

抗体による血液腫瘍の治療

谷 本 光 音

キーワード：モノクローナル抗体，血液腫瘍，CD 20，CD 33，キメラ抗体

はじめに

1975年に hybridoma 法が発明¹⁾されてから四半世紀を経た現在，ようやくモノクローナル抗体を用いた抗体療法が臨床使用できる段階になった。薬剤としての抗体療法の位置づけは，それぞれの抗体が検出する抗原の性質により異なるため一定ではないが，従来の治療法とは異なるコンセプト (molecular target；分子標的) から生まれた治療法としてその効果が期待されている。

本稿ではとくに最近臨床に導入されたB細胞性悪性リンパ腫に対する抗CD 20抗体と，本年中でも臨床試験が終了する急性骨髄性白血病に対する抗CD 33抗体についてその特徴と国内外での臨床成績を中心に概説する。

CD 20 抗原

CD 20抗原は，正常B細胞と多くのB細胞性リンパ腫に広く発現している分化抗原で，分子量約35 kDaの hydrophobic phosphoprotein である。その分子構造からCD 20抗原は4回膜貫通型分子であり，抗体と結合しても down regulation や internalization を受けにくいことが明らかにされている²⁾。こうしたCD 20抗原の性状から，B細胞性腫瘍に対する抗体治療の格好の標的と考えられて研究が進められてきた。

またCD 20抗原(蛋白)はB細胞の活性化，増殖分化に関与したり，calcium channel としての機能を有すると考えられている。

抗CD 20抗体とその臨床応用

米国においてCD 20抗体はキメラ抗体(rituximab)として臨床応用された。ヒトIgG 1kの定常部とマウスIgG 1抗CD 20抗体の可変部がキメラ化され，この chimeric geneをCHO細胞に transfect して rituximab は産生される³⁾。キメラ抗体とすることにより，異種蛋白であることによるアナフィラキシー反応が低く抑えられるとともに，マウス型抗体に比して血中半減期が長く，抗体依存性細胞障害(ADCC)の効果が飛躍的に増強されるなどの利点をもつ。

15例の再発B細胞性リンパ腫を対象に，単回投与で10，50，100，250，500mg/m²での第I相試験が行われ，主な非血液毒性は，発熱，悪心，悪寒，起立性低血圧(いずれもgrade 2以下)であった⁴⁾。これを受けて第II相試験⁵⁾が行われ，375mg/m²/w × 4 weeksの投与により，再発・再燃低悪性度Bリンパ腫患者166例中79例(48%)に奏効が得られ，そのうち9例にCRが，奏効例の再増悪までの期間の中央値は13.0ヶ月であった。有害事象は初回の投与時にみられ，発熱や悪寒が主なものでgrade 3，grade 4は各々12%，3%であった。

我が国で第I相試験に次いで行われた rituximab 第II相試験の結果では，375mg/m²/w × 4 weeksの

投与により、再発 indolent B-cell リンパ腫と mantle cell リンパ腫 (MCL) を対象として、indolent B-cell リンパ腫61例中 CR 14例, PR 23例 (奏効率61%), MCL 症例では奏効率46%という高い抗リンパ腫効果が認められた⁶⁾。このことから平成13年秋より、まずこの両疾患に対する治療目的での rituximab の使用が厚生労働省から認可された。

再発・再燃低悪性度Bリンパ腫に対する rituximab の高い抗腫瘍作用から、とくに cisplatin, etoposide などの main drug に耐性を獲得したヒトリリンパ腫細胞株に対して高い抗腫瘍作用を有することからも、期待されているのは化学療法との併用効果である。米国では、未治療例の低悪性度B細胞性リンパ腫を対象とした、CHOP 療法と rituximab の併用第II相試験が行われた⁷⁾。その結果、有害事象はCHOP 療法単独と同等であったが、奏効率は95% (40例中38例) であり、そのうち CR は22例 (55%) に認められ、*bcl-2* 陽性8例中7例が治療後にPCR法で*bcl-2* 陰性となった。従来の化学療法単独では治癒しない低悪性度B細胞性リンパ腫に rituximab 併用が奏効することより、自家造血幹細胞移植の前処置などへの応用も期待できる。

さらに中、高悪性度B細胞リンパ腫に対する rituximab 単独投与での抗腫瘍効果が奏効率で31% (54例中17例) であることが報告され⁸⁾、現在 CHOP 単独と rituximab+CHOP 療法との比較試験が行われている。すでに中間報告において併用群が、CR 率、EFS、生存のいずれにおいても勝っており、その結果が注目されている。

C D 33 抗 原

急性骨髄性白血病 (AML) は成人において最も発症頻度の高い急性白血病 (日本人で10万人あたりおよそ2~3人) である。通常の化学療法により70~80%のAML患者に完全寛解がもたらされるが、化学療法の継続のみではその内の約50%において2年以内に再発が認められる。さらにAMLは加齢に伴ってその発症率も高まることから、病型が再発高リスク群であっても造血幹細胞移植の対象とならない症

例も多く存在する。こうしたことから化学療法以外の新規治療法の導入が望まれていた。CD 33抗原はAMLに広く発現しておりこれに対する抗CD 33抗体は2001年にAMLに対する有効性と安全性が米国FDAにて認証され、AML治療の新しい可能性を拓くと期待されている。

AMLの標的抗原のひとつであるCD 33は67kDaの糖タンパクで、正常の多分化能幹細胞やリンパ系の細胞および非血球細胞の表面にはほとんど存在しない一方、AMLの芽球ではおよそ90%以上に、また単球細胞や骨髄系細胞の分化段階においては一部の正常細胞の細胞表面に発現している^{9,10)}。CD 33抗原はシアル酸結合レセプターファミリーの1つでその機能はこれまで不明であったが、最近の研究¹¹⁻¹³⁾によりCD 22や sialoadhesin などと同様に siglecs (sialic acid-binding Ig-related lectins) の1つとして主に骨髄単球性の細胞においてチロシンリン酸化を引き起こす作用のあることが見出された。またCD 33はそのリン酸化に伴い速やかに細胞質内へ down regulate されることも従来の研究結果から示唆されていた¹⁴⁾。

抗 CD 33抗体の臨床応用

こうしたCD 33に対する抗体を臨床応用することは1990年代のはじめから、2つの研究グループで精力的におこなわれてきた。ニューヨークの Sloan Kettering がん研究所の Scheimberg らはヒト化したCD 33抗体 (Hu-M 195) による抗原の体内分布をラジオアイソトープ結合抗体を用いておこない骨髄、脾臓、肝臓といった造血組織への集積を確認するとともに、¹³¹I、⁹⁰Yなどのshort rangeの結合抗体による臨床第I相試験を行い¹³⁾Iではγ線の周囲への放射があるものの、⁹⁰Yではその投与による影響は微小であったと報告している。また抗体そのものの投与成績や最近ではIL-2やレチノイン酸 (ATRA) との併用による臨床成績^{15,16)}も発表しており、明らかに細胞減少効果が認められたと報告している。

シアトルの Fred Hutchinson がん研究センター

の Sievers らのグループはヒト化した抗 CD 33 抗体 (hP 67.6) に *Micromonospora echinospora* ssp. *Calichensis* から単離された抗腫瘍性抗生物質である calicheamicin (カリケアマイシン) をリンカー結合させたキメラ抗 CD 33 抗体による臨床第 II 相試験の結果を最近報告¹⁷⁾している。

gemtuzumab ozogamicin ;
一般名 Mylotarg の臨床第 II 相試験⁹⁾

末梢白血球数 30,000/ μ l 以下の CD 33 陽性 AML 初回再発 142 例を対象として、calicheamicin 結合ヒト化抗 CD 33 抗体 (gemtuzumab ozogamicin ; 分子量約 150 kDa) を 9 mg/m² day 1, 15 に 2 時間かけて経静脈投与 (acetaminophen と antihistamin の前投与下に) し、安全性と臨床的な効果判定を day 43 で行った。効果判定の基準は CR (完全寛解) は、①末梢からの芽球消失、②骨髓中の芽球 5 % 以下、③ヘモグロビン g/dl 以上、⑤血小板 10 万以上、⑥抗中球 1,500/ μ l 以上、⑦最終の赤血球と血小板の輸血からそれぞれ 2 週間、1 週間経過していることとし、CRp (部分寛解) は CR の規定の中で血小板 10 万以上のみを満たさない症例とした。全例での寛解率は表 1 に示すとおりで OR (CR+CRp) は全例で 30%、60 歳未満 (62 例) で 34%、60 歳以上 (80 例) で

26% であった。

gemtuzumab ozogamicin の静脈投与による急性期の有害事象を図 1 に示す。予防的に抗ヒスタミンや解熱剤が投与されていたにもかかわらず、60% 以上の症例に悪寒、発熱を認めた。Grade 3, 4 の低血圧も 4 % に認めている。造血器以外の臓器に関しては grade 3, 4 のビリルビン上昇が 23% に、grade 3, 4 の AST/ALT 異常が 17% に認められた。いずれの肝障害も投与後 8 日をピークとして 20 日まで認められ、そのうちの 1 例は多臓器不全 (MOF) にて 22 日目に死亡、もう 1 例は遷延化した肝障害により 156 日で死亡している。また gemtuzumab ozogamicin 投与後に造血幹細胞移植を受けた 27 例のうち 3 症例は肝静脈閉塞症 (hepatic VOD) を発症して死亡している。こうしたことから gemtuzumab ozogamicin の肝障害発生については今後、

表 1 Gemtuzumab ozogamicin 第 II 相試験の成績

Type of Remission	全症例 n=142	60歳未満 n=62	60歳以上 n=80
CR	16%	18%	15%
CRp*	13%	16%	11%
OR (CR+CRp)	30%	34%	26%

CRp* ; 血小板数 100,000/ μ l 未満の CR 例

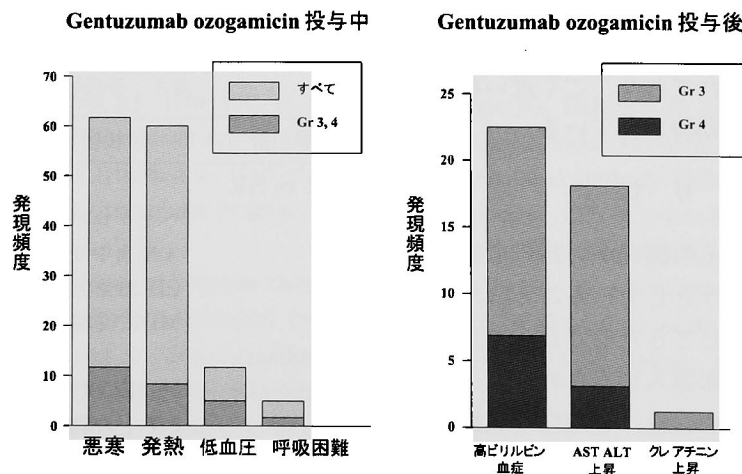


図 1 第 II 相試験の有害事象

慎重な検討が必要と考えられる。また、中和抗体の検出が全例に行われたが、1例のみにリンカー部分に対する抗体の産生が認められたのみであった。

gemtuzumab ozogamicin 投与後12ヶ月以上の予後成績は、図2に示すとおりである。CR, CRp では治療終了から12ヶ月の時点で50%以上の生存が期待できるのに対して、CR, CRp 以外 (NR) では20%前後である。CR, CRp 症例では gemtuzumab ozogamicin 投与後にそれぞれ8例、7例が造血幹細胞移植を受け、NR で移植した12例に比して移植後100日の生存率も高く、CR, CRp 例では生存の中央値も NR 例より高い傾向にある (表2) ことが上記の結果の差異をもたらしているものと考えられる。

本臨床研究で OR もしくは NR の違いをもたらす因子を多変量解析した結果 (表3) では、CD 13の発現がないこと、p-glycoprotein (MDR; 多剤耐性遺伝子産物) のないこと、および貧血や末梢血中に芽球がないことが有意な因子として認められている。また末梢血芽球数が低いこと、CD 34の発現がないこと、CR 1 (第一寛解期間) の長いこと、PS の良いことが長期の生存を得るために有意な因子としてあげられている。

こうした臨床研究結果をふまえて、米国 FDA は gemtuzumab ozogamicin をオーファン薬剤として認可した。一般名 Mylotarg の対象は60歳以上で従来の化学療法の適応のない CD 33陽性 AML に限定されているが、白血病に対して初めて認められた免疫療法薬剤となった。わが国でも現在一部の施設において臨床試験が開始されており、ごく近い将来に臨床に使用できるものと期待されている。

お わ り に

モノクローナル抗体がその開発から20年余経過した現在、臨床応用されようとしていることは、とりわけその開発に直接関与してきた者にとって感慨深いものがある。抗体を臨床導入するためには多くの前臨床試験や薬物としての毒性、有効性の試験が行われたであろう。この間粘り強く臨床導入に向けて努力したそのごく一部が成功に辿り着いているとい

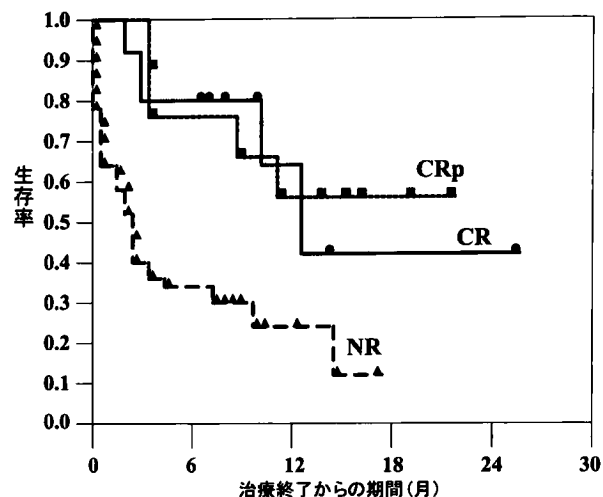


図2 第II相試験の成績 (全生存)

表2 第II相試験後に HSCT を施行した成績

	CR	CRp*	No Response
総症例数	23	19	100
HSCT 症例数 (%)	8(35)	7(37)	12(12)
HSCT 後100日生存症例数	7(87)	6(86)	5(42)
移植後の無再発生存中央値 (月)	>5.1	>2.7	—
移植後の生存中央値 (月)	8.1	>3.4	>1.6

CRp*: 血小板数100,000/ μ l 未満の CR 例

表3 予後因子の多変量解析

解 析	予後因子	あり・なし	X ² test
OR vs NR	ヘモグロビン値	高い	.018
	末梢血中芽球数	低い	.022
	CD 13発現	なし	.001
	MDR 発現	なし	.001
Landmark Survival	PS (ECOG)	良好	.010
	CR 1 の期間	長い	.010
	末梢血中芽球数	低い	.001
	CD 34発現	なし	.003

っても過言ではない。血液腫瘍に対する抗体の多くはこうした基礎的な検討の段階において臨床応用の可能性が消えたものがほとんどである。悪性リンパ腫に対する rituximab と急性白血病の AML に対する抗 CD 33 抗体は、それぞれの抗体の作用や特性は異なるが、これらの臨床導入により恩恵を受ける患者さんの数も多く、ともに従来の化学療法にない作用をもち、有害事象が比較的軽微な点については共通している。今後は様々な他の治療方法との組み合わせによる臨床効果の検討が予定されている。まさに21世紀の新しい治療の第一歩がまさに踏み出されたと感じずにはいられない。

参 考 文 献

- 1) Kohler G, Milstein C : Continuous cultures of fused cell secreting antibody of predefined specificity. *Nature* **256** : 495—497, 1975.
- 2) Pulczynski S, Boesen AM, Jensen OM : Modulation and intracellular transport of CD20 and CD21 antigens induced by B1 and B2 monoclonal antibodies in Raji and Jok-1 cells-an immunofluorescence and immunoelectron microscopy study. *Leukemia Res.* **18** : 541—552, 1994.
- 3) Reff ME, Carcer K, Chambers K, et al : Depletion of B cells *in vivo* by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* **83** : 435—445, 1994.
- 4) Maloney DG, Loles TM, Czerwinski DK, et al : Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* **84** : 2457—2466, 1994.
- 5) MaLaughlin DG, Grillo-Lopez AJ, Link BK, et al : Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma : Half of the patients respond to four-dose treatment program. *J Clin. Oncol.* **16** : 2825—2833, 1998.
- 6) Tobinai K : Clinical trials of a mouse-human chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for B cell non-Hodgkins lymphoma in Japan. *Cancer chemother. pharmacol.* **48** : (suppl) s 85—90, 2001.
- 7) Czuczman MS, Grillo-Lopez AJ, White CA, et al : Treatment of patients with low-grade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD 20 monoclonal antibody and CHOP chemotherapy. *J Clin. Oncol.* **17** : 268—276, 1999.
- 8) Coiffier B, Haioun C, Ketterer N, et al : Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma. *Blood* **92** : 1927—1932, 1998.
- 9) Griffin JD, Linch D, Sabbath K, et al : A monoclonal antibody reactive with normal and leukemic human progenitor cells. *Leukemia Res.* **8** : 521—534, 1984.
- 10) Dinndorf PA, Andrews RG, Benjamin D, et al : Expression of normal myeloid-associated antigens by acute leukemia cells. *Blood* **67** : 1048—1053, 1986.
- 11) Ulyanova T, Blasioli J, Woodford-Thomas TA, et al : The sialoadhesin CD33 is a myeloid-specific inhibitory receptor. *Eur J Immunol.* **29** : 3440—3449, 1999.
- 12) Vitale C, Romagnani C, Falco M, et al : Engagement of p 75/AIRM1 or CD33 inhibits the proliferation of normal and leukemic myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **96** : 15091—15096, 1999.
- 13) Paul SP, Taylor LS, Stansbury EK et al : Myeloid specific human CD33 is an inhibitory receptor with differential ITIM function in recruiting the phosphatases SHP-1 and SHP-2. *Blood* **96** : 483—490, 2000.
- 14) Tanimoto M, Scheinberg DA, Carlos CC, et al : Restricted expression of an early myeloid cell surface antigen defined by monoclonal antibody M 195. *Leukemia* **3** : 339—348, 1989.
- 15) Kossman SE, Scheinberg DA, Jurcic JG, et al : A phase I trial of humanized monoclonal antibody HuM 195 (anti-CD33) with low dose interleukin-2 (IL-2) in acute myelogenous leukemia. *Clin. Cancer Res.* **5** : 2748—2755, 1999.
- 16) Jurcic JG, DeBlasio A, Dumont L, et al : Molecular remission induction with retinoid acid and anti-CD33 monoclonal antibody HuM195 in acute promyelocytic leukemia. *Clin. Cancer Res.* **6** : 372—380, 2000.
- 17) Sievers EL, Larson RA, Edward A, et al : Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse. *J Clin. Oncol.* **19** : 3244—3254, 2001.