

Title	抗体医薬品に対する抗薬物抗体の実態解明
Sub Title	Analysis of anti-drug antibody against therapeutic antibody
Author	米澤, 淳(Yonezawa, Atsushi)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	抗薬物抗体 (ADA) の出現要因と臨床効果への影響を検討するため、電気化学発光法に基づく測定系を構築し、各抗体医薬品を投与された患者血中のADAを検出した。関節リウマチ患者を対象にADAをはじめとするバイオマーカーを測定し、臨床効果との相関を解析した。インフリキシマブでは、ADA陽性は治療継続の予測因子とならなかった一方、インフリキシマブ濃度が低くインターロイキン6濃度の高い患者群では採血から1年後の治療継続率が低いことを明らかにした (Masui S, Biol Pharm Bull, 2023)。トシリズマブでは、関節リウマチ患者から採取した血清試料を対象にADA陽性判定を実施したが、ADA陽性率は他の2剤に比べて低かった。他方、エタネルセプトでは陽性率は高いものの血中濃度や効果への影響は認められなかった。また、エタネルセプトの実臨床での先発品とバイオ後続品で有効性・安全性を比較したところ、バイオ後続品においてより優れた安全性が期待される結果を得た (Kawakami T, Mod Rheumatol, in press)。以上より、ADA出現率は薬物により異なり、その作用も様々であることが判明した。さらに、ADAの薬物認識特性の検討を行った。ADA陽性検体に対しインフリキシマブまたはその一部 (Fab、Fc等) を添加・反応させ、ADA検出強度の低下を観察することで、抗原認識配列を有するインフリキシマブ構造を推定した。また、エタネルセプトに対し熱変性や還元、脱糖鎖などを行い、ADAとの結合効率の変化を評価することで抗原認識配列を推定した。これらの結果より、ADAは単にアミノ酸配列のみならず、抗体医薬品の立体構造も認識する可能性を示唆した。 今後、母集団薬物動態解析などにより、ADAを含めた体内動態変動因子の探索を進めるとともに、抗体医薬品が抗原として認識される特性 (立体構造や分子修飾など) について解析を進める。 An electrochemiluminescence-based assay for detection of anti-drug antibodies (ADAs) has been developed to explore the factors contributing to their development and their impact on clinical effectiveness. ADA and other biomarkers were assessed in patients with rheumatoid arthritis, examining their correlation with clinical outcomes. For infliximab, ADA positivity could not predict treatment persistence; while patients with lower infliximab levels and higher interleukin 6 levels had lower treatment persistence rates (Masui S, Biol Pharm Bull, 2023). Regarding tocilizumab, the ADA assay demonstrated a lower rate of ADA positivity in patients with rheumatoid arthritis compared to the other two drugs. Despite a higher ADA positive rate for etanercept, it had a lesser impact on serum drug levels and clinical response. Furthermore, we conducted a comparative analysis of the effectiveness and safety of etanercept between the reference product and its biosimilar in real-world settings, revealing a potentially superior safety profile for the biosimilar product. In summary, the development and impact of ADAs can vary across different antibody drugs. An exploration of the binding sites of ADAs on infliximab was also conducted. ADA-positive serum samples were spiked with intact infliximab or its fragments. The inhibition of ADA detection suggested the specific components of infliximab with corresponding epitopes. Additionally, etanercept underwent denaturation, reduction, and deglycosylation, followed by an assessment of changes in binding affinity against ADA. These results suggest that ADAs may recognize not only the amino acid sequence but also the higher order structures of antibody drugs. In future research, we aim to identify factors such as ADAs that contribute to the pharmacokinetic profile of therapeutic antibodies through population pharmacokinetic analysis and other methodologies. The further analyses of ADA epitopes will focus on higher-order structural characteristics and molecular modifications of antibody drugs.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230197

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2023年度 学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	薬学部	職名	教授	補助額	500千円 (特B)
	氏名	米澤 淳	氏名(英語)	Atsushi Yonezawa		
研究課題（日本語）						
抗体医薬品に対する抗薬物抗体の実態解明						
研究課題（英訳）						
Analysis of anti-drug antibody against therapeutic antibody						
1. 研究成果実績の概要						
抗薬物抗体（ADA）の出現要因と臨床効果への影響を検討するため、電気化学発光法に基づく測定系を構築し、各抗体医薬品を投与された患者血中のADAを検出した。関節リウマチ患者を対象にADAをはじめとするバイオマーカーを測定し、臨床効果との相関を解析した。インフリキシマブでは、ADA陽性は治療継続の予測因子とならなかった一方、インフリキシマブ濃度が低くインターロイキン6濃度の高い患者群では採血から1年後の治療継続率が低いことを明らかにした（Masui S, Biol Pharm Bull, 2023）。トシリズマブでは、関節リウマチ患者から採取した血清試料を対象にADA陽性判定を実施したが、ADA陽性率は他の2剤に比して低かった。他方、エタネルセプトでは陽性率は高いものの血中濃度や効果への影響は認められなかった。また、エタネルセプトの実臨床での先発品とバイオ後続品で有効性・安全性を比較したところ、バイオ後続品においてより優れた安全性が期待される結果を得た（Kawakami T, Mod Rheumatol, in press）。以上より、ADA出現率は薬物により異なり、その作用も様々であることが判明した。さらに、ADAの薬物認識特性の検討を行った。ADA陽性検体に対しインフリキシマブまたはその一部（Fab、Fc等）を添加・反応させ、ADA検出強度の低下を観察することで、抗原認識配列を有するインフリキシマブ構造を推定した。また、エタネルセプトに対し熱変性や還元、脱糖鎖などを行い、ADAとの結合効率の変化を評価することで抗原認識配列を推定した。これらの結果より、ADAは単にアミノ酸配列のみならず、抗体医薬品の立体構造も認識する可能性を示唆した。 今後、母集団薬物動態解析などにより、ADAを含めた体内動態変動因子の探索を進めるとともに、抗体医薬品が抗原として認識される特性（立体構造や分子修飾など）について解析を進める。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
An electrochemiluminescence-based assay for detection of anti-drug antibodies (ADAs) has been developed to explore the factors contributing to their development and their impact on clinical effectiveness. ADA and other biomarkers were assessed in patients with rheumatoid arthritis, examining their correlation with clinical outcomes. For infliximab, ADA positivity could not predict treatment persistence; while patients with lower infliximab levels and higher interleukin 6 levels had lower treatment persistence rates (Masui S, Biol Pharm Bull, 2023). Regarding tocilizumab, the ADA assay demonstrated a lower rate of ADA positivity in patients with rheumatoid arthritis compared to the other two drugs. Despite a higher ADA positive rate for etanercept, it had a lesser impact on serum drug levels and clinical response. Furthermore, we conducted a comparative analysis of the effectiveness and safety of etanercept between the reference product and its biosimilar in real-world settings, revealing a potentially superior safety profile for the biosimilar product. In summary, the development and impact of ADAs can vary across different antibody drugs. An exploration of the binding sites of ADAs on infliximab was also conducted. ADA-positive serum samples were spiked with intact infliximab or its fragments. The inhibition of ADA detection suggested the specific components of infliximab with corresponding epitopes. Additionally, etanercept underwent denaturation, reduction, and deglycosylation, followed by an assessment of changes in binding affinity against ADA. These results suggest that ADAs may recognize not only the amino acid sequence but also the higher order structures of antibody drugs. In future research, we aim to identify factors such as ADAs that contribute to the pharmacokinetic profile of therapeutic antibodies through population pharmacokinetic analysis and other methodologies. The further analyses of ADA epitopes will focus on higher-order structural characteristics and molecular modifications of antibody drugs.						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)		発表課題名 (著書名・演題)		発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)		学術誌発行年 月 (著書発行年 月・講演年月)

Masui S, Yonezawa A, Nakamura M, Onishi A, Hashimoto M, Onizawa H, Fujii T, Murakami K, Murata K, Tanaka M, Yokoyama K, Iwamoto N, Shimada T, Itohara K, Hira D, Nakagawa S, Imai S, Nakagawa T, Hayakari M, Matsuda S, Morinobu A, Terada T, Matsubara K.	Serum Concentrations of Infliximab and IL-6 for Predicting One-Year Discontinuation of Infliximab Treatment Owing to Secondary Non-response in Patients with Rheumatoid Arthritis.	Biol Pharm Bull	2023
Kawakami T, Masui S, Onishi A, Onizawa H, Fujii T, Murakami K, Murata K, Tanaka M, Shimada T, Nakagawa S, Matsuda S, Morinobu A, Terada T, Yonezawa A	Comparison of safety and effectiveness between etanercept biosimilar LBEC0101 and reference in patients with rheumatoid arthritis in real-world data using KURAMA cohort.	Mod Rheumatol	in press