

Fc 공학을 통한 치료용 항체 유효성의 증대



강 태 현 교수
국민대학교 응용화학부
thkang@kookmin.ac.kr

1. 서론

항체의약품은 세계 바이오 의약품 시장의 70% 이상을 차지한다[1]. 이는 2018년 매출액 상위 10개 의약품 중 항체 관련 의약품이 7개라는 사실로부터도 가늠할 수 있으며 매출액으로도 상위 10위 총 매출액 885억 달러의 70%(624억 달러)를 기록하였다 [2]. 2013년부터 2017년까지 미국의 FDA (Food and Drug Administration)와 유럽의 EMA (European Medicines Agency)에 의하여 허가를 받은 신규 단일클론 항체 치료제는 31종으로 2017년 말까지 총 57종이 등록되었다. 몇몇 재무보고서에 따르면 항체 시장은 2017년까지 글로벌 총 매출이 980억 달러를 초과했으며 연 성장률 (CAGR, compound annual growth rate)이 18.3%로써 2022년까지 1,370억에서 2,000억 달러로 예상할 만큼 급성장하고 있다. 항체 시장은 22개의 활발한 항체 R&D를 수행하고 있는 기업 중 7개가 총 매출의 87%를 점유하고 있으며 Roche社의 자회사인 Genentech社는 무려 31%의 항체 시장 점유율을 보인다. 2017년 통계에 따르면 질병 관점에서 보았을 때 허가된 57종의 단일클론항체 중 15종이 항암치료제로 가장 많은 비중을 차지했으며 그 다음으로 많은 종은 혈액 관련 질병 치료제였다[3].

2019년 9월 현재 FDA로부터 허가를 받은 치료용 항체는 알려진 immunoglobulin 중 IgG isotype에 속한다[4]. 체내의 IgG 분자는 두 개의 동일한 Fab (fragment antigen binding) 도메인과 한 조각의 Fc (fragment crystallizable) 도메인으로 구성되어 있다. 두 개의 Fab 도메인은 Fc 도메인과 hinge region으로 연결되어 있으며 이 hinge region이 세 개의 각 부분이 공간적으로 유연하게 배치하도록 도와준다. 그 결과로 Fab 도메인은 두 개의 서로 다른 위치의 같은 종류의 항원, 그리고 그와 동시에 Fc 도메인은 effector ligand에 효율적으로 결합하게 된다[그림1].

항체의 Fab 도메인이 타겟 역할을 담당한다면 항체의 Fc 도메인은 항체의 “기능” 역할을 한다[그림1]. 따라서 Fc 공학은 항체의 기능을 공학적 방법을 활용하여 개선하는 연구이며 이는 항체의 effector function인 ADCC (antibody-dependent cellular

cytotoxicity), ADCP (antibody-dependent cellular phagocytosis), 그리고 항체의 혈중 반감기를 엔지니어(engineer)함을 뜻한다. 이에 항체의 effector function 공학, 혈중 반감기 공학, 이중 결합 공학(이중 항체)에 대하여 논의하고자 한다.

2. 항체의 effector function 공학

항체의 effector function은 항체가 치료목적으로 외부에서 주입되든지, 체내에서 면역시스템을 통하여 몸에서 자체 제작되었든지 간에 항체의 Fc domain이 그 수용체인 Fc γ R (Fc γ receptor) 혹은 C1 같은 보체(complement components)와 결합하여 외부의 병원체나 암세포를 제거 또는 파괴한다[5–7]. 항체의 effector function은 크게 세 가지로 분류되는데 이는 IgG의 Fc 도메인의 수용체인 Fc γ R의 역할에 의한 ①ADCC와 ②ADCP, 그리고 Fc 도메인에 결합하는 최초의 보체 분자인 C1q의 역할에 의한 ③CDC (complement-dependent cellular cytotoxicity)이다. 현재 알려진 Fc γ R는 Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIa (CD32a), Fc γ RIIb (CD32b), Fc γ RIIc (CD32c), Fc γ RIIIa (CD16a), 그리고 Fc γ RIIIb (CD16b)이며 이들 수용체는 체내의 다양한 면역세포의 표면에 다른 expression level을 보인다[8]. 단일클론항체의 세포사멸 기능은 Fc 도메인과 면역 활성 혹은 억제 Fc γ R과의 결합력에 의해 결정된다[9, 10].

항체와 Fc γ R과의 결합력 최적화는 암질환과 자가면역 질환의 항체 치료제의 활성을 증대시키는 유망한 접근 방법으로 부상하였다[11]. 그에 따라 최근 십 여년 동안 IgG 항체의 Fc를 엔지니어링하여 Fc γ R과의 친화력을 개선하는 많은 시도가 있었다. 미국의 Xencor社의 연구원들은 Fc 도메인을 엔지니어링하여 면역활성 수용체인 Fc γ RIIIa (CD16a)과

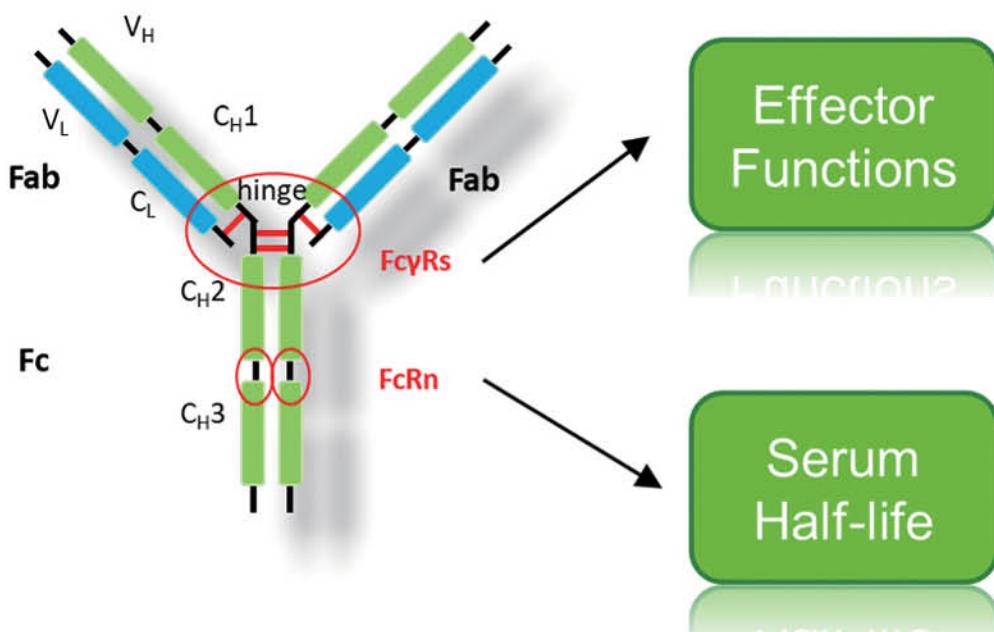


그림 1. 항체의 구조와 Fc 도메인의 기능

의 결합력을 강화시키고 상대적으로 면역억제 수용체인 Fc γ RIIb (CD32b)과의 결합력을 약화시켜서 항체-매개 세포사멸활성인 ADCC를 증대시키는 데 성공하였다[12]. 또한 그들은 Fc의 Fc γ RIIa (CD32a)과의 결합력을 증대시켜 항체-매개 세포식균활성인 ADCP를 증대시키기도 하였다[13]. 특히 MacroGenics社의 연구원들은 Fc γ RIIb 대비 Fc γ RIIa의 상대적 친화력을 상승시킨 Fc-engineered 항체를 현재 HER2 양성 유방암의 항체치료제인 Herceptin® (trastuzumab)의 Fc에 적용하여 margetuximab이라는 이름의 항체로 현재 미국의 유방암 환자 536명 대상의 임상3상에서 24%의 암 유발 위험감소 효능을 보인 바 있다[14].

암세포에 직접 타겟하는 항체치료제의 경우는 항체의 Fc 도메인의 사멸기능을 증대시켜 암세포를 제거하는 방법이 바람직하나 이러한 접근 방법이 오히려 항암 효과에 독이 되는 경우도 존재한다. 항체의 Fc 도메인의 ADCC, ADCP, 그리고 CDC 활성이 없어야 항암 효과를 극대화할 수 있는 경우는 ①체내의 cytokine 중화 항체 ②체내의 면역기능을 활성화하는 목적으로 면역세포를 타겟하는 immune checkpoint blocker, 그리고 ③항암 면역세포를 병원 세포 혹은 암세포의 근처로 유도하는 bispecific engager 등 세 가지로 생각해 볼 수 있다[15-17]. 환자마다 Fc γ R에 의한 면역 반응의 역치가 다를 뿐만 아니라 면역세포의 많은 수의 Fc γ R가 많은 수의 항체와 결합하기 때문에 Fc 도메인의 극미의 Fc γ R 결합력도 항체 치료제 투여 시 바람직하지 않은 면역세포의 사멸을 유도할 수 있으므로 완전한 Fc-Fc γ R 결합력 제거는 필연적이다. Janssen社의 Orthoclone OKT3®는 최초로 허가된 항체 치료제로 Fc 도메인에 L234A/L235A 아미노산 돌연변이로 Fc 기능을 일부 마비시켰으며 T 세포의 CD3 활성을 억제하여 장기이식 시 면역 반응을 억제하는 한 예이다[18]. Fc 기능이 존재하는 IgG1 subclass를 IgG2나 IgG4로 치환하여 Fc γ R 결합력을 줄이는 방법 또한 사용되고 있으며[10] immune checkpoint blocker인 BMS社의 Opdivo®나 Keytruda®가 면역세포 사멸을 줄이기 위하여 IgG4 subclass를 사용한 사례가 대표적이다. 현재에도 다양한 방법으로 Fc 도메인의 effector function silencing의 노력이 시도되고 있으며 질병, 사람에 따라 다양한 Fc γ R 역치를 가지기 때문에 항체의 독성을 줄이기 위한 노력은 매우 중요한 사안으로 고려되고 있다.

3. 항체의 혈중 반감기 공학

IgG 항체는 혈관을 순환하는 혈액의 他 단백질 대비 혈중에서의 안정성이 약 21일(3주)로 현저하게 높다. 그 이유는 순환하는 혈액 내의 monocyte나 혈관내피세포의 엔도솜 막에 존재하는 FcRn이라는 Fc 수용체 때문이다. 포유류의 혈청 내 IgG의 양을 조절하는 데 핵심적인 생화학적 속성은 IgG Fc 도메인이 FcRn 분자에 엔도솜의 pH 6.0에서 결합하고 생리적 pH 7.4에 해리되는 특징 때문이다[19-21].

미국의 Medimmune社는 Fc 도메인을 엔도솜의 pH6.0에서 자연상태의 Fc 도메인보다 10배 더 옥 강하게 FcRn에 결합하도록 엔지니어링 한 Fc를 발굴하여[22] 혈청 내 자연상태의 IgG 항체 대비 발굴된 Fc를 적용한 IgG 항체의 체내 반감기가 세배를 보임을 확인하였다[23, 24]. 현재 소아의 RSV 바이러스의 예방 용도로 사용되는 Medimmune社의 Synagis®를 투여 받은 소아는 투여 받지 않은 소아보다 82%의 감염을 감소를 보이고 있으며 신규 반감기 증대된 Fc를 보유한 Synagis®인 MEDI8897 또한 미국 임상 fast track으로 임상2상 진행중이다[25]. 유사한 접근 방법으로 Xencor社가 발굴한 Fc 도메인 또한 ravulizumab (ALXN1210)과 VRC01LS라는 이름으로 각각 생명에 위협적인 후천 적 희귀 혈액 질병인 PNH (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria)/용혈성 요독 증후군인 HUS (hemolytic-uremic syndrome) 치료[26]와 HIV 감염 예방[27]을 위한 임상 중이다.

4. 항체의 이중 결합 공학(이중 항체)

치료용 항체의 유효성을 증대시키기 위한 Fc 공학적 노력은 Fc 수용체와의 친화력을 조절하는 접근법만 존재하는 것은 아니다. 예를 들면 자연상태에서는 서로 동일한 Fc 도메인끼리 homodimer를 형성하지만 Fc 공학으로 monomer로 유지되도록 하거나[28–30] 서로 다른 Fc 도메인끼리 heterodimer를 형성하도록 엔지니어링이 가능하다[31–33]. 흔히 bispecific antibody (이중 항체)로 알려진 플랫폼 기술도 사실 Fc 공학에 의한 것이며 이 이중 항체는 서로 다른 두 항원에의 결합이 가능하다. 이 두 항원은 수용성 항원일 수도 있으며 세포 표면에 존재하는 항원이 될 수도 있다. 심지어 같은 세포에 존재하는 상이한 항원이 될 수도 있으며 치료제의 관점에서 유리한 완전히 다른 역할을 하는 세포를 연결하는 접근도 가능하다. 2019년 9월 현재 치료제 시장에 나와 있는 이중 항체는 두 가지인데 2014년 12월 美FDA가 B세포림프종 치료제로 허가한 Amgen社의 Blincyto® (blinatumomab)와 2017년 11월 美FDA가 A형 혈우병 (Hemophilia A) 치료제로 허가한 Chugai Pharmaceuticals社 (日중외제약)의 Hemlibra® (emicizumab)이다. Blincyto®의 경우는 Fc 도메인이 사용되지 않았기에 Fc 공학적 접근이 없었지만 Hemlibra®는 Fc 공학을 이용하여 coagulation factor IX와 X에 동시에 결합할 수 있도록 디자인하였다. 자연상태에 존재하는 coagulation factor VIII는 IX와 X에 동시에 결합하는 혈액 응고를 유도하는 분자이지만 그 반감기는 혈청 내에서 0.5일로 매우 짧다. 그러나 혈우병 환자들에게는 엔지니어된(engineered) Fc를 가진 이중 항체인 Hemlibra®가 투여되면 혈종 반감기가 21일을 유지하여 0.5일인 factor VIII보다 그 유효성 측면에서 우월하다고 볼 수 있다[34].

5. 결론

Fc 공학 기법을 활용한 항체의 effector function을 조절하는 광범위한 연구와 치료제로의 개발은 학계뿐만 아니라 글로벌 바이오 제약 관련 산업계에서 주로 수행되어왔다[35]. 이러한 노력에도 불구하고 아직 Fc 도메인의 정확한 기능에 대하여 모르는 부분이 매우 많다. 예를 들면 면역세포의 하나인 NK 세포의 Fc_γRIIIa가 항체의 세포사멸기능인 ADCC 활성에 주요 기여 요인임은 잘 알려져 있으나 다른 면역세포에 존재하는 같은 분자인 Fc_γRIIIa의 역할은 아직 불분명하다[36].

최근에는 항체가 항암 치료뿐만 아니라 항바이러스 활성을 이용한 감염질환의 예방 부문에도 많은 관심을 불러일으키고 있다[37, 38]. 이는 현재 알려진 항체의 중화능 뿐 아니라 마치 백신의 효능처럼 혈액 내 면역 반응 또는 면역세포의 활성에 의한 예방 효능을 기대한다는 뜻이기도 하다[39, 40]. 앞서 언급한 바와 같이 바이오 베터(bio-better) 접근으로 항체의 Fc 공학을 활용하여 세포사멸기능을 극대화하여 항암 임상3상에서 유효성을 증대시킨 사례와 치료에 대한 우월한 유효성 입증 사례는 Fc 공학의 바이오 의약품에의 기여도를 가늠하기에 충분하다. 또한 반감기를 개선하여 임상시험에서 감염질환의 예방이나 자가면역질환 치료에 대한 유효성 향상으로 우월한 임상 결과를 예측해볼 수도 있다. 뿐만 아니라 Fc 공학으로 이루어 낸 이중 항체의 바이오 의약 시장 진입은 항체 치료제로서의 큰 잠재력의 증거이다. 따라서 Fc 공학은 약동학적인 관점에서 미충족된 의학적 필요성을 만족시킬 수 있는 특성을 부여할 수 있는 기특한 공학적 방법이라고 할 수 있다.

참고문헌

1. *Blockbuster Biologics 2018: Sales of Recombinant Therapeutic Antibodies & Proteins.* LMCA0175, 2019.
2. Philippidis, A., *Top 15 Best-Selling Drugs of 2018.* Genetic Engineering & Biotechnology News, 2019.
3. Grilo, A.L. and A. Mantalaris, *The increasingly human and profitable monoclonal antibody market.* Trends Biotechnol., 2019, **37**(1): p. 9–16.
4. Brezski, R.J. and G. Georgiou, *Immunoglobulin isotype knowledge and application to Fc engineering.* Curr. Opin. Immunol., 2016, **40**: p. 62–9.
5. Nimmerjahn, F. and J.V. Ravetch, *Antibodies, Fc receptors and cancer.* Curr. Opin. Immunol., 2007, **19**(2): p. 239–45.
6. Nimmerjahn, F. and J.V. Ravetch, *Fcgamma receptors as regulators of immune responses.* Nat. Rev. Immunol., 2008, **8**(1): p. 34–47.
7. Cohen-Solal, J.F., et al., *Fc gamma receptors.* Immunol. Lett., 2004, **92**(3): p. 199–205.
8. Jefferis, R. and J. Lund, *Interaction sites on human IgG-Fc for FcgammaR: current models.* Immunol. Lett., 2002, **82**(1–2): p. 57–65.
9. Clynes, R.A., et al., *Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets.* Nat. Med., 2000, **6**(4): p. 443–6.
10. Nimmerjahn, F. and J.V. Ravetch, *Divergent immunoglobulin g subclass activity through selective Fc receptor binding.* Science, 2005, **310**(5753): p. 1510–2.
11. Mimoto, F., et al., *Fc Engineering to Improve the Function of Therapeutic Antibodies.* Curr. Pharm. Biotechnol., 2016, **17**(15): p. 1298–1314.
12. Lazar, G.A., et al., *Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function.* Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 2006, **103**(11): p. 4005–10.
13. Richards, J.O., et al., *Optimization of antibody binding to FcgammaRIIa enhances macrophage phagocytosis of tumor cells.* Mol. Cancer Ther., 2008, **7**(8): p. 2517–27.
14. Taylor, N.P. *MacroGenics' margetuximab beats Herceptin in phase 3.* FierceBiotech 2019; <https://www.fiercebiotech.com/biotech/macrogenics-margetuximab-beats-herceptin-phase-3>.
15. Strohl, W.R., *Optimization of Fc-mediated effector functions of monoclonal antibodies.* Current opinion in biotechnology, 2009, **20**(6): p. 685–91.
16. Pollreisz, A., et al., *Intravenous immunoglobulins induce CD32-mediated platelet aggregation in vitro.* Br. J. Dermatol., 2008, **158**(3): p. 578–84.
17. Kontermann, R.E. and U. Brinkmann, *Bispecific antibodies.* Drug Discov. Today, 2015, **20**(7): p. 838–47.
18. Alegre, M.L., et al., *A non-activating "humanized" anti-CD3 monoclonal antibody retains immunosuppressive properties in vivo.* Transplantation, 1994, **57**(11): p. 1537–43.
19. Ghettie, V. and E.S. Ward, *Multiple roles for the major histocompatibility complex class I-related receptor FcRn.* Annu. Rev. Immunol., 2000, **18**: p. 739–66.
20. Challa, D.K., et al., *FcRn: from molecular interactions to regulation of IgG pharmacokinetics and functions.* Curr. Top Microbiol. Immunol., 2014, **382**: p. 249–72.
21. D'Hooghe, L., et al., *Cell surface dynamics and cellular distribution of endogenous FcRn.* PLoS One, 2017, **12**(8): p. e0182695.
22. Dall'Acqua, W.F., et al., *Increasing the affinity of a human IgG1 for the neonatal Fc receptor: biological consequences.* J. Immunol., 2002, **169**(9): p. 5171–80.
23. Dall'Acqua, W.F., P.A. Kiener, and H. Wu, *Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor (FcRn).* J. Biol. Chem., 2006, **281**(33): p. 23514–24.
24. Oganesyan, V., et al., *Structural characterization of a human Fc fragment engineered for extended serum half-life.* Mol. Immunol., 2009, **46**(8–9): p. 1750–5.
25. Domachowske, J.B., et al., *Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of MEDI8897, an Extended Half-life Single-dose Respiratory Syncytial Virus Prefusion F-targeting Monoclonal Antibody Administered as a Single Dose to Healthy Preterm Infants.* Pediatr. Infect. Dis. J., 2018, **37**(9): p. 886–892.
26. Roth, A., et al., *Ravulizumab (ALXN1210) in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: results of 2 phase 1b/2 studies.* Blood Adv., 2018, **2**(17): p. 2176–2185.
27. Gaudinski, M.R., et al., *Safety and pharmacokinetics of the Fc-modified HIV-1 human monoclonal antibody VRC01LS: A Phase 1*

- open-label clinical trial in healthy adults. PLoS Med., 2018, 15(1): p. e1002493.
28. Ying, T., et al., Soluble monomeric IgG1 Fc. J. Biol. Chem., 2012, 287(23): p. 19399–408.
29. Ying, T., et al., Monomeric IgG1 Fc molecules displaying unique Fc receptor interactions that are exploitable to treat inflammation-mediated diseases. MAbs, 2014, 6(5): p. 1201–10.
30. Wang, C., et al., Engineered Soluble Monomeric IgG1 Fc with Significantly Decreased Non-Specific Binding. Front. Immunol., 2017, 8: p. 1545.
31. Ha, J.H., J.E. Kim, and Y.S. Kim, Corrigendum: Immunoglobulin Fc Heterodimer Platform Technology: From Design to Applications in Therapeutic Antibodies and Proteins. Front. Immunol., 2017, 8: p. 1582.
32. Liu, H., et al., Fc Engineering for Developing Therapeutic Bispecific Antibodies and Novel Scaffolds. Front. Immunol., 2017, 8: p. 38.
33. Ko, S. and S.T. Jung, Engineering antibodies for dual specificity and enhanced potency. Biotechnol. Bioproc. Eng., 2015, 20(2): p. 201–10.
34. Kitazawa, T., et al., A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model. Nat. Med., 2012, 18(10): p. 1570–4.
35. Wang, X., M. Mathieu, and R.J. Brezski, IgG Fc engineering to modulate antibody effector functions. Protein Cell, 2018, 9(1): p. 63–73.
36. Kang, T.H., et al., An Engineered Human Fc variant With Exquisite Selectivity for FcgammaRIIIaV158 Reveals That Ligation of FcgammaRIIIa Mediates Potent Antibody Dependent Cellular Phagocytosis With GM-CSF-Differentiated Macrophages. Front. Immunol., 2019, 10: p. 562.
37. Pelegrin, M., M. Naranjo-Gomez, and M. Piechaczyk, Antiviral Monoclonal Antibodies: Can They Be More Than Simple Neutralizing Agents? Trends Microbiol., 2015, 23(10): p. 653–665.
38. Gunn, B.M., et al., A Role for Fc Function in Therapeutic Monoclonal Antibody-Mediated Protection against Ebola Virus. Cell Host Microbe, 2018, 24(2): p. 221–233 e5.
39. Bournazos, S. and J.V. Ravetch, Fcgamma Receptor Function and the Design of Vaccination Strategies. Immunity, 2017, 47(2): p. 224–233.
40. Wen, Y.M., L. Mu, and Y. Shi, Immunoregulatory functions of immune complexes in vaccine and therapy. EMBO Mol. Med., 2016, 8(10): p. 1120–1133.