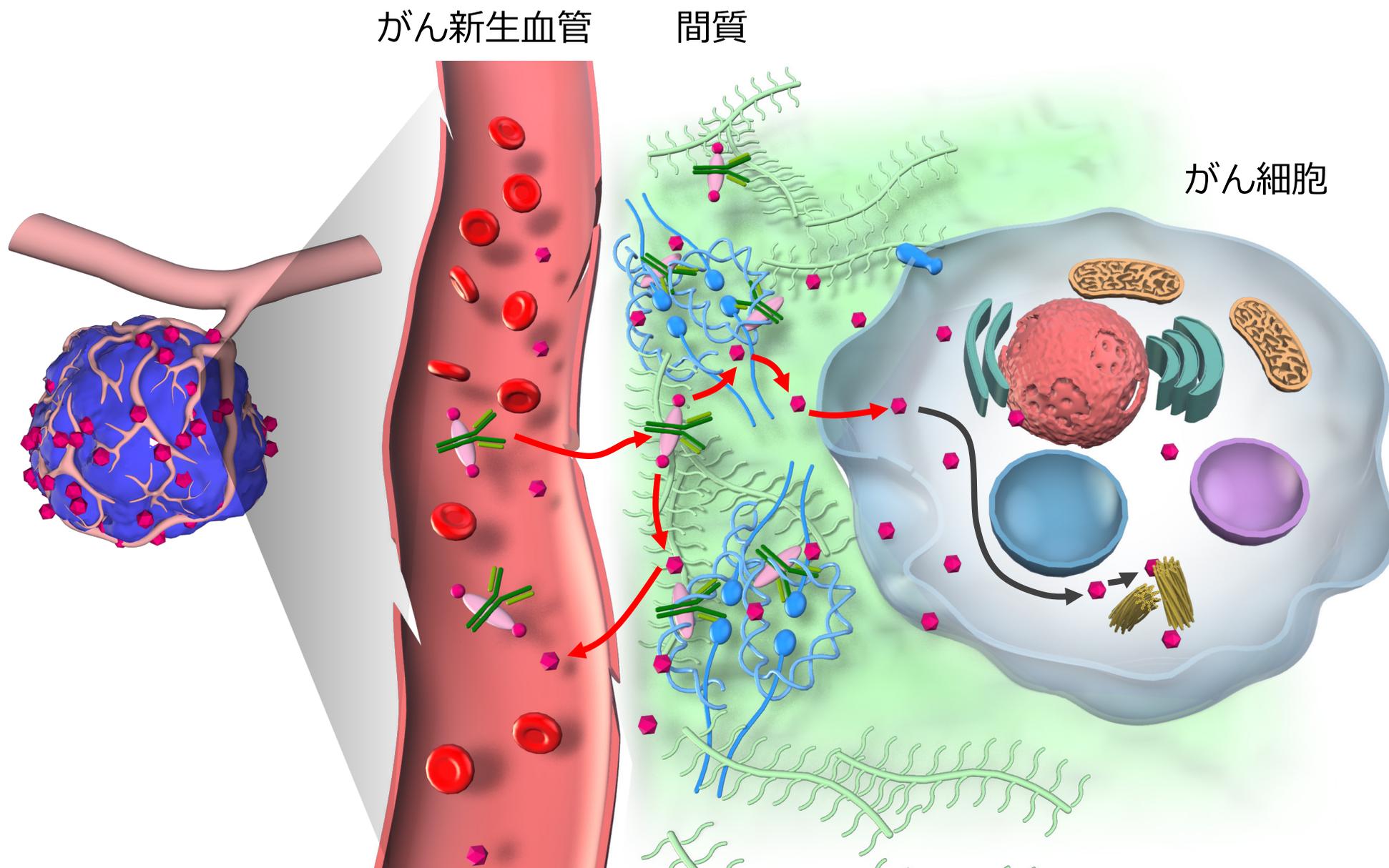
血液がんにはよく効く

間質が抗体のがん細胞への到達を妨げるため

膵臓がんが治療が難しいのは間質が多いため

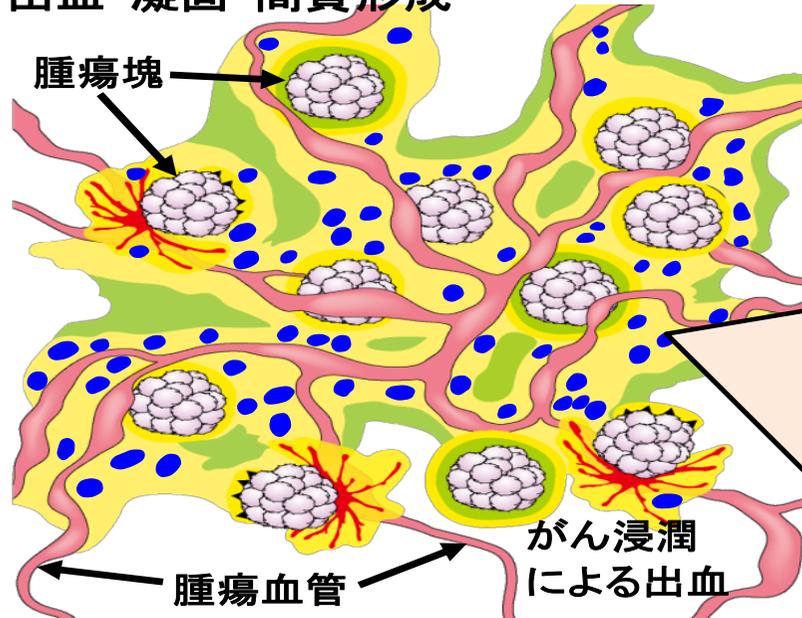


抗間質抗体から細胞の外で薬物を放出する戦略



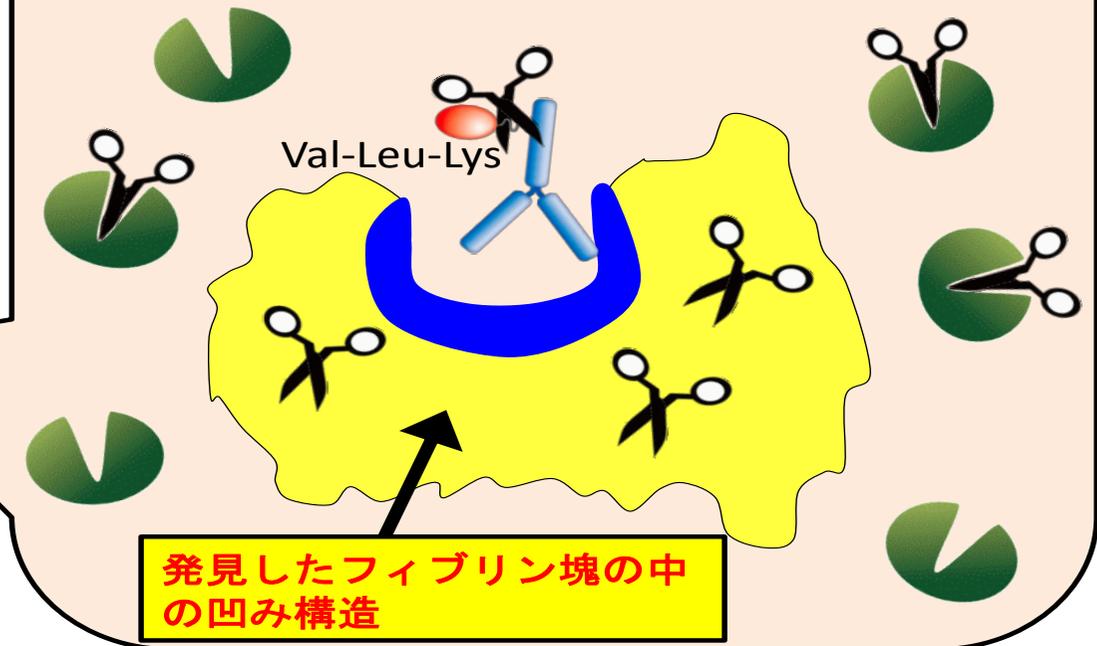
がん間質ターゲティング療法 抗フィブリン抗体に対する新規リンカーの開発

がん組織における多彩な
出血・凝固・間質形成



拡大図

不溶性フィブリン上でのみ働くプロテアーゼで
抗がん剤をリリースさせる**新しいリンカー構造**

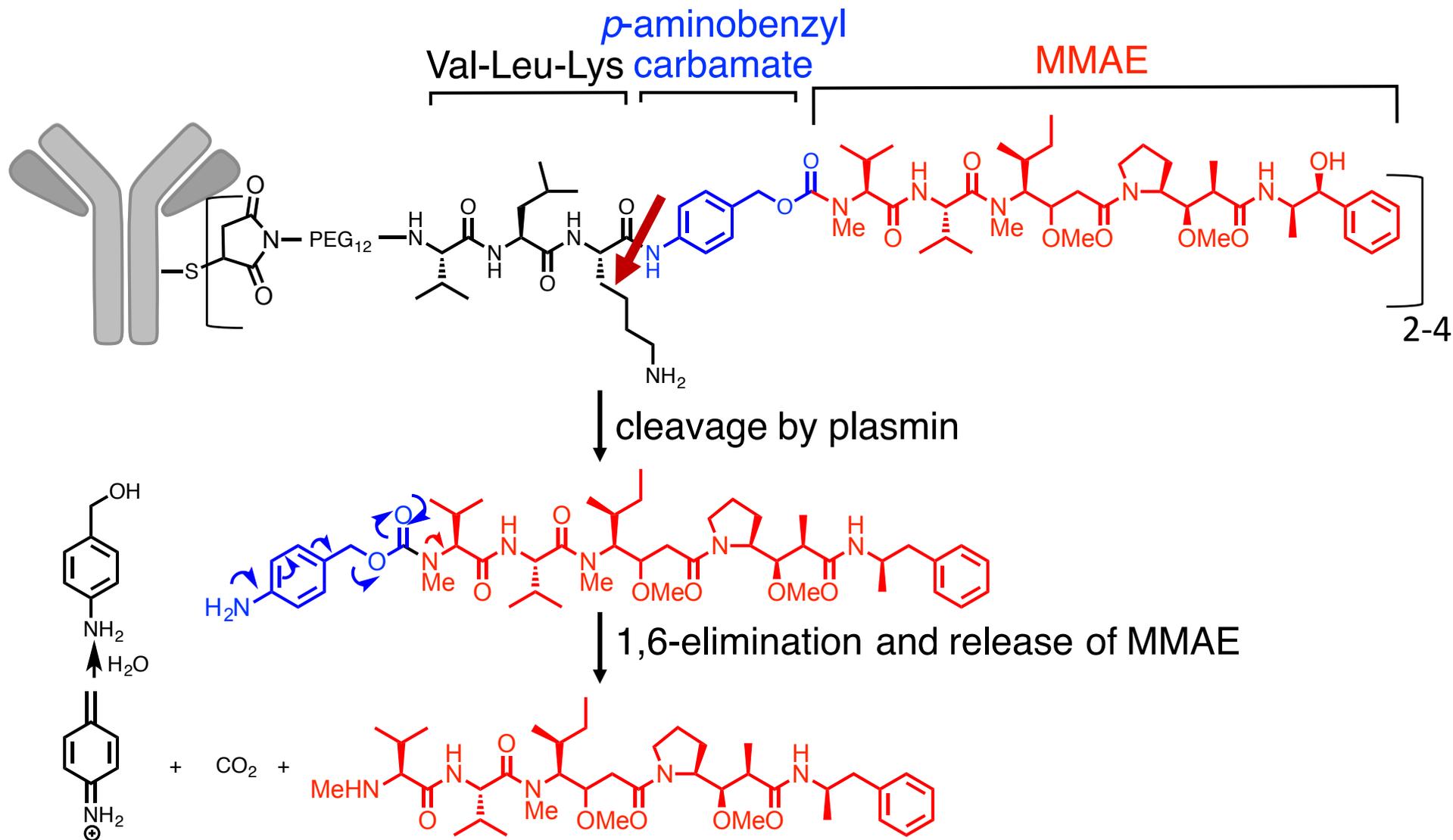


- : プラスミン
- : α_2 -アンチプラスミン
- : 不活性化されたプラスミン

国立がん研究センターとの共同研究

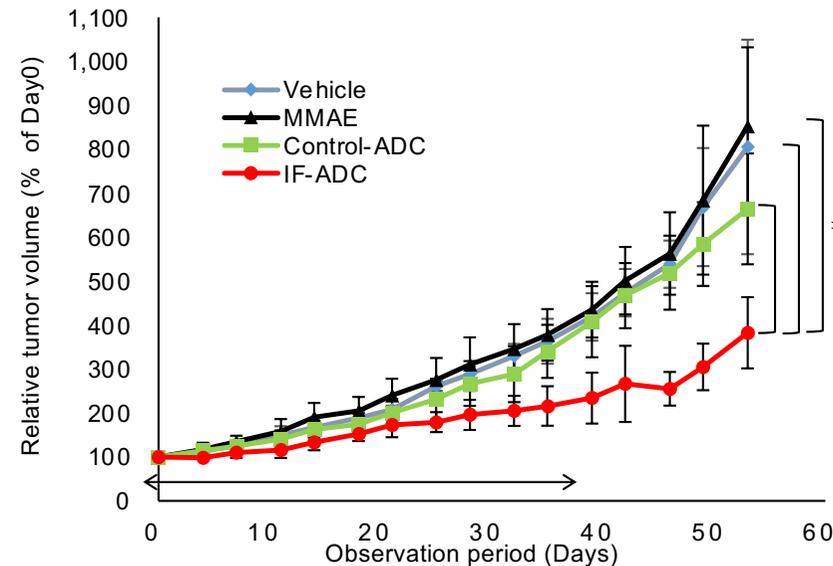
フィブリン上でのみ活性であるプラスミンで切断できるVal-Leu-Lys 構造を持つリンカーを設計する。

プラスミン切断リンカーの設計



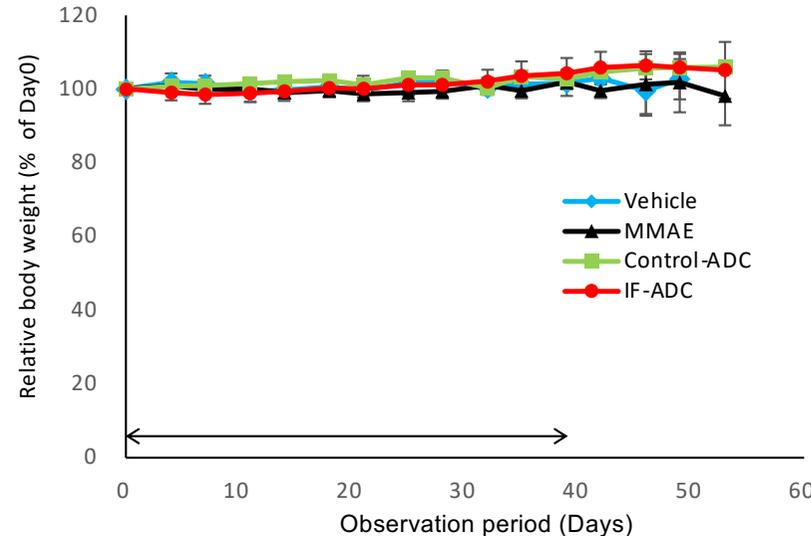
間質が豊富な動物モデルにおけるADCの効果

5-11皮下腫瘍モデル(間質が多い KPC マウスモデル)における抗腫瘍効果



PBS n=6
 MMAE, Control-ADC n=7
 IF-ADC n=8
 Means ±SD

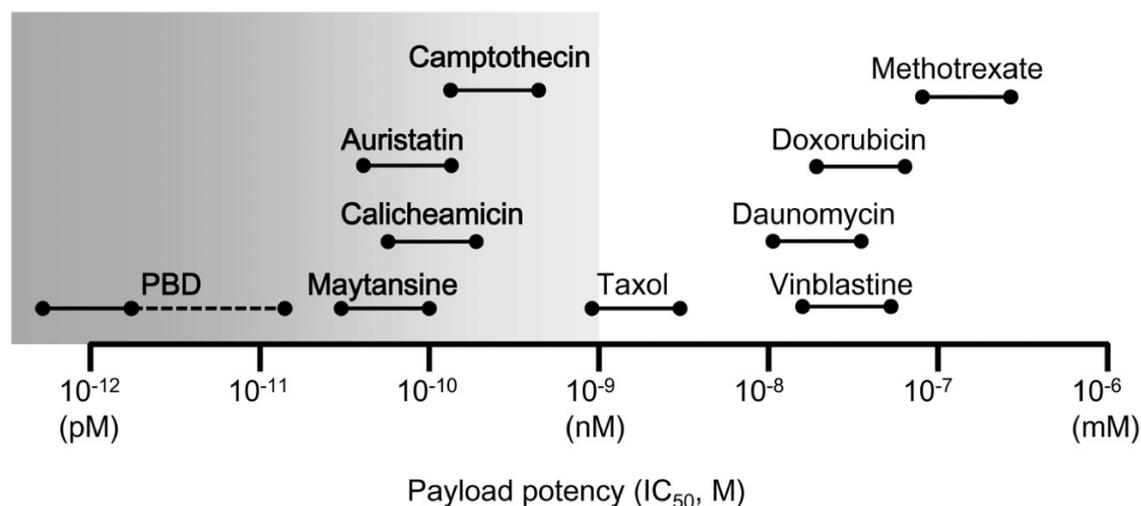
5-11皮下腫瘍モデル (間質が多いKPC マウスモデル) における副作用



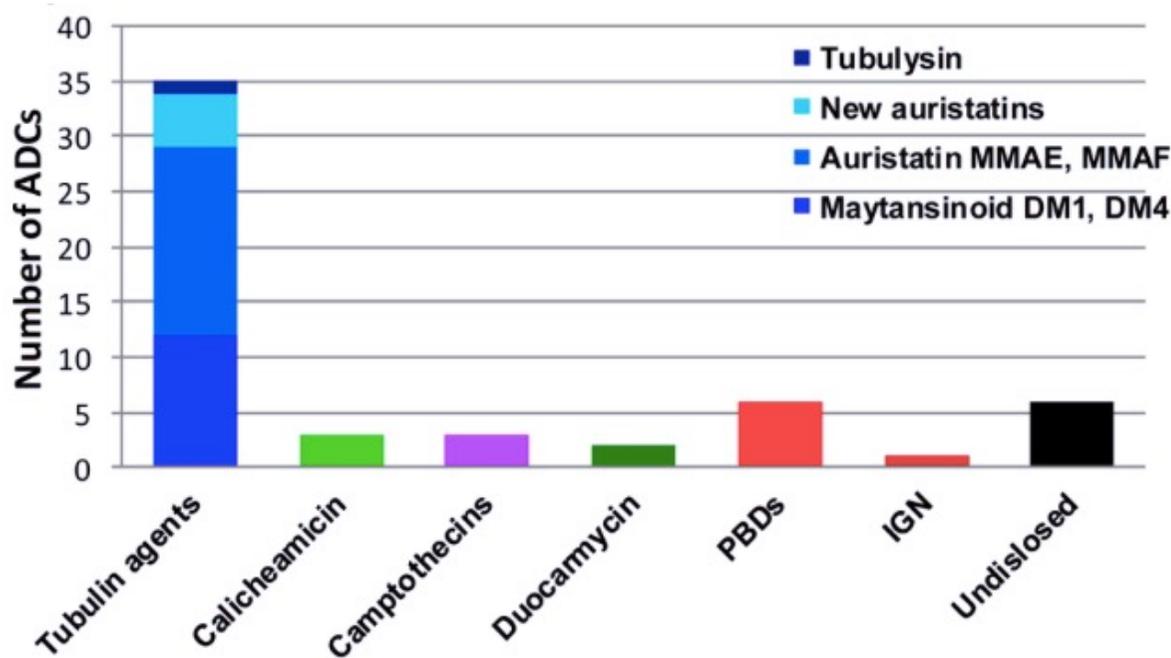
KPC モデル:
 LSL-Kras^{G12D/+};
 LSL-Trp53^{R172H/+};
 Ptf1a-Cre

間質が多いモデルマウスにおいて、抗腫瘍効果の確認と副作用の低減を確認した。

現在ADCにおいて使用されている薬物



T. Nakada *et al. Chem. Pharm. Bull.* **67**, 173 (2019) より抜粋。

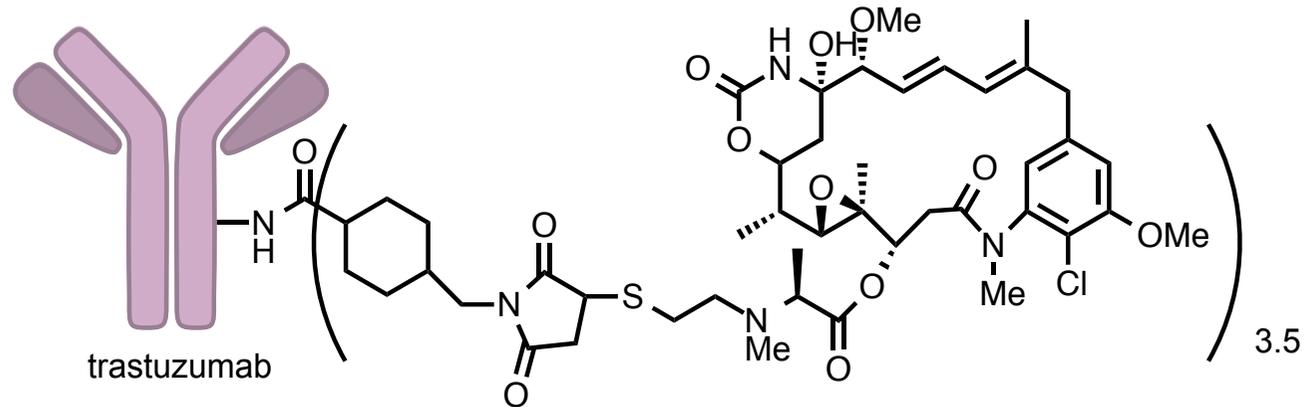


V. J. Chari, *ACS Med. Chem. Lett.* **7**, 974 (2016) より抜粋。

ADC におけるリンカーと薬物の重要性

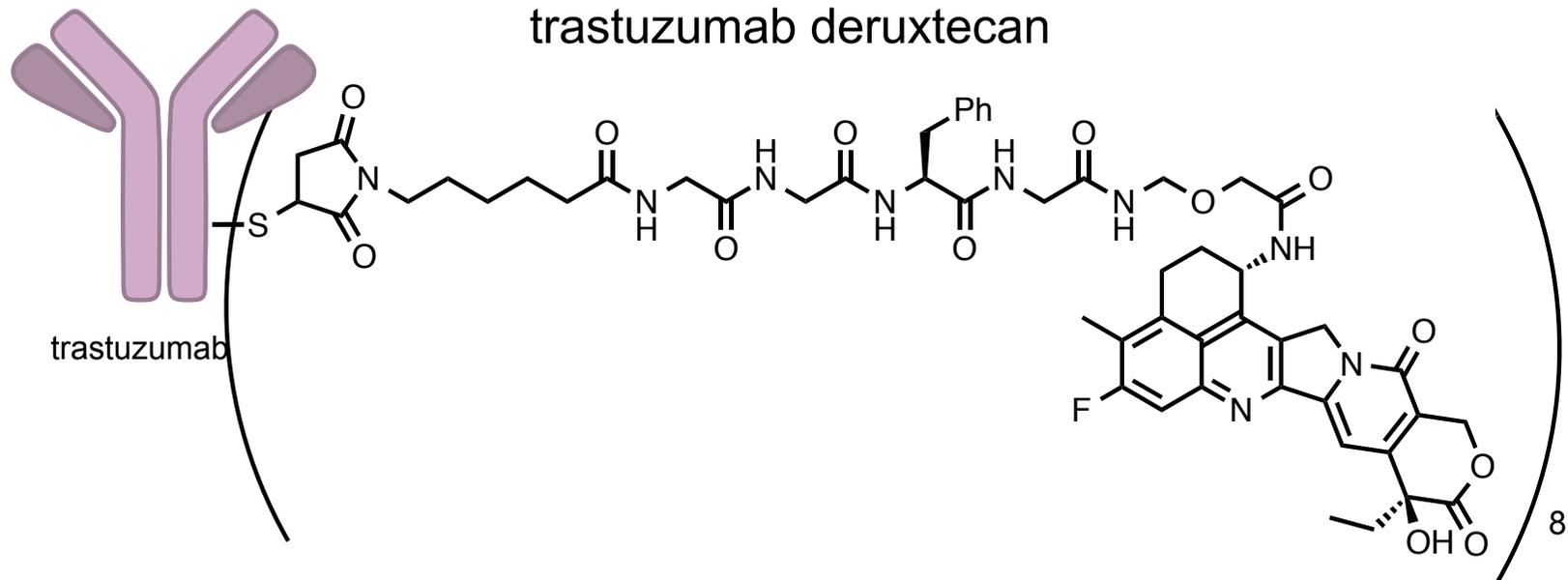
カドサイラ (ロシュ)

trastuzumab emtansine



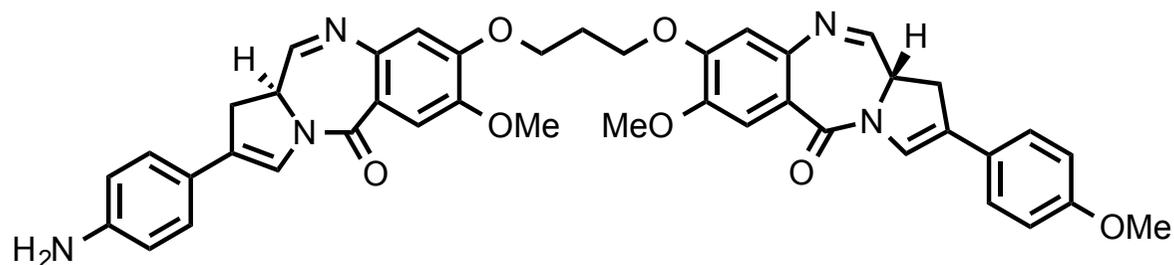
エンハーツ (第一三共製薬)

trastuzumab deruxtecan



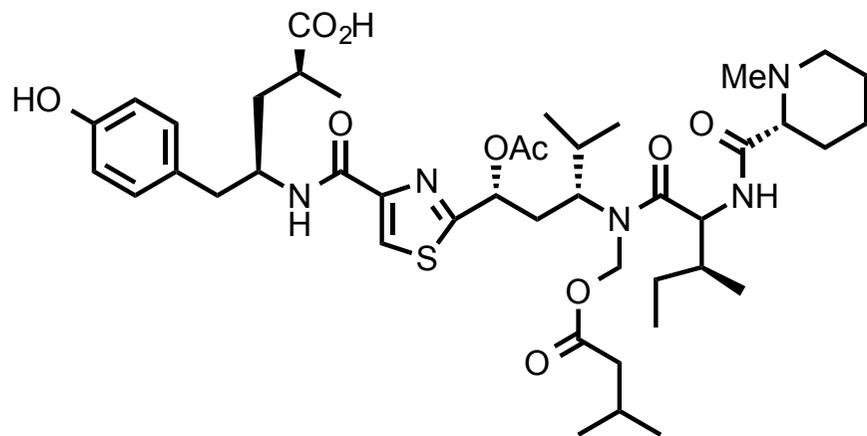
抗体が同じでも薬物とリンカーを変えることで、より効果的なADCが作成可能

ADCに使用されつつある強力な薬物 -1-

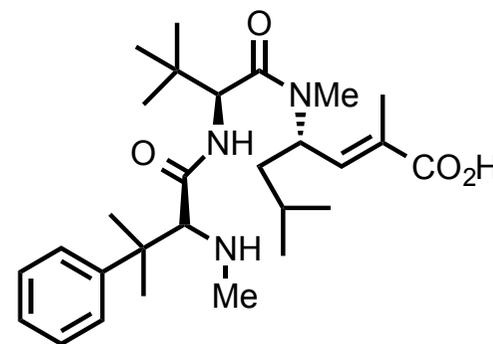


Pyrrolobenzodiazepine Dimer 誘導体

Free drugs	Karpas 299	L540cy	L428	786-0	Caki-1
SGD-1882 (PBD)	0.003	0.002	0.01	0.01	0.0004
MMAE	0.3	0.6	0.7	4	0.8

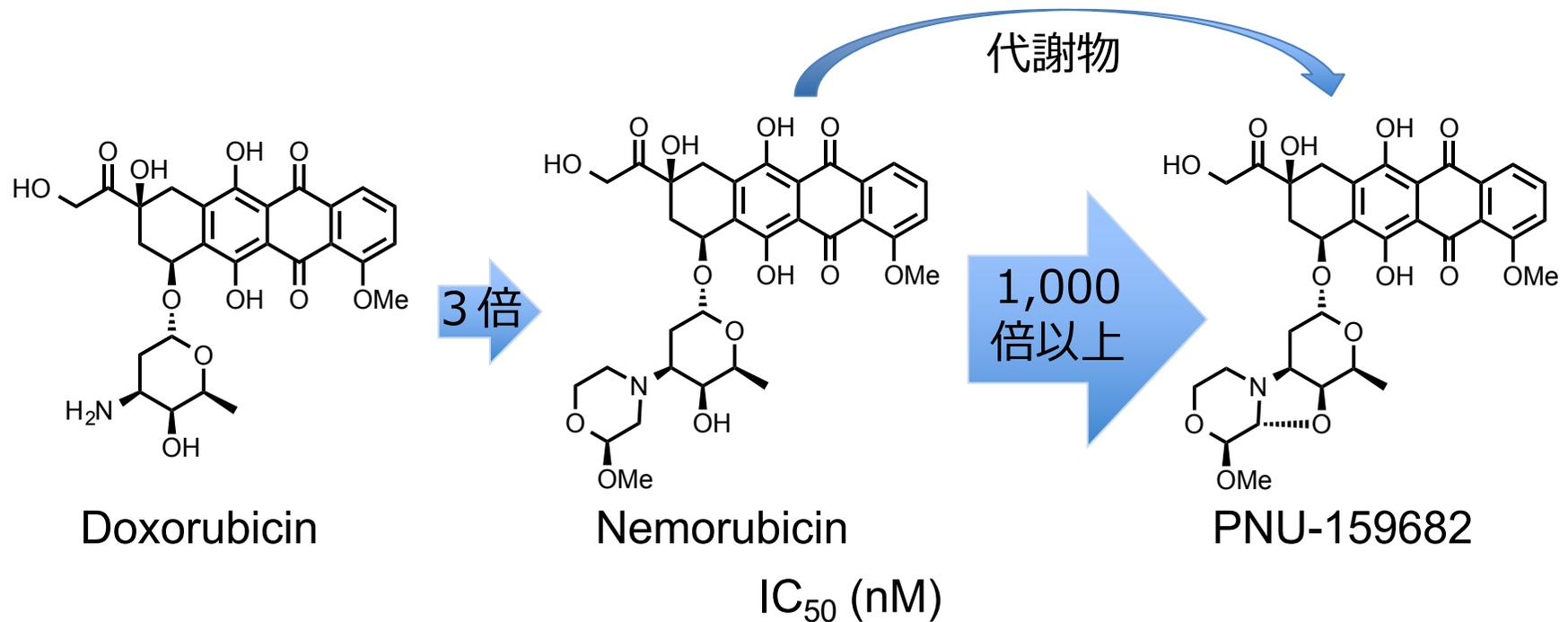


Tubulysin A



Taltobulin
IC₅₀ = 2 nmol

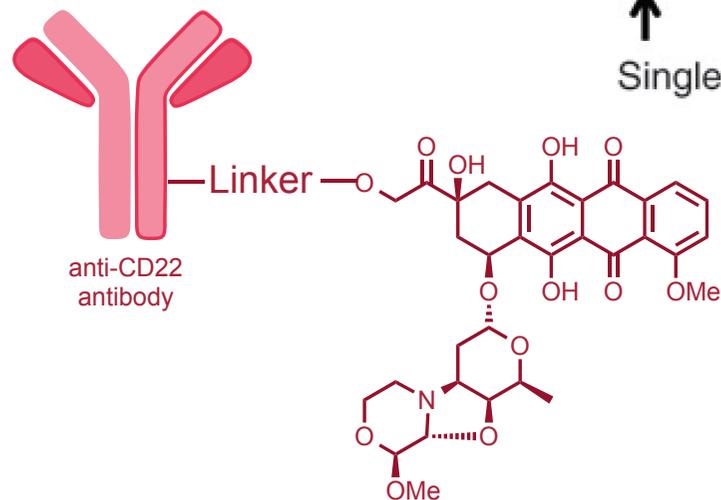
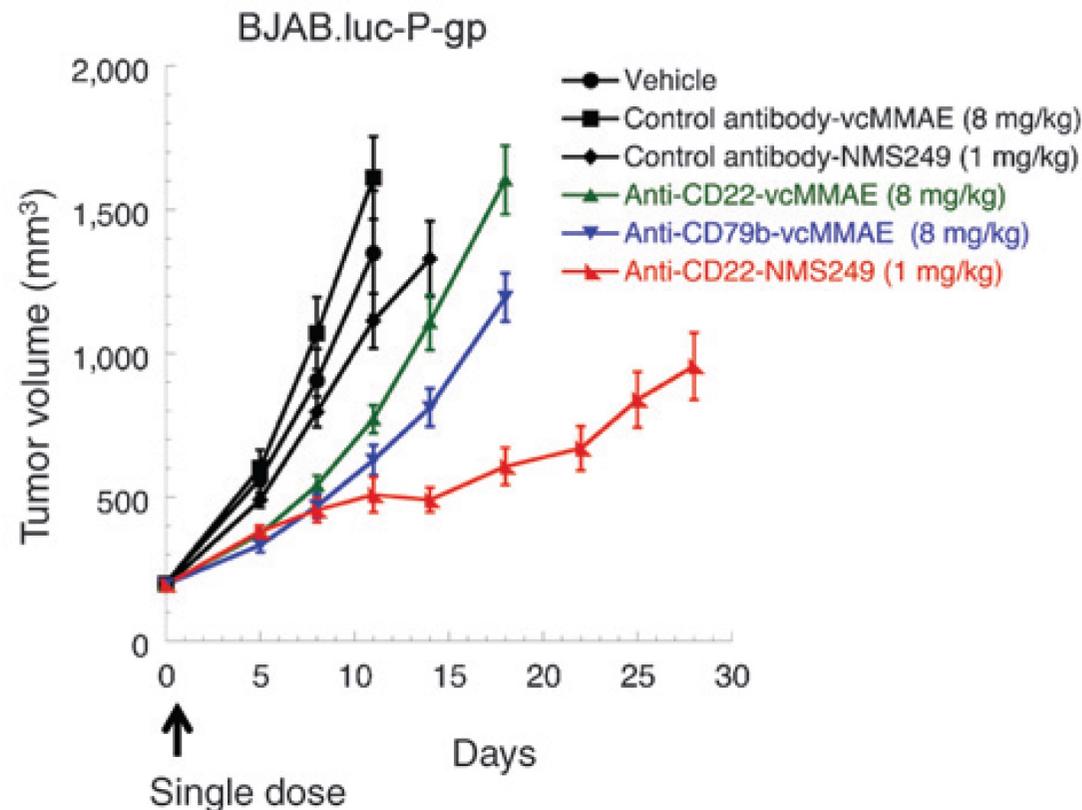
ADCに使用されつつある強力な薬物 -2-



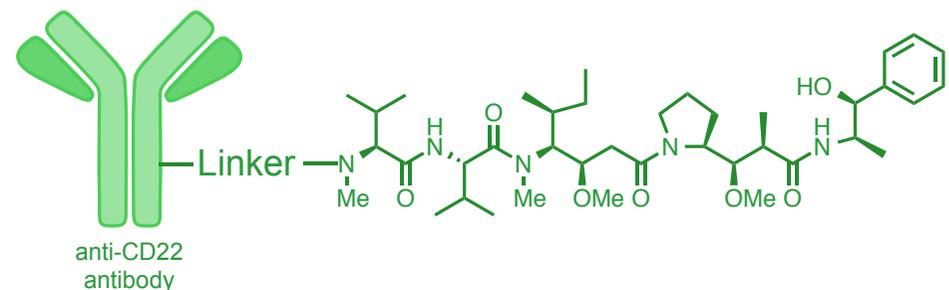
cell line	Doxorubicin	Nemorubicin	PNU-159682
HT-29 (colon)	1,279	578	0.577
A2780 (ovarian)	1,717	468	0.390
DU145 (prostate)	443	193	0.128
EM-2 (myeloblast)	521	191	0.081
Jurkat (T lymphocyte)	181	68	0.086
CEM (lymphoblast)	391	131	0.075

3年くらい前までは*in vitro* で強い薬剤を使用すればよいとの認識だったが、現時点ではやはり副作用が強くてドロップアウトしたケースが多い。*In vitro* と*in vivo* での効果が逆転する例もある。

薬物を変えると、同じ抗体を用いても効果が増強される場合がある。

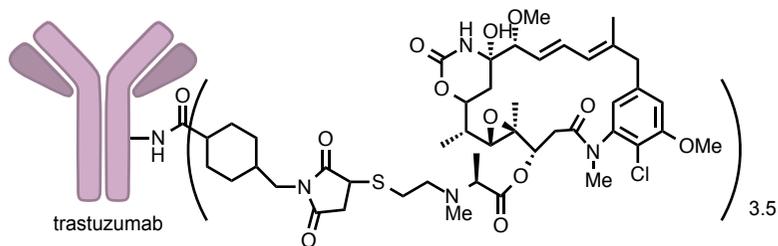


>

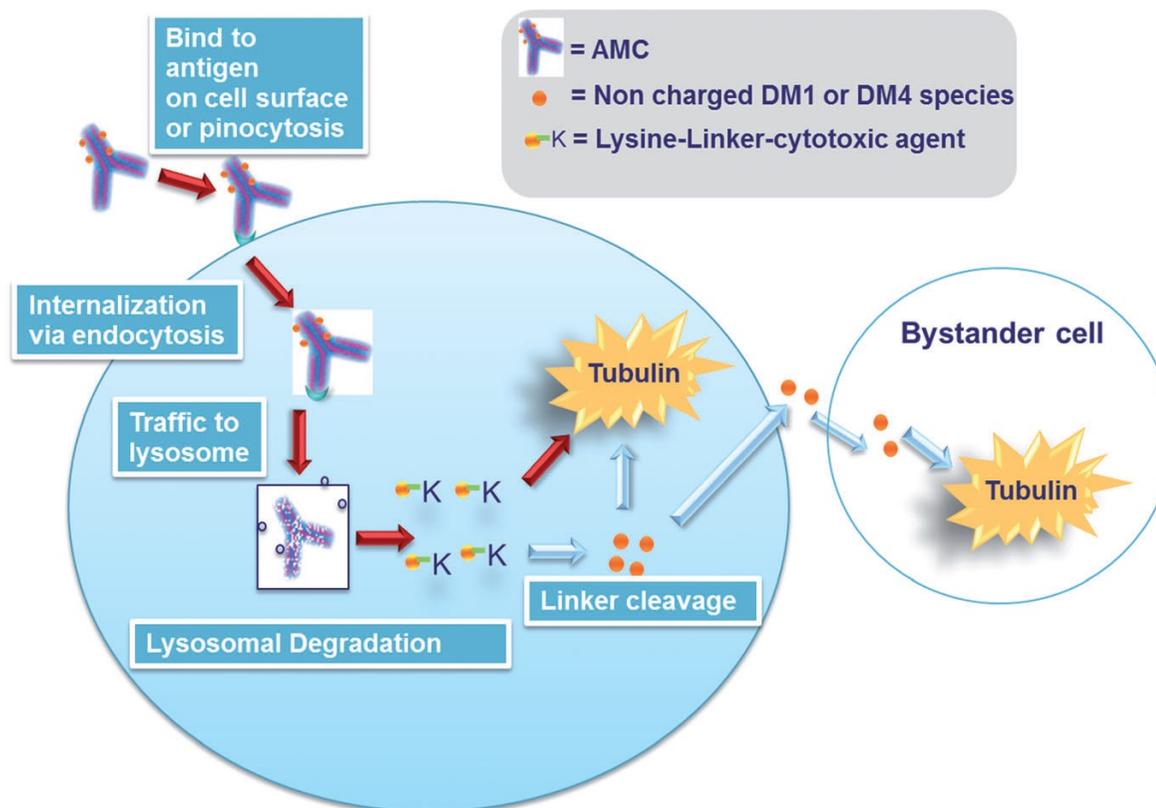


切断後の薬物の動態： Bystander 効果がない場合

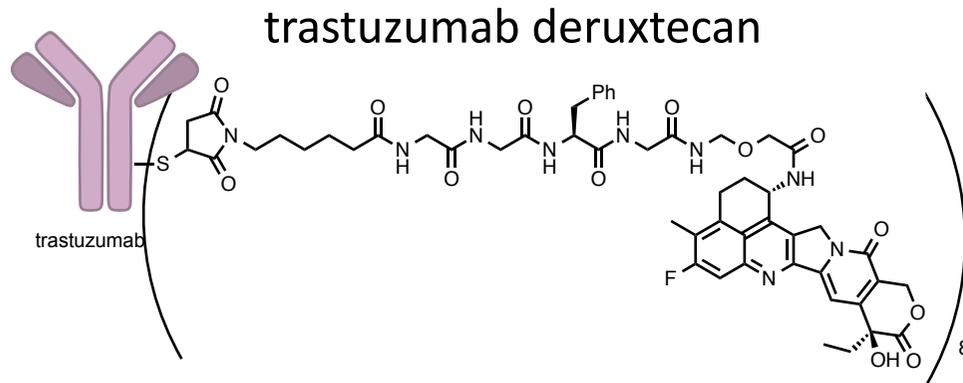
trastuzumab emtansine



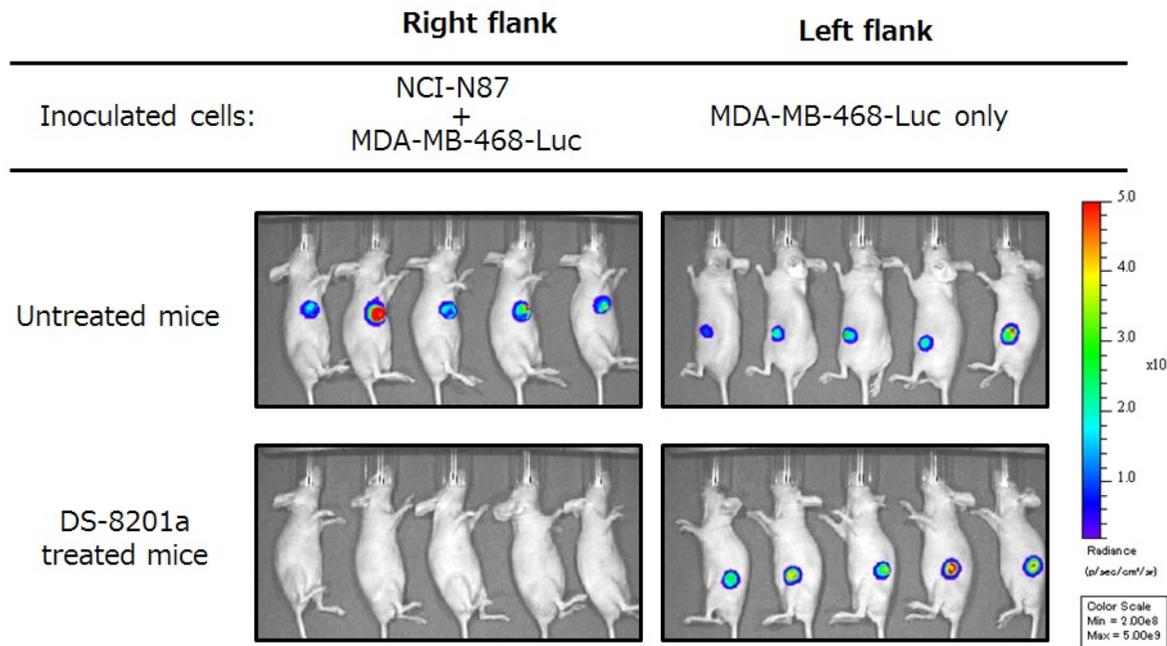
搭載薬物にアミノ基を付与することにより、疎水性の細胞膜を透過しないようにする。
抗原が発現していない細胞への影響を抑え、副作用を防ぐことを目的とした。



切断後の薬物の動態： Bystander 効果がある場合



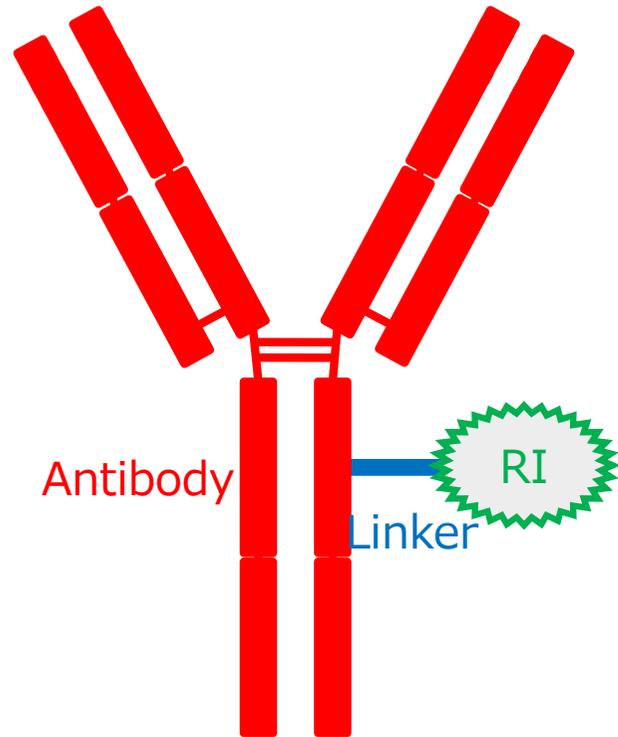
HER2陰性株単独移植群では、HER2陰性株の増殖をまったく阻害しない一方、HER2陽性株との共移植群ではHER2陰性株の顕著な増殖抑制が確認する。HER2陽性細胞内に遊離された薬剤が近傍のHER2陰性細胞に対して作用する。**Bystander 効果による不均一ながん微小環境への適用。**



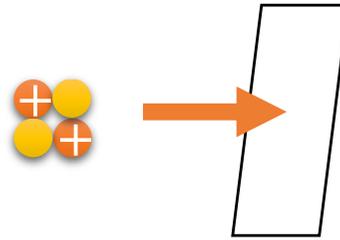
HER2陰性がん細胞株MDA-MB-468-Luc
HER2陽性がん細胞株NCI-N87

T. Agatsuma, *Yakugaku Zasshi* **137**, 545 (2017)より引用。

放射免疫療法(Radioimmunotherapy : RIT)製剤と治療用放射線核種



アルファ線 (He原子核)



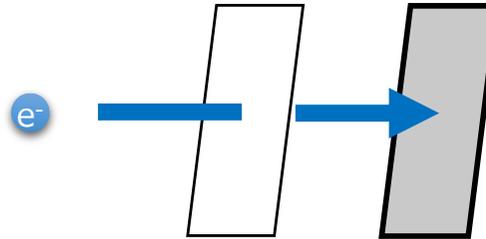
飛程距離 数十 μm (細胞数個程度)

紙1枚程度で遮蔽可能

→入院、治療病室の簡略化

高い線エネルギー付与

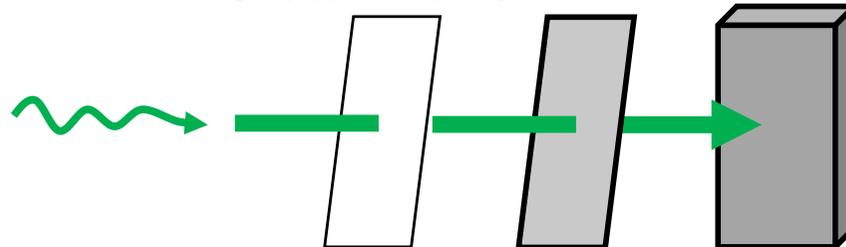
ベータ線 (電子または陽電子)



飛程距離 数mm



ガンマ線 (電磁放射線)



飛程距離が数cmに及び、周囲の細胞への影響が不可避

高い線エネルギー付与を持つので適切なデリバリーが必要。

細胞周期や抗がん剤耐性のがんへの適用が期待される。

粒子	エネルギー (MeV)	組織内飛程 (μm)	線エネルギー付与 ($\text{keV}/\mu\text{m}$)
アルファ線	5 - 9	40 - 100	60 - 80, 240
ベータ線	0.05 - 2.3	50-12000	0.2

理化学研究所における ^{211}At 製造

RILACによる大規模 ^{211}At 製造が可能

- 28 MeV α , 200 μA (2016年6月)
 - RILAC増強工事 (2017–2018年)
- 世界最大強度の α ビーム出力を目標
 \Rightarrow 1時間で15 GBqの ^{211}At が生成

加速器施設	国内AVF	RILAC	欧州*	米国*
ビーム電流 (μA)	1–20	500	3–60	1–100

* Zalutsky and Pruszyński: Current Radiopharmaceuticals 4, 177 (2011).

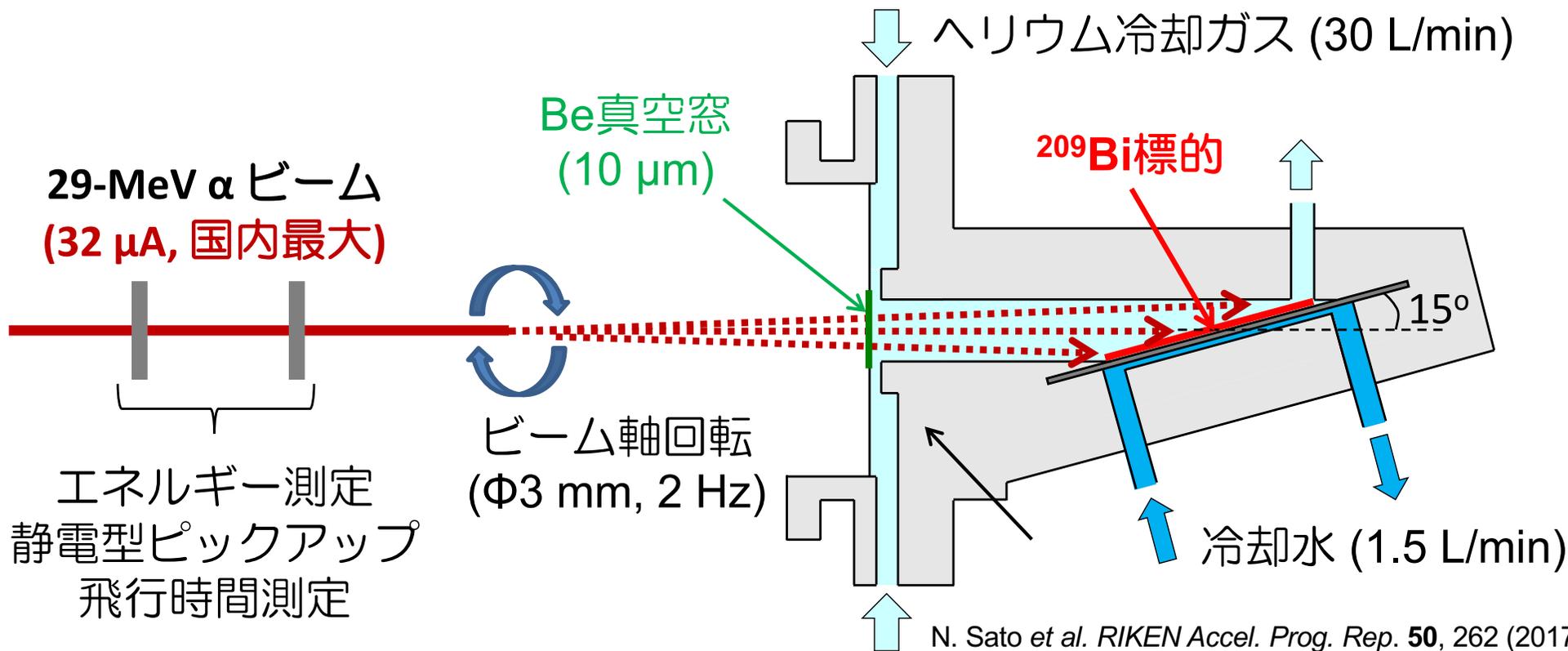
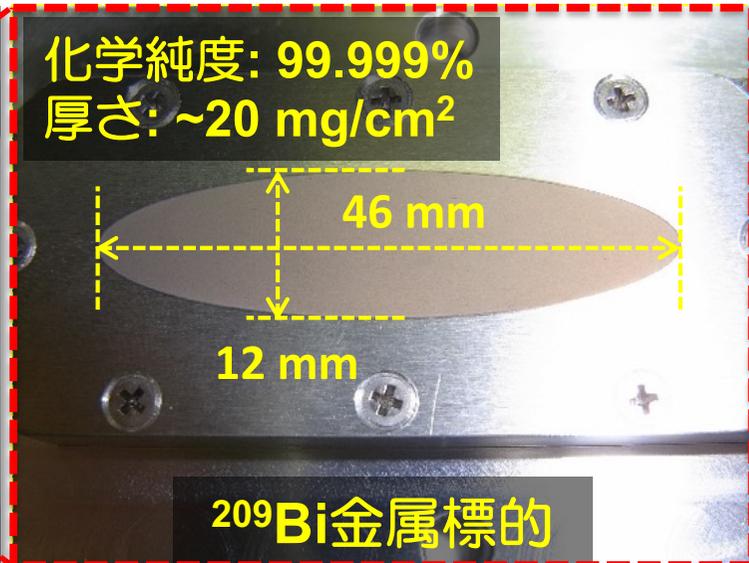
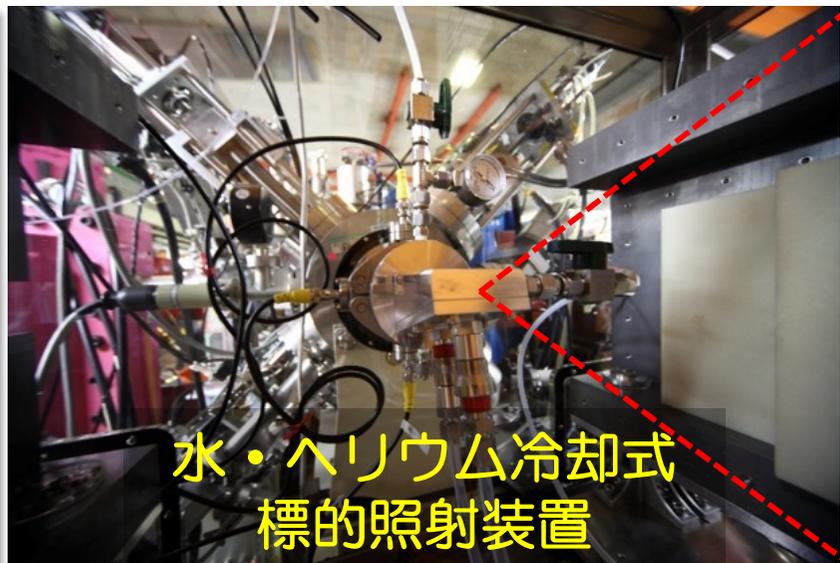
- 2019年重イオン線形加速器を増強
製造量が10倍に



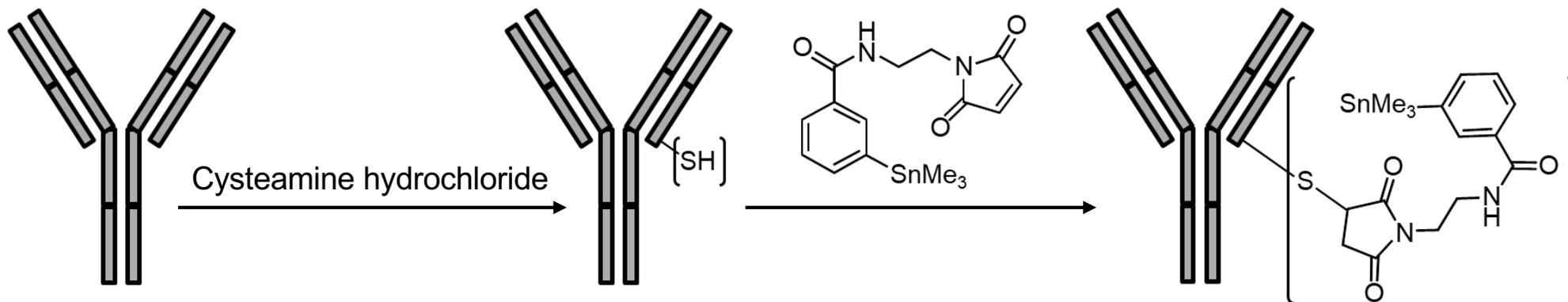
RILAC

大阪大学、福島県立医科大学など国内に複数の ^{211}At を含むRI 製造拠点の整備

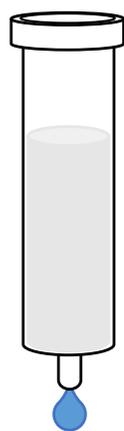
AVFサイクロトロンを用いた ^{211}At の製造技術開発



^{211}At の抗体付加手順



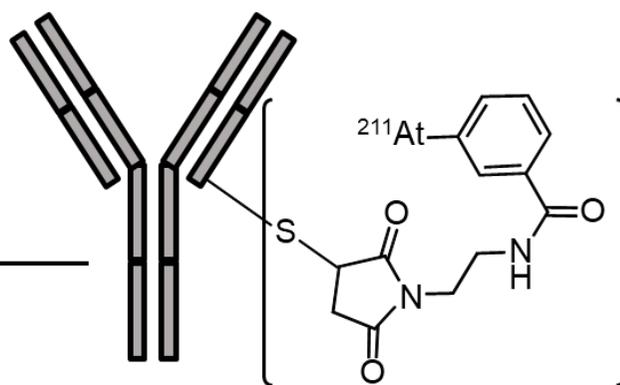
Purification



PD-10 column

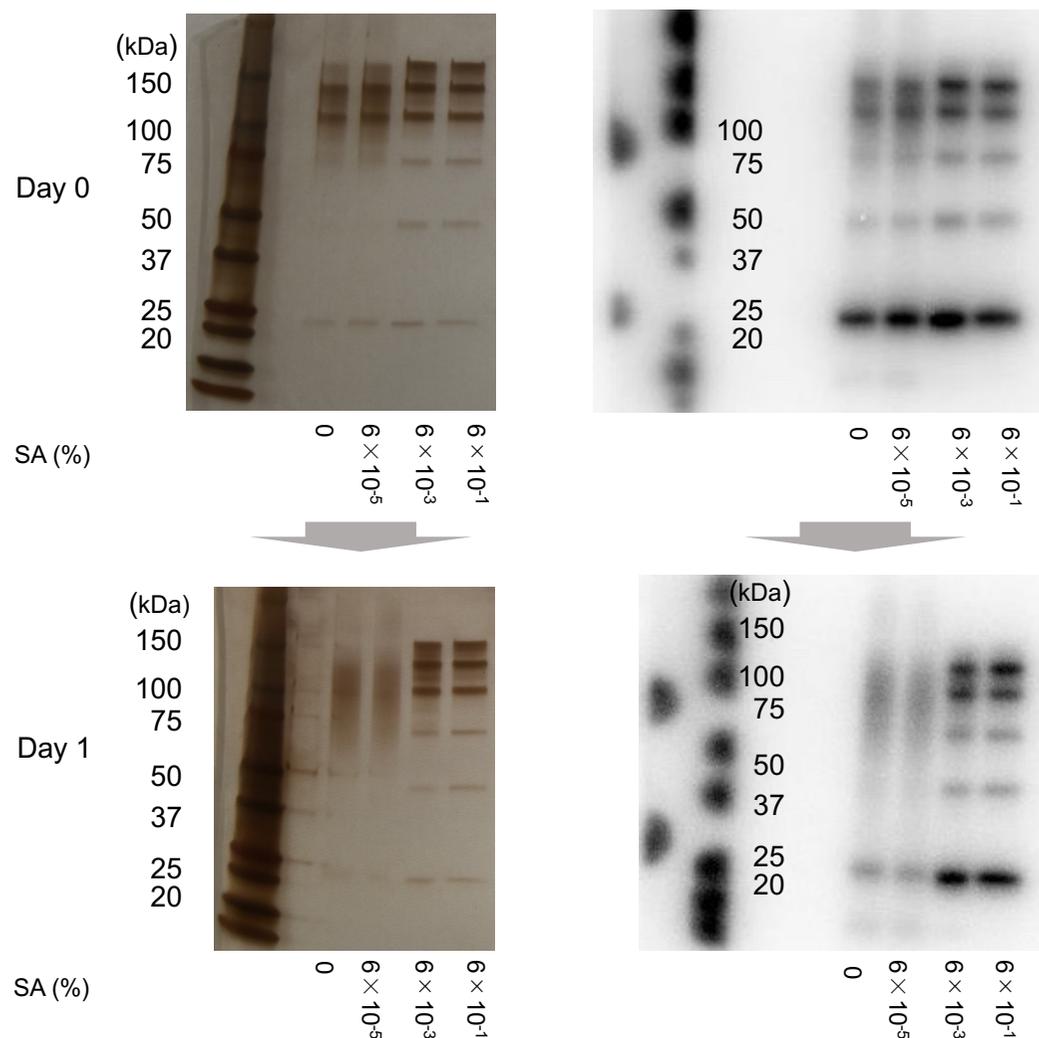
Elution buffer

1. PBS
2. 0.6% SA in PBS
3. 1.2% SA in PBS



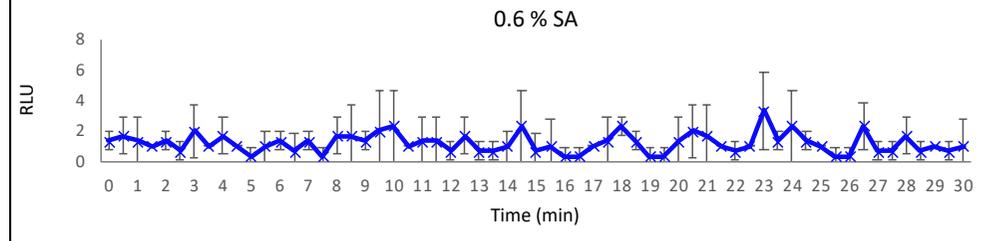
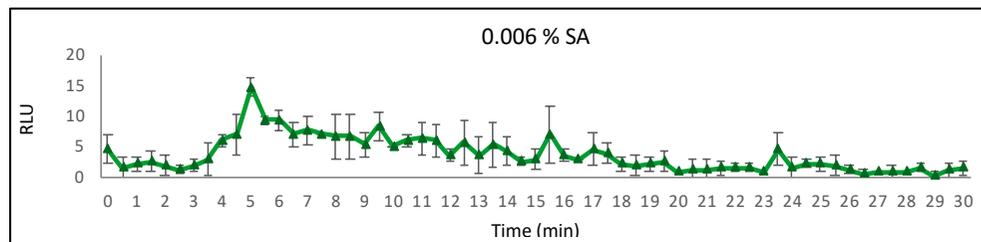
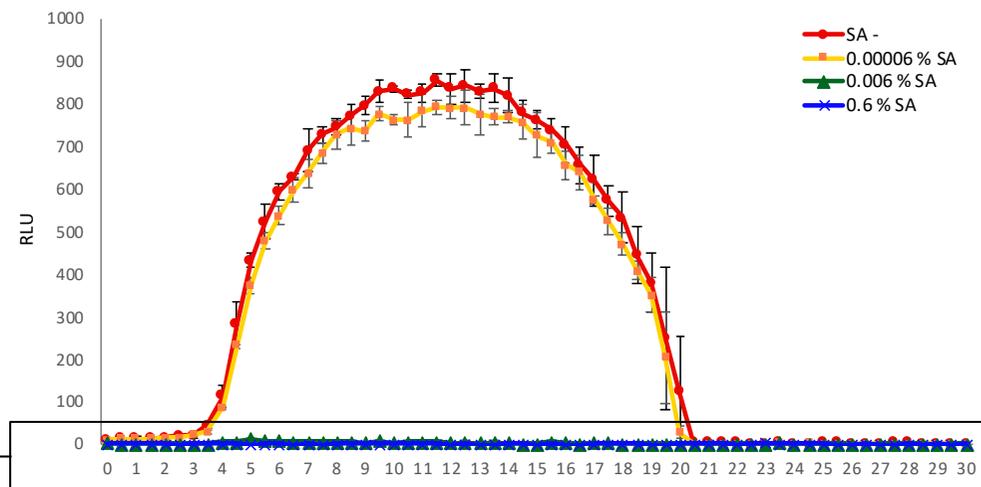
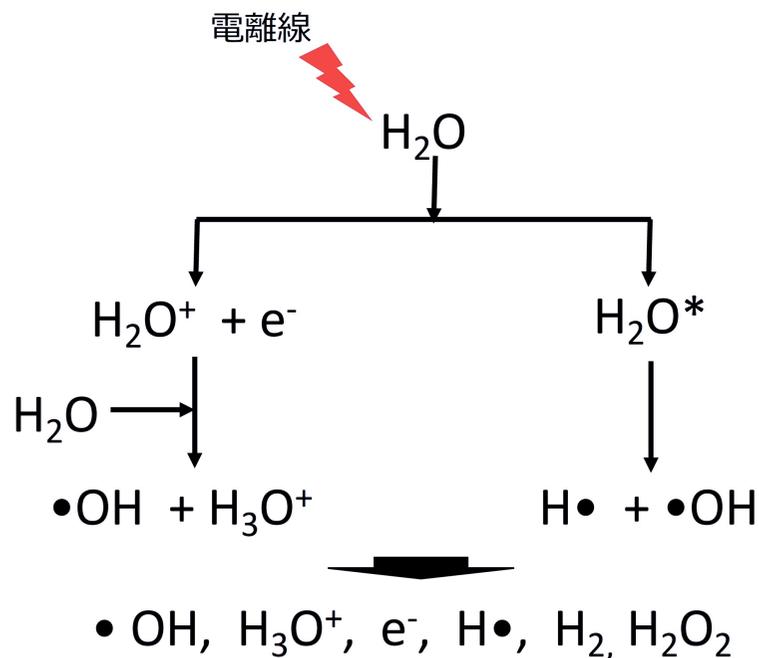
^{211}At , 0.04 mg/mL NCS
methanol/1% acetic acid

アスコルビン酸ナトリウム添加による抗体安定性の増強

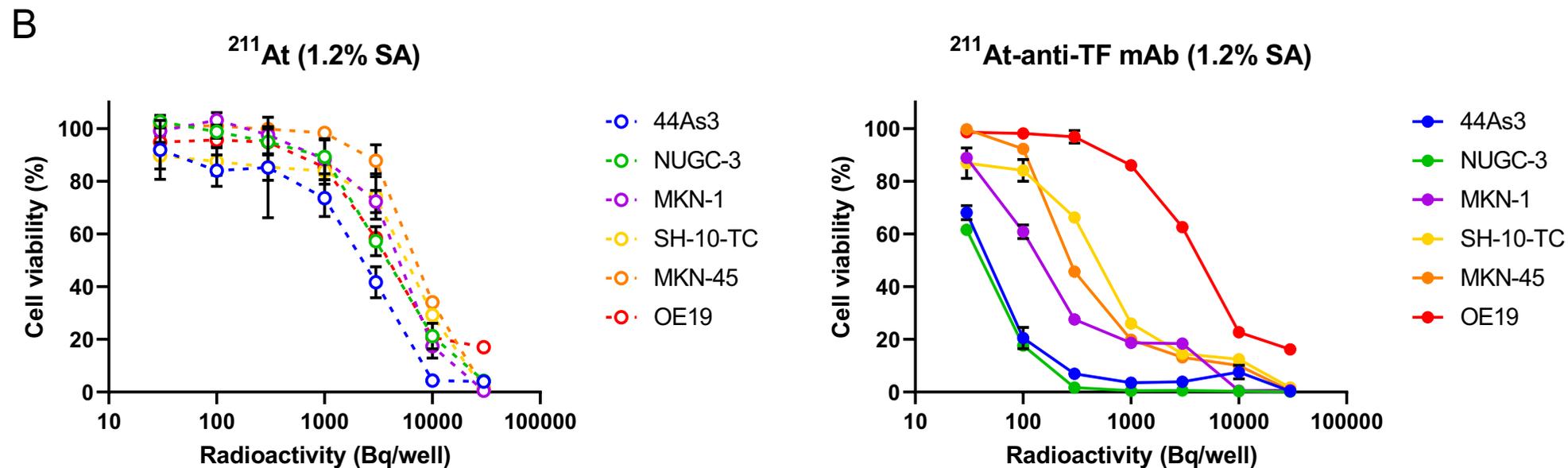
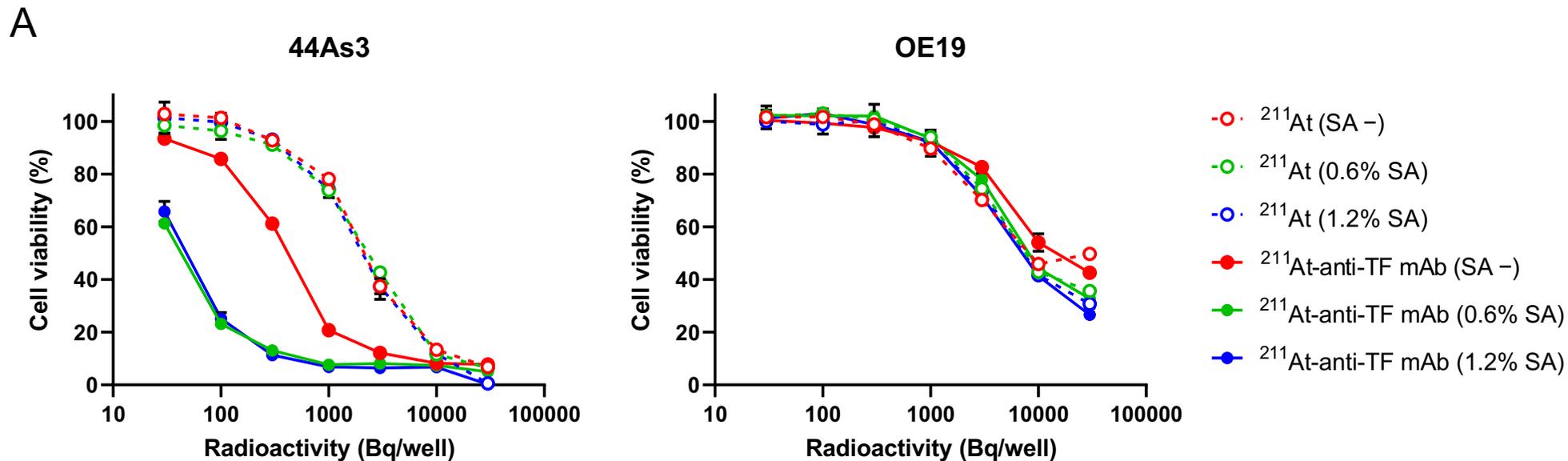


アスコルビン酸ナトリウムの添加により²¹¹At 付加抗体は安定化される。

放射能分解による水からの活性酸素種の生成とクエンチ

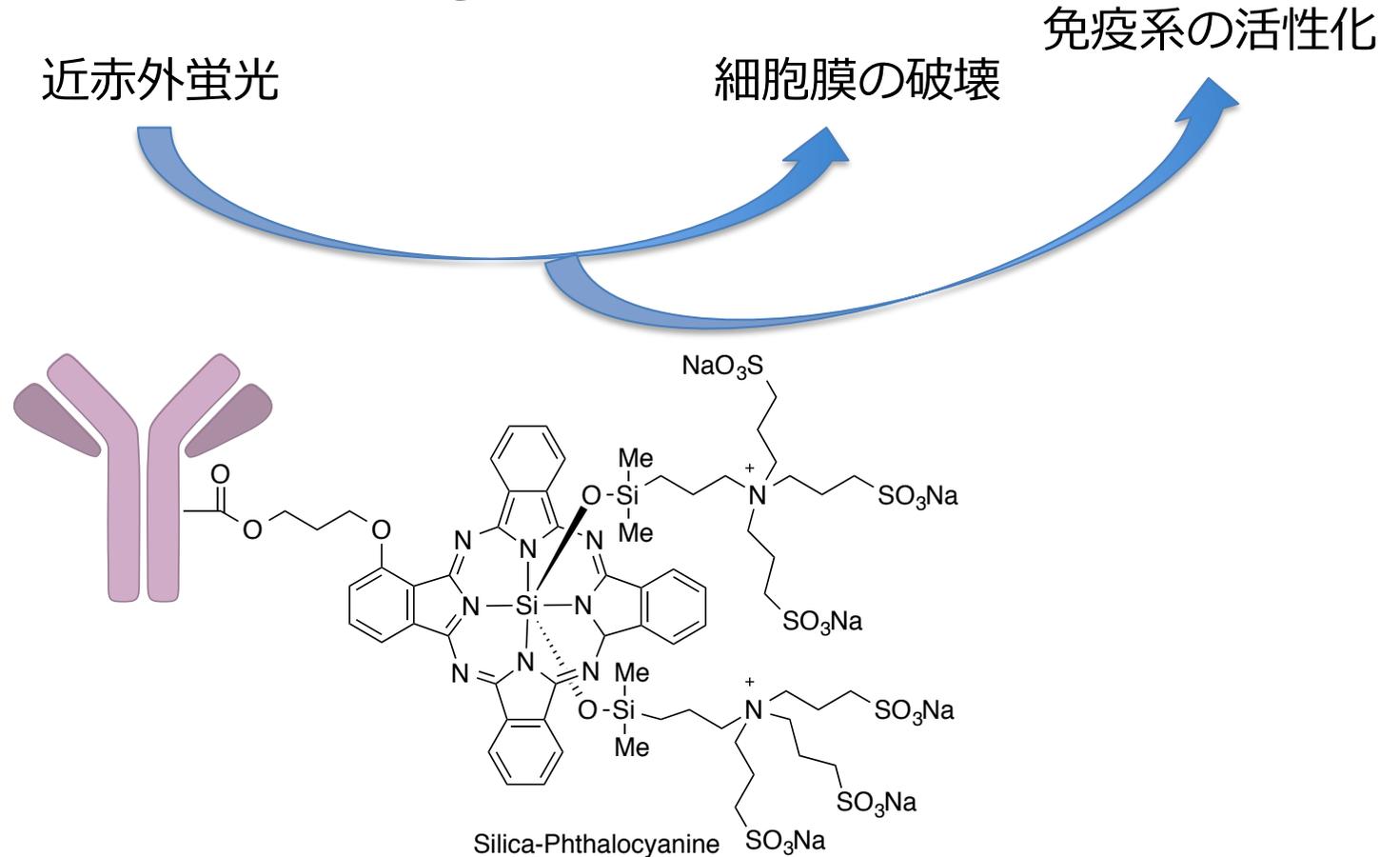


- 水の放射能分解により活性酸素種が生じる。
- 活性酸素種はルミノール反応で検出できる。
- アスコルビン酸ナトリウムの添加により活性酸素種はクエンチされる。



光免疫療法

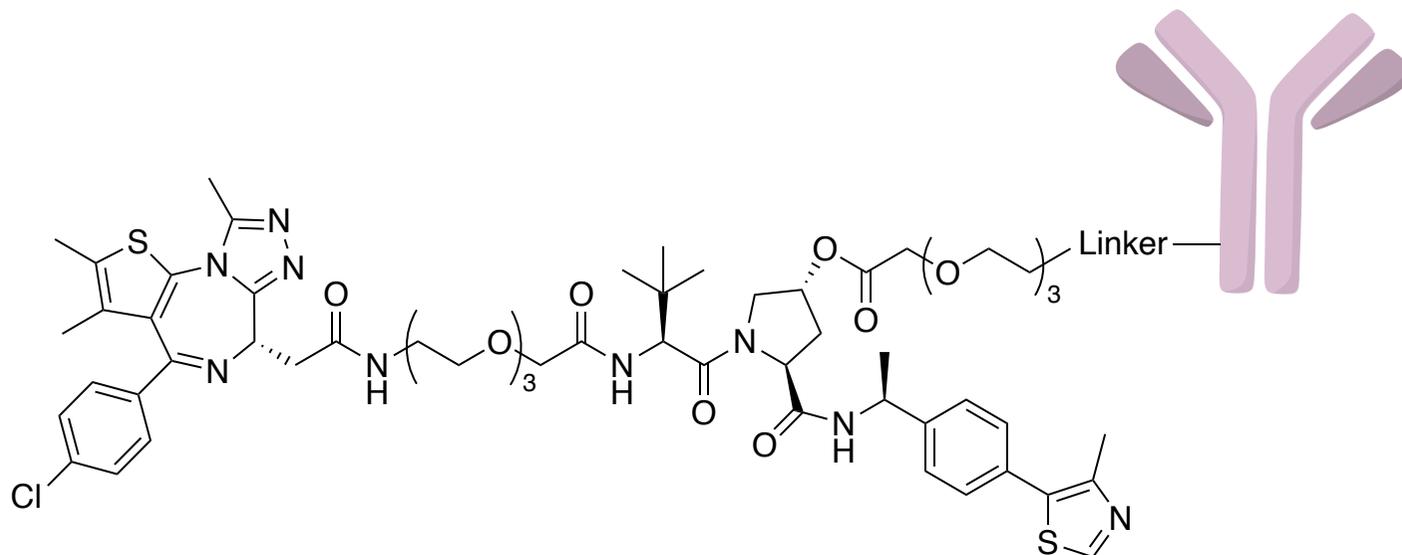
セツキシマブ サロタロカンナトリウム
2020年9月認可 小林@NIH ら (楽天メディカル)



難溶性の化合物もADCに使用できる。

光による活性酸素種による細胞破壊だけではない。
免疫機能を活性化させる。→ 離れた部位のがん腫瘍も縮小。

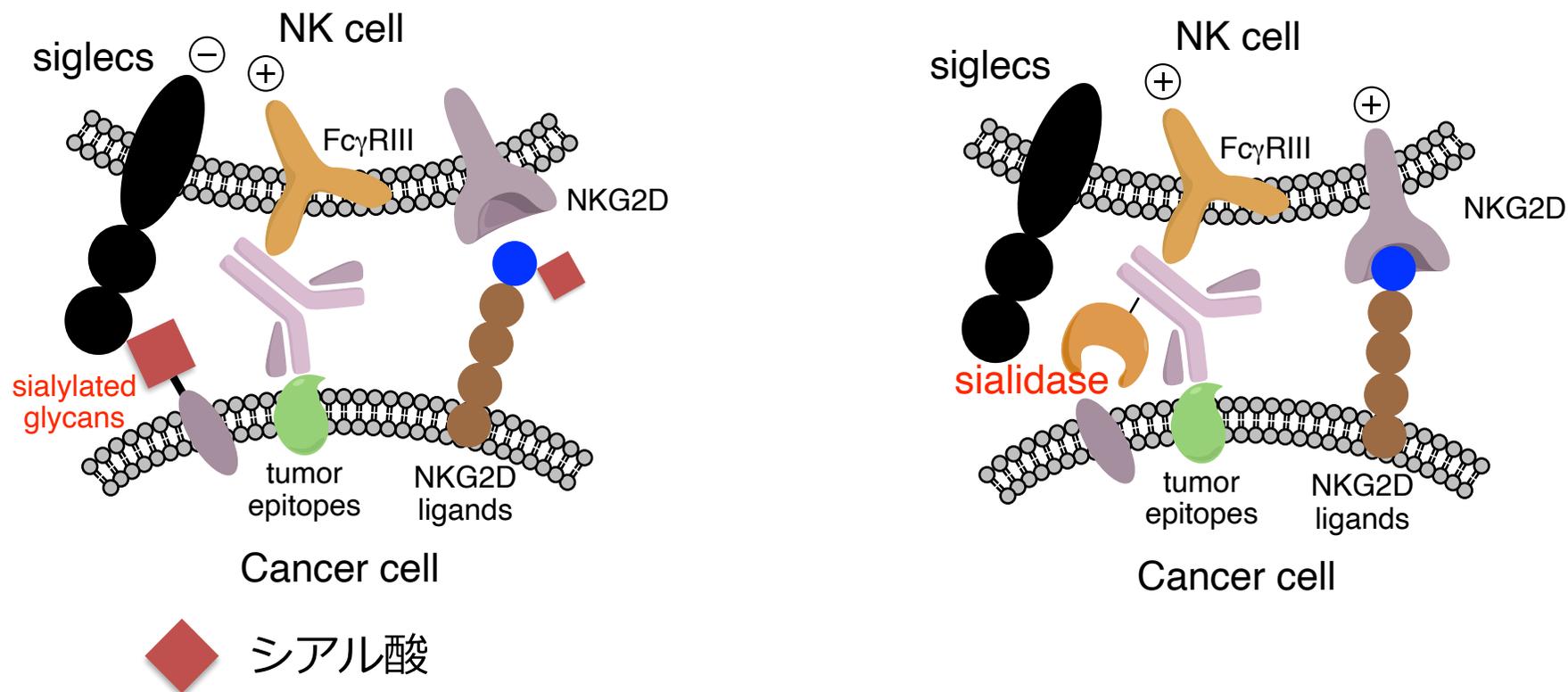
PROTAC (タンパク質分解誘導キメラ分子) 化合物を搭載したADC



M. Maneiro *et al.* *ACS Chem. Biol.* **15**, 1306 (2020)

- 特定の望ましくないタンパク質を除去することができる。
- 2つの活性領域とリンカーで構成されたヘテロ機能性低分子。
- 従来の酵素やレセプター以外のタンパク質 (70%)もターゲットにできる。

低分子化合物だけではなく酵素も担持できる

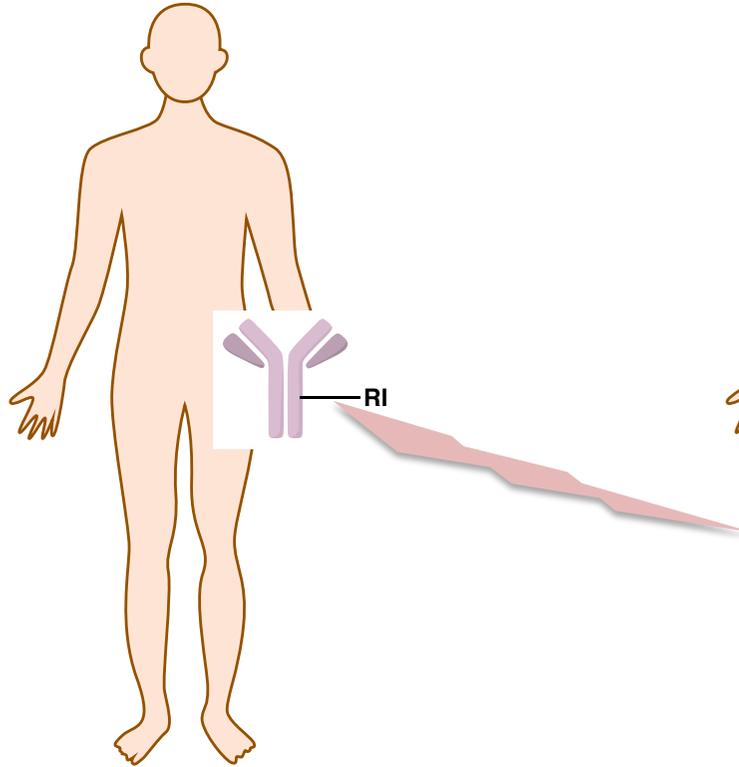


細胞表面のシアル酸ががんに関連している。
 抗体にシアリダーゼを付加させることにより細胞表面のシアル酸を除去し、
 siglecによるNK細胞の不活性化を阻害し、NKG2DによるNK細胞の活性化を促進する。

Theranostics

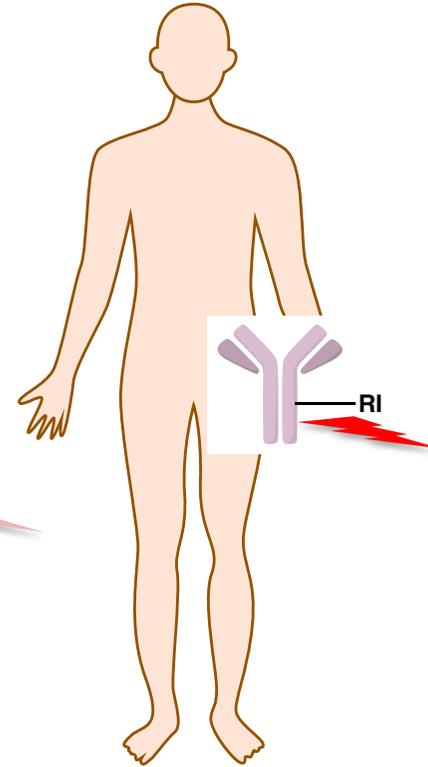
Diagnostics (診断) とTherapy (治療) を一挙に異なるRIを同じ抗体に結合させることにより診断と治療を同時におこなうことができる。

診断



波長が長い、エネルギーが弱いRIなど
 γ 線

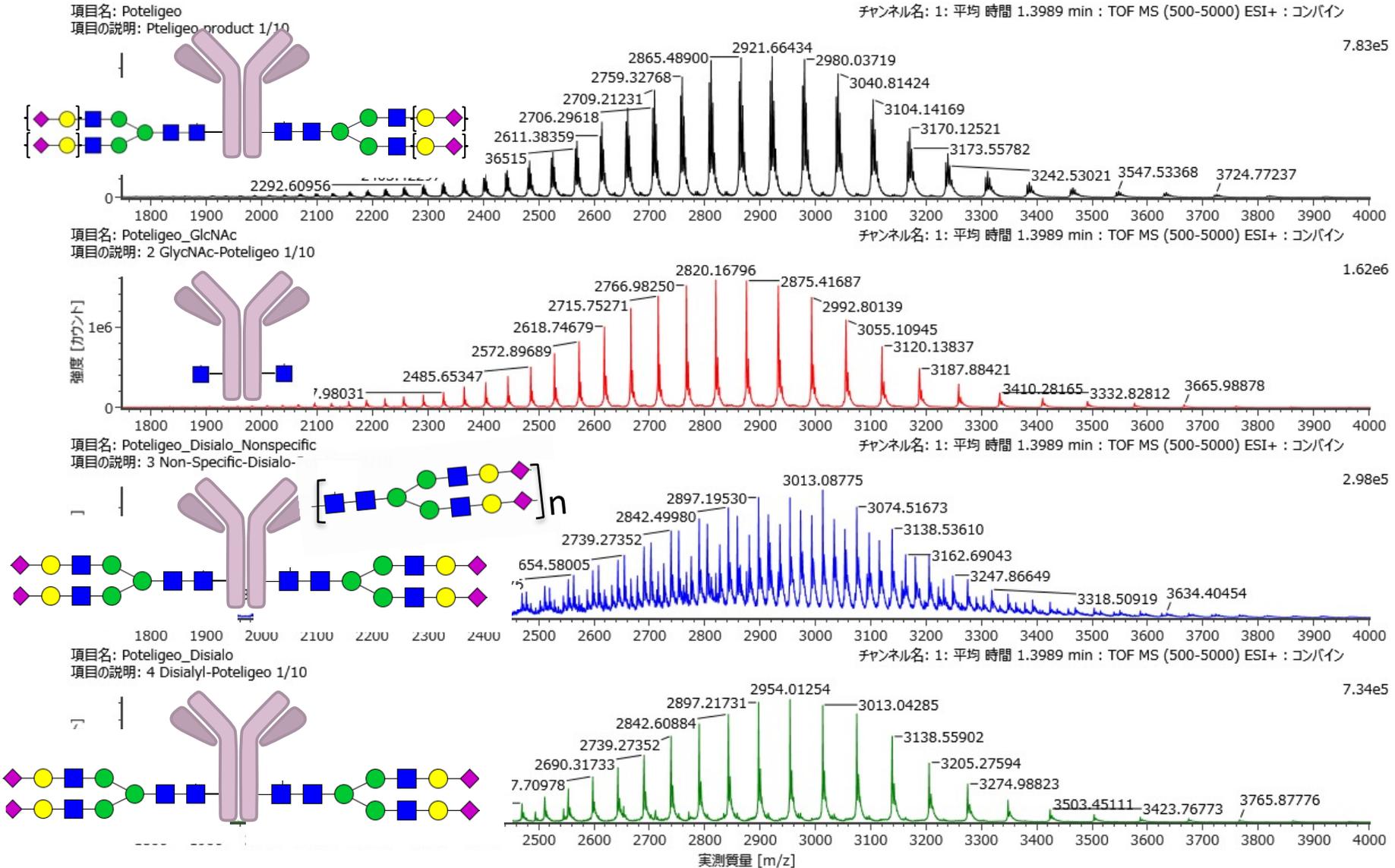
治療



波長が短い、エネルギーが強いRIなど
 α 線

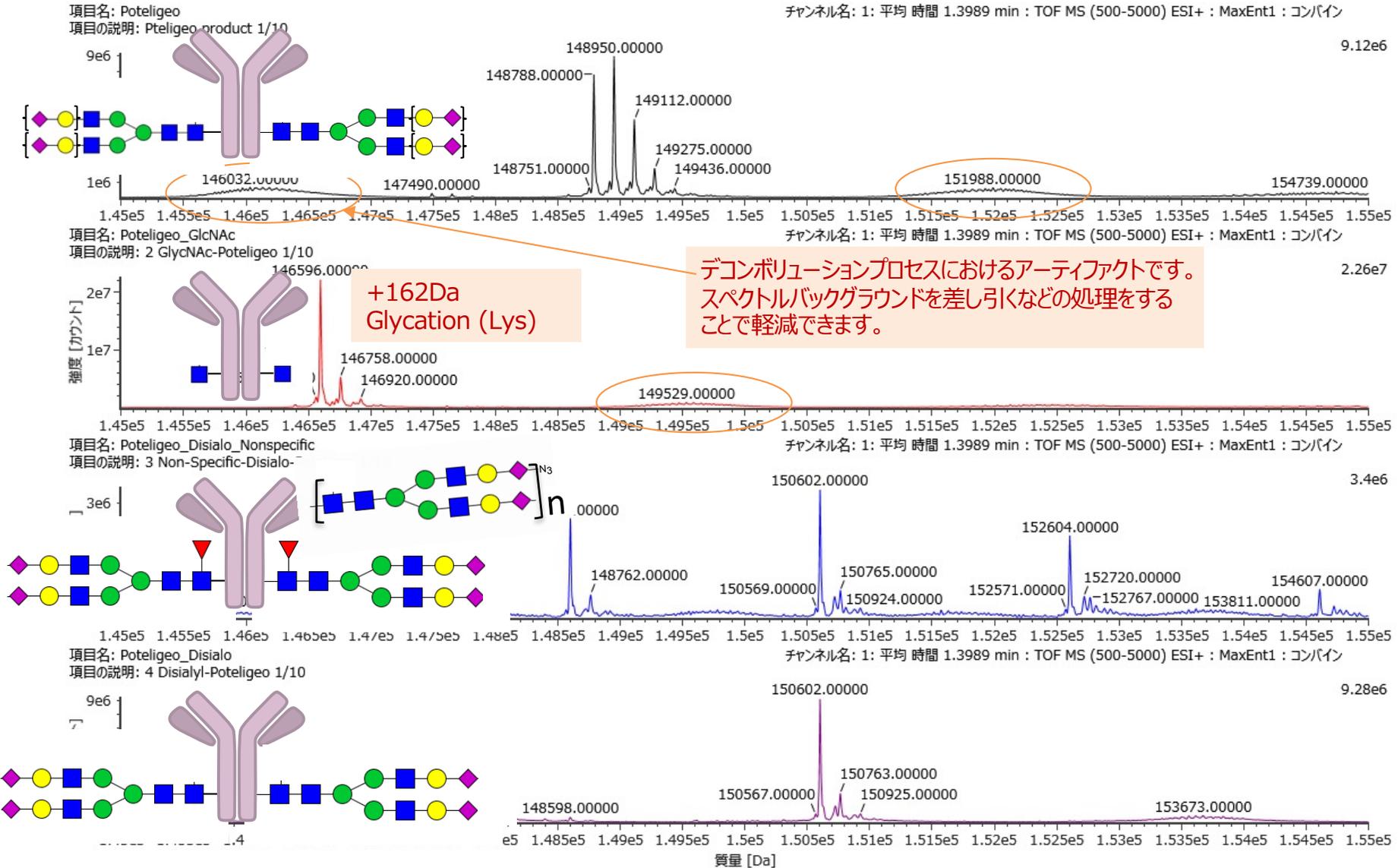
ADCの解析

ADCのESI マススペクトル (生データ)



ADCのESI マススペクトル (デコンボリューション後)

ESI マスでは高分子量のサンプルはデコンボリューションという数学的処理を行う。



抗体、タンパク質、ADC のHPLC/UPLC 解析に使用される分離モード

順相	基本的に使用しない。
逆相	酵素による断片化した抗体のMS やペプチドマッピングの前処理など C18ではなくて、より吸着力の弱いC4
HIC	Hydrophobic Interaction Chromatography 高塩濃度溶離液中で、たんぱく質などの分析種の疎水性部分が充填剤表面の疎水基に 吸着保持されることを原理とした分離モード 疎水性の高い搭載薬物を付加するADC の分離に用いられる。
HILIC	Hydrophilic interaction column chromatography 親水性相互作用クロマトグラフィー 1990年から登場 順相の一種ともいえるが、ヘキサンなどの水と混らない溶媒は使用しない。 “逆逆相”または“水系順相”クロマトグラフィー 水が溶出力の強い溶媒。 糖鎖などの高極性の化合物に適している。
イオン交換	陽イオン交換樹脂タイプと陰イオン交換樹脂タイプ グルタミン酸/アスパラギン酸/チロシン リシン/ヒスチジン
ゲル濾過	分子の大きさ
アフィニティー	親和性 プロテインA はFc 領域と親和性が高い

ADCの解析 ペプチドマッピング

アミノ酸残基のどこに低分子化合物が結合しているかを知る手法
糖鎖、リン酸化などの翻訳後修飾の位置も知ることができる。



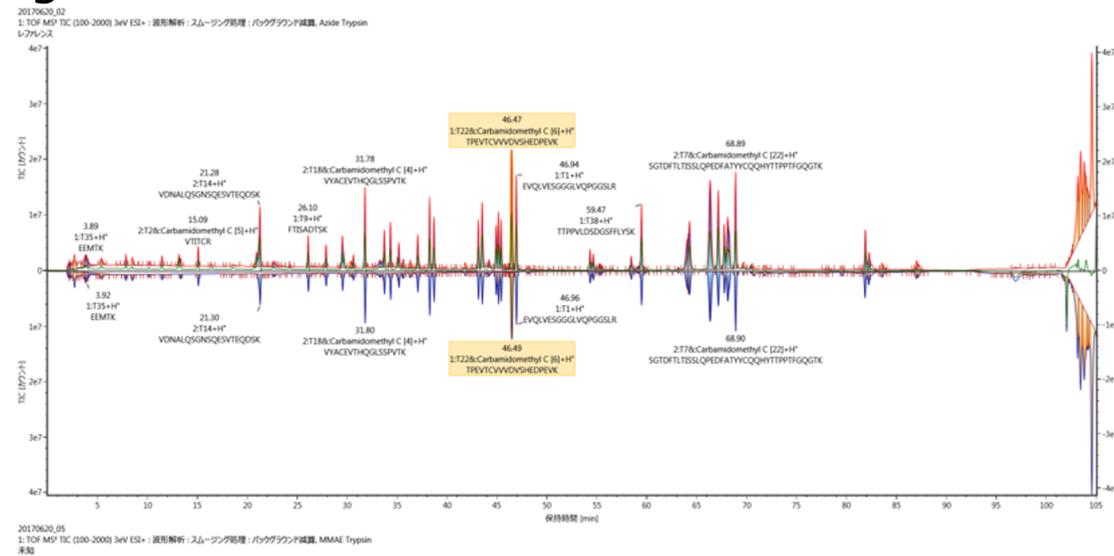
レギュラトリーサイエンス

異なるロットの抗体医薬品をペプチドマッピングで比較することにより、
ロット間の抗体医薬品の同一性や安定性を評価できる。
米国薬局方、欧州薬局方、日本薬局方で規定された試験である。

ADC構造均一性の証明: TIC とカバレッジマップ

位置異性体がないことの証明

Total Ion Chromatogram 比較



カバレッジマップ

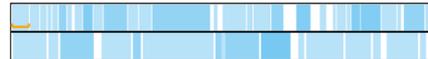
ハーゼプチン

同定 : 92%

1: 1 ~ 50	EVQLVESGGG	LVOPGGSLR	SCAASGFNIK	DIYIHWVROA	PGKGLFQVAR
1: 51 ~ 100	IYPTNGYTRY	ADSVGRFTI	SADTSKNTAY	LQWNSLRAFD	IAYVYCSRWG
1: 101 ~ 150	GDGFYANDYW	GOGTLVTYSS	ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK
1: 151 ~ 200	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	GLYSLSVVT	VPSSSLGTQT
1: 201 ~ 250	YICNVNHKPS	NTKVDKQVEP	KSCDKTHIICP	PCPAPELLGG	PSVLEPPKPK
1: 251 ~ 300	KDTLMISRTP	EVTGVVVDVS	HEDPEVKFNM	YVDGVEVHNA	ITKPREEQYN
1: 301 ~ 350	STYRWVSVLT	VLHODWLNIGK	EYKCKVSNKA	LPAPTEKTTIS	KAKGQPREPQ
1: 351 ~ 400	VYTIPLPSREE	MTKNOVSLIC	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTIIPRV
1: 401 ~ 450	LDSGGSEFLY	SKILTVDKSRW	QOGWVESCIV	MHEALHNHYT	QKSTLSLSPGR
2: 1 ~ 50	DTQMTSPSS	LSASVGDRTV	ITCRASQDVN	TAVAWYQOKP	GKAPKLLTYS
2: 51 ~ 100	ASELYSGVPS	BFSGSBSGTD	FTLTLSLLOP	EDFATYYCQO	HYTIPTPEFGO
2: 101 ~ 150	GTKVEIKRIV	AAPSVFLEPP	SDEQLKSGTA	SVVCLLNNEY	PREAKVQMKV
2: 151 ~ 200	DNALQSGNSQ	ESVTEQDSKD	STYSLSSLLT	LSKADYEEKHK	VYACEVTHQG
2: 201 ~ 214	LSSPVTKSFN	RIGEC			

チェーン 1 (91% カバレッジ)

チェーン 2 (95% カバレッジ)



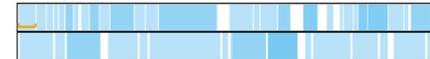
ハーゼプチン

同定 : 92%

1: 1 ~ 50	EVQLVESGGG	LVOPGGSLR	SCAASGFNIK	DIYIHWVROA	PGKGLFQVAR
1: 51 ~ 100	IYPTNGYTRY	ADSVGRFTI	SADTSKNTAY	LQWNSLRAFD	IAYVYCSRWG
1: 101 ~ 150	GDGFYANDYW	GOGTLVTYSS	ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK
1: 151 ~ 200	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	GLYSLSVVT	VPSSSLGTQT
1: 201 ~ 250	YICNVNHKPS	NTKVDKQVEP	KSCDKTHIICP	PCPAPELLGG	PSVLEPPKPK
1: 251 ~ 300	KDTLMISRTP	EVTGVVVDVS	HEDPEVKFNM	YVDGVEVHNA	ITKPREEQYN
1: 301 ~ 350	STYRWVSVLT	VLHODWLNIGK	EYKCKVSNKA	LPAPTEKTTIS	KAKGQPREPQ
1: 351 ~ 400	VYTIPLPSREE	MTKNOVSLIC	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTIIPRV
1: 401 ~ 450	LDSGGSEFLY	SKILTVDKSRW	QOGWVESCIV	MHEALHNHYT	QKSTLSLSPGR
2: 1 ~ 50	DTQMTSPSS	LSASVGDRTV	ITCRASQDVN	TAVAWYQOKP	GKAPKLLTYS
2: 51 ~ 100	ASELYSGVPS	BFSGSBSGTD	FTLTLSLLOP	EDFATYYCQO	HYTIPTPEFGO
2: 101 ~ 150	GTKVEIKRIV	AAPSVFLEPP	SDEQLKSGTA	SVVCLLNNEY	PREAKVQMKV
2: 151 ~ 200	DNALQSGNSQ	ESVTEQDSKD	STYSLSSLLT	LSKADYEEKHK	VYACEVTHQG
2: 201 ~ 214	LSSPVTKSFN	RIGEC			

チェーン 1 (90% カバレッジ)

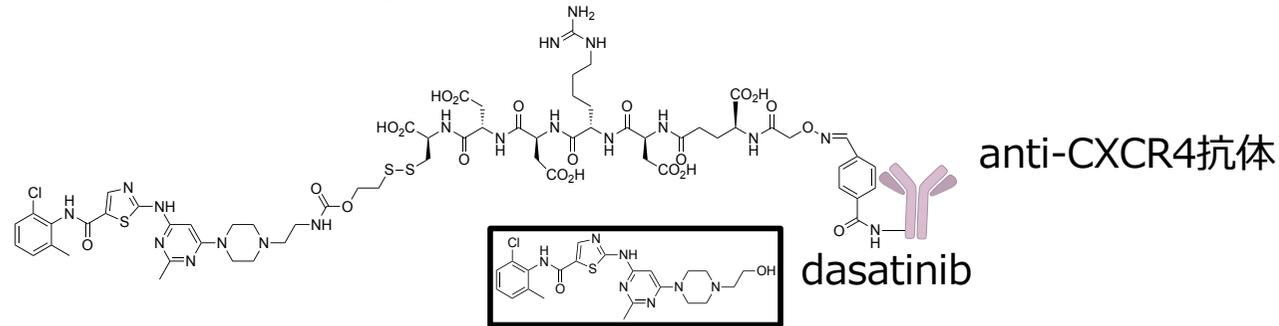
チェーン 2 (95% カバレッジ)



ADC はがんだけを対象にするものではない。

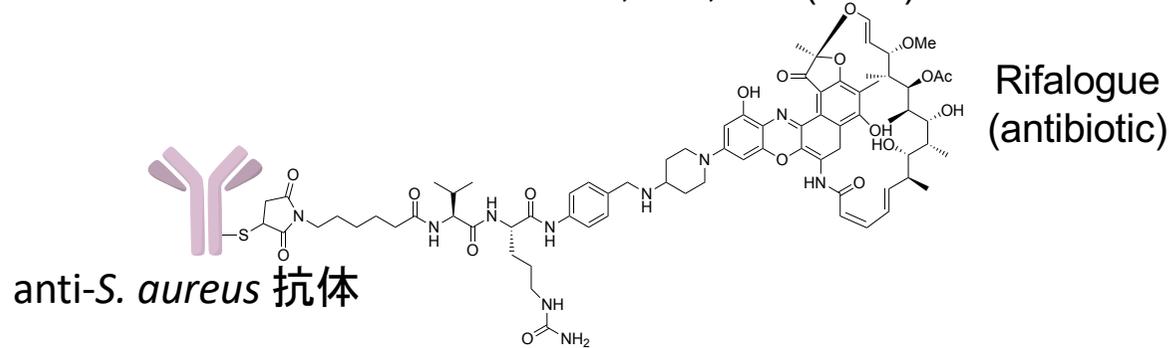
- 免疫抑制**
- 抗TNF α 抗体ヒュミラ+新規ステロイド (アッヴィ合同会社)
 - anti-CXCR4抗体+dasatinib (チロシンキナーゼ阻害薬)

R. E. Wang *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 3229 (2015)



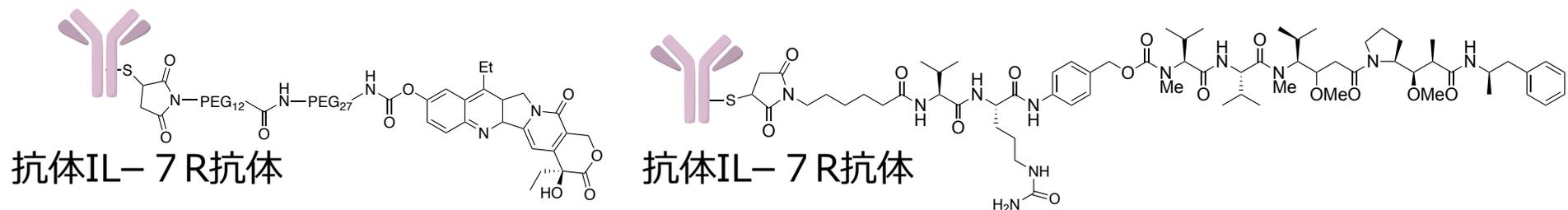
抗菌薬 メシチリン耐性菌

S. M. Lehar *et al.* *Nature*, **527**, 323 (2015)



免疫抑制 II 型糖尿病

M. Yasunaga *et al.* *Sci. Rep.* **7**, 10735 (2017)



ADC とがん免疫

リリースされたペイロードによる免疫原性細胞死

MMAEやエキサテカンなどで傷害されたがん細胞から放出されたHMGB1 (High-Mobility Group Box 1), calreticulin, ATPなどのDAMPS (damage-associated molecular patterns)と呼ばれる分子群が、樹状細胞やマクロファージを介してT細胞を活性化することで、2次的ながん細胞傷害を起こすことができる。

免疫チェックポイント阻害剤との相乗効果への期待

T. Iwata *et al.* *Mol. Cancer Ther.* **17**, 1494 (2018)

T. Iwata *et al.* *PLoS One* **14**, e0222280 (2019)

リンカー内でのPEGの役割

- PEG鎖長を長くして、1抗体あたりの薬物の数を増やす。

1抗体あたりの薬物の数を増やすと薬物やリンカーの疎水性により、肝臓でのADCの代謝が早くなる。そのため、一般的には1抗体あたり4個以下の薬物の数が適切とされている。ただし、PEG鎖長を長くすることで1抗体あたりの薬物の数を増やすことができる。

R. P. Lyon *et al. Nature Biotech.* **33**, 733 (2015)

- PEGを分岐させて、1抗体あたりの薬物の数を増やす。

通常のPEGは一本鎖だが、分岐させると結合薬物の数を増やすことができる。

M. Yasunaga *et al. Cancer Sci.* **102**, 1396 (2011)

- 親水性のPEGはADCが凝集しやすくなることを防ぐ。

T. Nakata *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**, 1542 (2016)

参考文献

- R. V. J. Chari *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 3796-3837 (2014)
すでに古くなっているが、ケミストの視点としてまずはおすすめ。
- 薬学雑誌 2017年5月号 誌上シンポジウム 抗体薬物複合体特集
2016年の薬学会シンポジウムのまとめ OA
- A. Beck *et al.* *Nat. Rev. Drug Discov.* **16**, 315-337 (2017)
- P. J. Carter *and* G. A. Lazar *Nat. Rev. Drug Discov.* **17**, 197-223 (2018)
- S. Manabe, “Cancer Drug Delivery Systems based on the Tumor Microenvironment”,
Yasuhiro Matsumura and David Tarin eds. Springer Japan, 93-123 (2020)
リンカーについてかなり網羅的に記載しています。
- 「抗体-薬物複合体の開発の現状」、*Drug Delivery Syst.* 34, 10-21 (2019) OA
Drug Delivery Syst. (日本DDS学会誌) の中でアクセス数がトップの総説
- 「抗体—薬物複合体 (ADC) に活用された化学」 *Drug Delivery Syst.* **36**, 28-39 (2021)
合成と構造解析の両方を記載したミニ総説 OA
- S. J. Walsh *et al.* *Chem. Soc. Rev.* **50**, 1305 (2021)
- J. Z. Drago *et al.* *Nat. Rev. Clinical Oncol.* **18**, 327-344 (2021)
- Y. Jin *et al.* *Pharmacol. Ther.*, **229**, 107917 (2022)