

Duocarmycin-antibody mimetic drug conjugate and an ATR inhibitor combination results in complete remission in tumor

田中十志也¹、杉山暁¹、坂田樹理²、巽俊文¹、三浦麻衣¹、神谷若菜¹、児玉龍彦¹、土屋政幸³、マイケル・チャンスラー³、山次健三⁴、徳山英利²、金井孝¹
 (1 : 東京大学、2 : 東北大学、3 : (株)Complecure (コンプリキュア)、4 : 千葉大学)

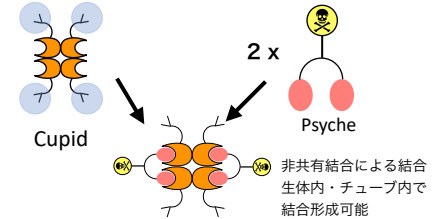
要旨

近年、抗体薬物複合体 (ADC) はHER2陽性進行乳癌において、優れた治療効果を示している。しかし、治療を繰り返すことにより耐性や重篤な副作用が生じることが多く、これらはアンメット・メディカル・ニーズとして存在している。この課題を解決するために我々は抗体ミメティック薬物複合体 (AMDC; Antibody Mimetic Drug Conjugate) であるDuo-HER2とATR阻害剤の併用効果を検討した。Duocarmycinは強力なDNAアルキル化剤であり、その作用によりDNA損傷を促す。細胞はDNA損傷を受けると細胞周期がS期で停止しATRによる修復作用機構が働く。一方、ATR阻害剤 (Ceralacertib) はこのDNA修復作用を阻害する薬剤である。

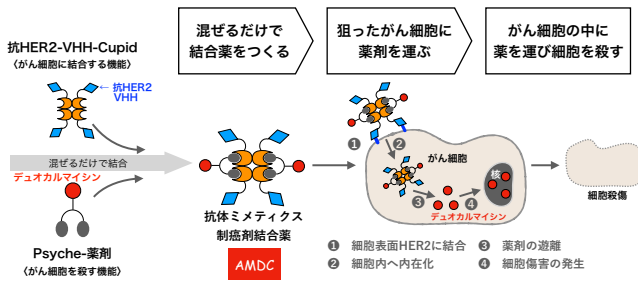
HER2陽性ヒト乳癌細胞KPL-4を移植したモデルマウスで、Duo-HER2とATR阻害剤は相乗的な腫瘍抑制効果を示し、100日以上は無腫瘍状態を確認した。In vitroでも3種類のATR阻害剤 (tuvusertib, ceralacertib, berzosertib) とDuo-HER2の併用効果が見られ、アポトーシスやネクローシスの誘導が抗腫瘍効果に関与していることが示唆された。

背景 1 : Cupid-Psyche system について

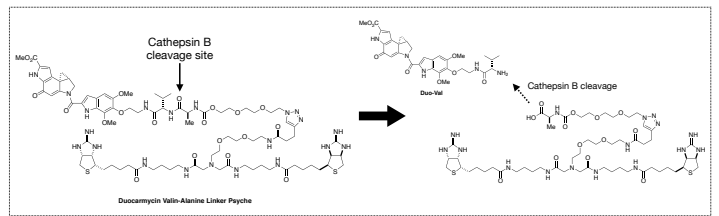
- Cupid-Psyche System はストレプトアビジン・ビオチンの結合性を利用した薬物送達プラットフォーム
- Cupid はアミノ酸変異により、低免疫原性・ビオチン非結合性の性質をもつ
- リガンドと融合タンパクとして発現し抗原のターゲティング可能
- Psycheはビスイミノビオチン構造を持つ低分子
- リンカーを介して薬物ペイロードを結合可能
- Cupid と Psyche は 非共有結合: $10^{-9} \sim 10^{-10}$ M 以上の親和性をもつ



背景 2 : 新規AMDC 抗HER2 VHH-Cupid (HER2-Cupid) と Duocarmycin-Psyche (Duo-Psyche) による治療効果



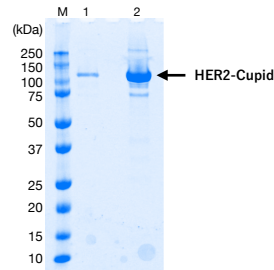
Duocarmycin-Psycheはがん細胞内の Cathepsin B で切断される



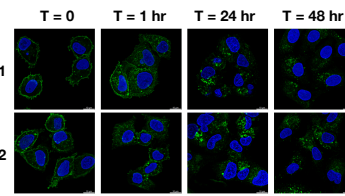
結果 1 : HER2-Cupid の製造・機能評価

HER2-Cupidの製造

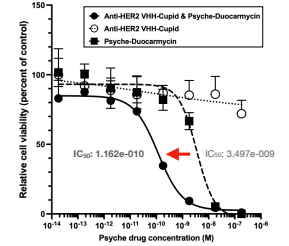
1. 大腸菌での発現
2. インクルージョンボディ (IBs) の回収
3. グアニジンによる変性
4. 希釈法による巻き戻し
5. ゲル濾過精製



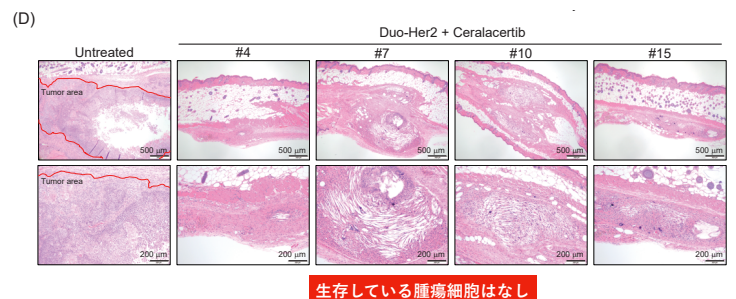
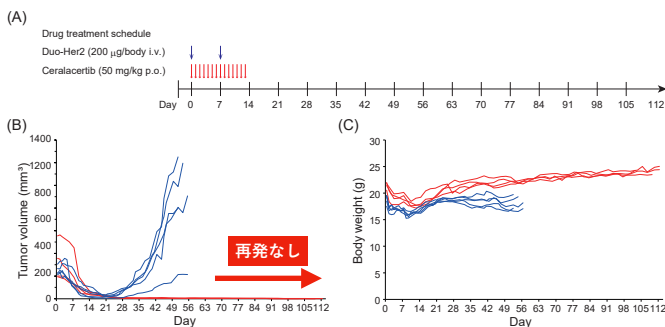
細胞内在化評価 (KPL-4細胞)



細胞傷害性評価 (KPL-4細胞)



結果 2 : DNAアルキル化剤 (Duocarmycin) DNA損傷阻害剤 (Ceralacertib) による相乗効果



A. マウスへの薬剤投与スケジュール: Duo-HER2はDay 0、および day 7 に 200 μ g/bodyにて尾静脈投与を行なった。Ceralacertibは day 0 から day 13 までの 14 日間経口投与を行なった。B. 腫瘍体積の変化: Duo-HER2のみを投与したマウスの腫瘍体積の変化 (青色)、Duo-HER2とCeralacertibを併用したマウスの腫瘍体積の変化 (赤色) C. 体重の変化: Duo-HER2のみを投与したマウスの体重変化 (青色)、Duo-HER2とCeralacertibを併用したマウスの体重変化 (赤色)

D. Duo-HER2とCeralacertibを併用したマウスの腫瘍の病理解析結果: コントロールマウスとDuo-HER2とCeralacertibを併用したマウスの腫瘍移植部分を病理標本を作製しHE染色により腫瘍細胞の生存の有無を確認

Conclusion

- 抗HER2 VHH-Cupidを大腸菌封入体から巻き戻し 4 量体タンパク質の製造に成功した。
- In vitro での性能評価の結果、VHH-CupidはHER2陽性細胞で早期の内在化が確認され、VHH-CupidとPsyche-duocarmycinのブレミックス複合体は細胞傷害性が確認された。
- KPL-4ゼノグラフトマウスでDuo-HER2単独では腫瘍の再燃が確認されたが、Ceralacertibを併用では再燃は確認されなかった。
- 腫瘍移植部分の病理解析の結果、生存している腫瘍細胞は確認されなかった。

Reference

Antibody-mimetic drug conjugate with efficient internalization activity using anti-HER2 VHH and duocarmycin. J. Sakata, et al. *Protein Expr Purif*. 2024 Feb;214:106375.

Antibody mimetic drug conjugate manufactured by high-yield *Escherichia coli* expression and non-covalent binding system K. Yamatsugu, et al. *Protein Expr Purif* 2022 Vol. 192 Pages 106043

Pathological complete remission of relapsed tumor by photo-activating antibody-mimetic drug conjugate treatment Y. Kaneko, et al. *Cancer Sci* 2022 Vol. 113 Pages 4350

Cupid and Psyche system for the diagnosis and treatment of advanced cancer A. Sugiyama, et al. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2019 Vol. 95 Pages 602