

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03389

研究課題名（和文）抗体医薬品に対する抗薬物抗体の実態解明と臨床疫学解析

研究課題名（英文）Basic and clinical analysis of anti-drug antibody against therapeutic antibody

研究代表者

米澤 淳（Yonezawa, Atsushi）

京都大学・薬学研究科・准教授

研究者番号：90452341

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：抗体医薬品は従来の低分子医薬品とは異なり、免疫原性を持つために、体内で抗薬物抗体が産生される。本研究では、自己免疫疾患患者を対象として、各種抗体医薬品に対する抗薬物抗体の特性解明と、抗薬物抗体による抗体医薬品の臨床効果や体内動態への影響についての検討を行った。抗薬物抗体の産生は多くの抗体医薬品で認められるものの、その特性は、薬物血中濃度を低下させるもの、低下させないもの、測定法により異なるものなど様々であった。臨床効果については、薬物血中濃度との相関が強いと考えられた。さらに、抗体医薬品のバイオトランスフォーメーションも発見された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は抗薬物抗体の実態解明を進め、抗体医薬品の適正使用を推進する上で重要な知見を提供すると考える。さらに、抗体医薬品の新たなバイオトランスフォーメーションを発見し、体内動態に対する深い理解に基づく患者個別の最適化医療の実現に繋がる有用な情報であると考ええる。

研究成果の概要（英文）：Unlike conventional low-molecular-weight drugs, therapeutic antibody has immunogenicity, and anti-drug antibodies are produced in the body. In this study, we clarified the characteristics of anti-drug antibodies against various therapeutic antibodies, investigated the effects on clinical efficacy and on the pharmacokinetics of therapeutic antibodies in patients with autoimmune diseases. Although the production of anti-drug antibodies is observed in many therapeutic antibodies, their characteristics varied, such as reducing the blood concentration of therapeutic antibody, some not, and others depending on the measurement method. The clinical effect has stronger correlation with the blood concentration of therapeutic antibody. In addition, biotransformation of therapeutic antibodies was also discovered.

研究分野：臨床薬理学

キーワード：抗体医薬品 体内動態 個別化医療 リアルワールドデータ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗体医薬品は生体成分の IgG とほぼ同じ構造であることから、低分子医薬品とは異なり薬物体内動態における個体間変動が小さいと考えられていた。しかし、抗体などのバイオ医薬品はヒトの体内で免疫原性を持つことから、抗体医薬品に対する抗体（抗薬物抗体）が出現し、極端な薬効低下を引き起こす症例が報告された^①。過去の多くの知見では、キメラ型抗体医薬品はヒト型抗体医薬品より免疫原性が高く、抗薬物抗体の出現率が高いと報告されてきた。ヒト型抗体の作製技術開発によりそのリスクが低下したと考えられてきたが、最近でもヒト型抗 PCSK9 抗体 Bococizumab の Phase III において多くの患者に抗薬物抗体が発現し、十分な有効性が確認されず^②、開発中止に追い込まれている。すなわち、単純に種差による免疫原性の上昇というだけでは、抗薬物抗体の出現要因が決定できない。このような状況にもかかわらず、抗薬物抗体の出現とその作用に関しては詳細には解明されていない。その原因として、以下が考えられる。

- 1) 抗薬物抗体出現に関する患者側の要因が不明
- 2) 抗薬物抗体の実態が不明
- 3) 抗薬物抗体の臨床効果への影響が不明

すでに臨床において、抗体医薬品の血中濃度測定が承認され、個別化療法への一助となっている。関節リウマチ患者において抗 TNF- α 抗体インフリキシマブが 1 $\mu\text{g/mL}$ 未満では効果が減弱することが報告され^③、それを判定する測定キット（レミチェック Q[®]）が発売された。これは用量変更や中止決定の判断に有益な情報を提供するものと期待された。しかし、必ずしも抗体医薬品の血中濃度だけでは適切な判断ができず、次の治療戦略の決定には抗薬物抗体や他のバイオマーカーの情報が必要な状況である。

2. 研究の目的

抗薬物抗体発現の要因（患者側・抗体医薬品側）と抗薬物抗体の機能特性を明らかにし、抗体医薬品使用における免疫原性の回避法の確立を目指す。また、実臨床において抗薬物抗体やそのほかの変動要因を明らかにする。将来的に抗体医薬品の個別化療法の実現を志向するための、抗薬物抗体に関する基礎的情報を収集する。

3. 研究の方法

京都大学医学部附属病院の KURAMA コホート研究 (R0357) もしくは抗体医薬品 TDM 研究 (R1386) への参加に同意している関節リウマチ患者もしくは炎症性腸疾患患者を対象とした。インフリキシマブ、トシリズマブ、エタネルセプト、ウステキスマブ投与患者の既存血清（約 500 検体）を用いた。抗薬物抗体の検出は電気化学発光 (ECL) 法を用い、floating カットポイントを推定し陽性を判定した。抗体医薬品の血中濃度は質量分析系を用い、定量ならびに定性評価を行った。サイトカイン量等は常法を用いて測定した。診療データをもとに薬効等との関連を検討した。

4. 研究成果

(1) インフリキシマブ (IFX) 投与を受けた関節リウマチ (RA) 患者

41 名の RA 患者を対象として、二次不応答管理の観点から血中 IFX 濃度測定の意義を検証した。受信者動作特性曲線から治療応答性を予測する血中 IFX 濃度を定め、患者を高濃度群と低濃度群に分類した。両群間の一次応答性に差はなかった一方、IFX 濃度測定時点では高濃度群においてより良好な治療効果が観察された。実臨床において IFX 治療への一次不応答は回避できており、治療薬物モニタリングは二次不応答患者の識別に有用と考えられた。抗薬物抗体 (ADA) 陽性患者は 39 名中 4 名 (10%) であった。ADA 陽性患者では血中 IFX 濃度が低下していたが、効果との有意な関連は認められなかった。ADA 以外にも血中 IFX 濃度の低下要因があるものと想定され、IFX 濃度の方が臨床効果との相関が高かったと考えられる。

加えて、血中 IFX 濃度測定時点から 1 年以内の有効性消失による IFX 治療中止をアウトカムとし、血中 IFX 濃度に基づく二次不応答の予測可能性について検討した。血中 IFX 濃度のみの評価では治療中止を予測できなかった一方、血中 IFX 濃度が低く血中インターロイキン (IL) -6 濃度が高い RA 患者群では治療中止率が有意に高かった。血中 IFX 濃度と ADA を組み合わせた患者分類では治療中止を予測できなかった。以上より、実臨床での RA 患者に対する IFX 治療において、血中 IFX 濃度や IL-6 濃度の測定は二次不応答患者の識別や予測に有用であることが示唆された。

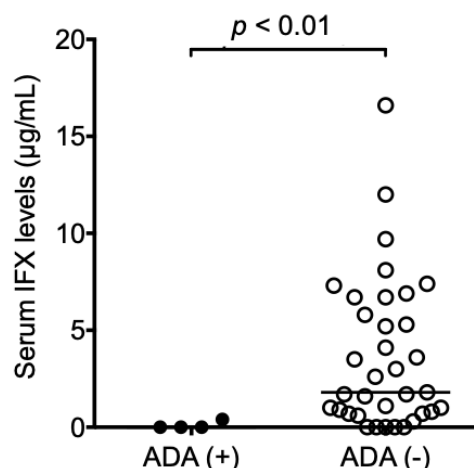


図 ADA 陽性・陰性患者での血中 IFX 濃度分布

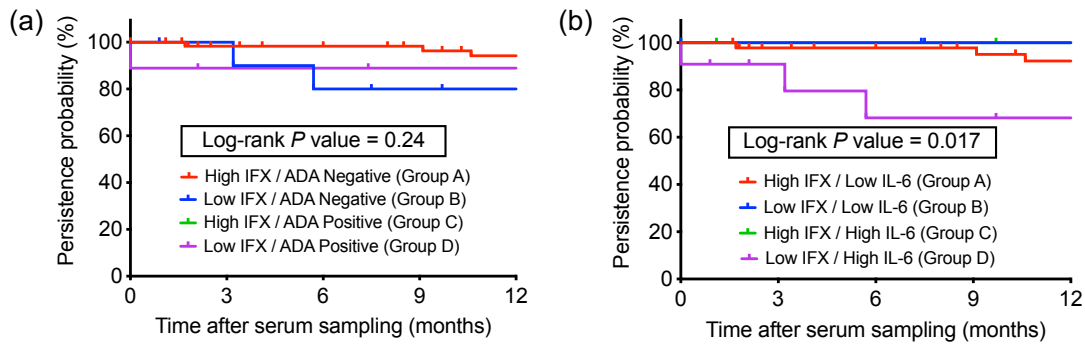


図 血中 IFX 濃度と (a) ADA もしくは (b) IL-6 濃度の組み合わせに基づく患者分類による IFX 治療継続評価

(2) トシリズマブ (TCZ) 投与を受けた RA 患者

約 300 検体を対象として ADA を検出したところ、約 3% が陽性と判定された。しかし、IFX の場合と比較して ECL シグナル強度は小さいものであった。さらに、ADA 陽性検体において血中 TCZ 濃度が低い症例も多くあり、IFX 投与患者で見られるような ADA とは特性が異なる可能性が示された。他方、ADA 陰性検体においても血中 TCZ 濃度が低い検体が認められ、ADA が血中 TCZ 濃度低下の主要因ではない可能性が示唆された。

(3) エタネルセプト (ETN) 投与を受けた RA 患者

生体内において、抗体医薬品のアミノ酸修飾や切断といったバイオトランスフォーメーションが生じることが明らかとなってきた。薬理活性や薬物動態などに影響を与えるため、バイオトランスフォーメーションプロファイルを解明する必要がある。そこで、可溶性 TNF 受容体 ETN について、質量分析法に基づく測定系を構築しバイオトランスフォーメーションを検証した。製剤中 ETN のほとんどが全長の N 末端配列を有した一方、RA 患者やマウスの血中からは N 末端 2 アミノ酸欠損体が最も多く検出された。ヒト組替えジペプチジルペプチダーゼ 4 (DPP-4) は、in vitro で ETN の N 末端 2 アミノ酸を切断した。DPP-4 阻害剤シタグリプチンの共処置は、in vivo、in vitro での N 末端 2 アミノ酸切断を抑制した。他方、この N 末端 2 アミノ酸欠損は、ETN の抗原結合能や血中濃度推移に影響しなかった。以上、DPP-4 による ETN の N 末端 2 アミノ酸欠損というバイオトランスフォーメーションを新たに発見した。

ETN に対する ADA の測定系として、先行品とバイオシミラーの両剤を比較検討した。バックグラウンド、検量線、カットオフ値について両剤で差異は認められないものの、検体の測定では先行品を用いて検出した方が高い傾向が認められた。さらに、先行品投与検体では、バイオシミラー投与検体と比べて陽性率が高い傾向が認められた。このことから、先行品とバイオシミラーの差異が ADA 検出に影響する可能性が示唆された。しかし、ADA と血中 ETN 濃度に相関が認められないことから、臨床効果等に影響を与える可能性は低いと考えられた。

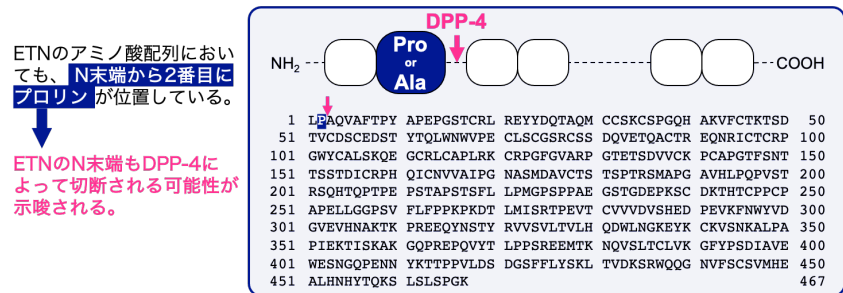


図 DPP-4 による ETN の N 末端 2 アミノ酸欠損バイオトランスフォーメーション

(4) IFX 投与を受けた炎症性腸疾患患者

約 300 検体を対象として ADA を検出したところ、約 5% が陽性と判定された。陽性検体においては、血中 IFX 濃度の低下が観察された。ADA 陰性検体の一部でも血中 IFX 濃度の低下が認められることから、ADA 以外の要因も同様に血中 IFX 濃度変動の要因となることが示唆された。

結論：ADA はさまざまな抗体医薬品において発現することが示された。他方、ADA の特性は、薬物血中濃度を低下させるもの、低下させないもの、測定法により異なるものなどさまざまであった。ADA 以外にも抗体医薬品血中濃度低下の要因が存在することから、臨床効果については、薬物血中濃度との相関が強いと考えられた。さらに、抗体医薬品のバイオトランスフォーメーションも発見され、新しい分析技術の開発と真の薬物動態の解明の必要性が示唆された。

〈引用文献〉

① Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, D' Haens G, Carbonez A, Rutgeerts P. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's

disease. *N Engl J Med.* 2003;348(7):601-8.

- ② Ridker PM, Tardif JC, Amarenco P, Duggan W, Glynn RJ, Jukema JW, Kastelein JJP, Kim AM, Koenig W, Nissen S, Revkin J, Rose LM, Santos RD, Schwartz PF, Shear CL, Yunis C; SPIRE Investigators. Lipid-Reduction Variability and Antidrug-Antibody Formation with Bococizumab. *N Engl J Med.* 2017;376(16):1517-26.
- ③ Takeuchi T, Miyasaka N, Inoue K, Abe T, Koike T; RISING study. Impact of trough serum level on radiographic and clinical response to infliximab plus methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: results from the RISING study. *Mod Rheumatol.* 2009;19(5):478-87.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nakae Kazuto, Masui Sho, Yonezawa Atsushi, Hashimoto Motomu, Watanabe Ryu, Murata Koichi, Murakami Kosaku, Tanaka Masao, Ito Hiromu, Yokoyama Kotoko, Iwamoto Noriko, Shimada Takashi, Nakamura Miyuki, Denda Masaya, Itohara Kotaro, Nakagawa Shunsaku, Ikemi Yasuaki, et. al.,	4. 巻 16
2. 論文標題 Potential application of measuring serum infliximab levels in rheumatoid arthritis management: A retrospective study based on KURAMA cohort data	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0258601
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0258601	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Masui Sho, Yonezawa Atsushi, Momo Kenji, Nakagawa Shunsaku, Itohara Kotaro, Imai Satoshi, Nakagawa Takayuki, Matsubara Kazuo	4. 巻 45
2. 論文標題 Infliximab Treatment Persistence among Japanese Patients with Chronic Inflammatory Diseases: A Retrospective Japanese Claims Data Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 323 ~ 332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b21-00906	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwamoto N, Takanashi M, Yokoyama K, Yonezawa A, Denda M, Hashimoto M, Tanaka M, Ito H, Matsuura M, Yamamoto S, Honzawa Y, Matsubara K, Shimada T.	4. 巻 472
2. 論文標題 Multiplexed monitoring of therapeutic antibodies for inflammatory diseases using Fab-selective proteolysis nSMOL coupled with LC-MS.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Immunol Methods.	6. 最初と最後の頁 44-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jim.2019.06.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Masui S, Yonezawa A, Izawa K, Hayakari M, Asakura K, Taniguchi R, Isa M, Shibata H, Yasumi T, Nishikomori R, Takita J, Matsubara K.	4. 巻 5
2. 論文標題 Plasma infliximab monitoring contributes to optimize Takayasu arteritis treatment: a case report.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Pharm Health Care Sci.	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40780-019-0136-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Masui S, Yonezawa A, Yokoyama K, Iwamoto N, Shimada T, Onishi A, Onizawa H, Fujii T, Murakami K, Murata K, Tanaka M, Nakagawa S, Hira D, Itohara K, Imai S, Nakagawa T, Hayakari M, Matsuda S, Morinobu A, Terada T, Matsubara K.	4. 巻 39
2. 論文標題 N-terminus of Etanercept is Proteolytically Processed by Dipeptidyl Peptidase-4	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceutical Research	6. 最初と最後の頁 2541 ~ 2554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11095-022-03371-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yonezawa Atsushi	4. 巻 45
2. 論文標題 Therapeutic Drug Monitoring of Antibody Drugs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 843 ~ 846
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b22-00006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計10件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 増井 翔, 米澤 淳, 横山 琴子, 岩本典子, 嶋田崇史, 橋本 求, 渡部 龍, 村田浩一, 村上孝作, 田中真生, 伊藤 宣, 早狩 誠, 寺田智祐, 松原和夫
2. 発表標題 エタネルセプトのN末端は生体内でDPP-4により欠損される
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2021 / 第29回クリニカルファーマシーシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村美由紀, 米澤 淳, 増井 翔, 橋本 求, 渡部 龍, 村田浩一, 村上孝作, 田中真生, 伊藤 宣, 横山 琴子, 岩本典子, 嶋田崇史, 中川俊作, 池見泰明, 寺田智祐, 早狩 誠, 松原和夫
2. 発表標題 関節リウマチ患者における血中インフリキシマブ濃度と抗薬物抗体測定による二次不応答の予測
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2021 / 第29回クリニカルファーマシーシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 米澤 淳
2. 発表標題 抗体医薬品の最適医療を目指した臨床薬理学研究
3. 学会等名 第42回日本臨床薬理学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 米澤 淳
2. 発表標題 個別化医療を目指した抗体医薬品と抗薬物抗体の血中濃度測定
3. 学会等名 第70回日本薬学会関西支部大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中江一統、米澤 淳、傳田将也、増井 翔、橋本 求、田中真生、伊藤 宣、横山琴子、岩本典子、嶋田崇史、中川俊作、中川貴之、早狩誠、松原和夫
2. 発表標題 KURAMAコホートをを用いた関節リウマチ患者におけるインフリキシマブ血中濃度・抗薬物抗体測定の有用性評価
3. 学会等名 第70回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 米澤淳
2. 発表標題 抗体医薬品のプロテオーム研究
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会（JHUP0 第17回大会）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米澤淳
2. 発表標題 バイオ医薬品の個別化医療に向けて～抗体医薬品のTDM～
3. 学会等名 日本薬学会第140年会（京都）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米澤淳
2. 発表標題 体内における抗体医薬品の構造変化
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 米澤淳
2. 発表標題 関節リウマチ治療における抗体医薬品のTDMとその臨床的意義
3. 学会等名 第43回日本臨床薬理学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 米澤淳
2. 発表標題 抗がん薬の薬理学 抗体医薬品とバイオシミラー
3. 学会等名 第60回日本癌治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	中川 俊作 (Nakagawa Shunsaku) (50721916)	京都大学・医学研究科・助教 (14301)	
研究 分担者	橋本 求 (Hashimoto Motomu) (60512845)	京都大学・医学研究科・特定講師 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------