

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 事業名：革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業
2. 研究開発課題名： アンメット疾患領域を開拓するスマートなケモバイオ抗体
3. 研究開発代表者： 国立大学法人東北大学 大学院工学研究科 教授 梅津 光央
4. 研究開発の成果

1. 腎上皮特異的低分子抗体の開発

(i) 腎上皮特異的抗体のスクリーニング

ラットを用いた研究を行えるようにするため、ラットの腎臓上皮細胞に提示されているポドプラニンに高親和に結合する抗体の取得を目指し、ハイブリドーマー法によって目的標的に高親和な抗体を取得した。

(ii) 抗体の低分子化

(i)で取得した抗体および昨年度までに取得済の抗体も含めて、IgG 抗体の配列情報から scFv 型および Diabody 型低分子抗体を開発した。その結果、標的への交差性を示す抗体に関して、ヒト型化および変異導入を行うことによって、標的への親和性を失活させずに、大腸菌での発現量を 500 倍以上向上させることに成功した。

2. PAI-1 阻害薬の開発

(i) リンカー導入 PAI-1 阻害薬の開発

昨年度に PAI-1 阻害薬の PAI-1 阻害活性を損なわずにリンカーの導入が可能な部位を同定できた成果を踏まえ、抗体と結合可能なリンカーの導入を行った。その結果、リンカーを結合させた PAI-1 阻害薬を用いることで、リンカーを介して表面プラズモン共鳴測定用のセンサー基板へ PAI-1 阻害薬を固定化させることに成功した。そして、その表面プラズモン共鳴によって PAI-1 阻害薬と PAI-1 の相互作用を測定したところ、リンカーが付与しても PAI-1 阻害薬の PAI-1 結合機能は阻害されていないことが分かった。

(ii) PAI-1 阻害薬修飾抗体の開発

(i)で開発したリンカー結合 PAI-1 阻害剤のリンカー末端へタンパク質に結合可能なカップリング剤の導入を行った。その結果、TM5784 の骨格を利用することでカップリング剤を導入でき、これまで開発してきた低分子化抗体へ化学結合させることができた。

3. 臓器特異性評価および薬理活性評価

(i) 臓器特異性評価

これまで開発したポドプラニン提示細胞に結合する低分子抗体をマウスに投与し、免疫染色などによって腎上皮への臓器特異性を評価した。昨年引き続き、他の臓器への抗体の集積度を測定したところ、肝臓、膀胱、心臓、肺、腸などへほとんど抗体は残存していないことが分かった(図 3)。

(ii) 薬理活性評価

本年度までに開発したリンカー結合 PAI-1 阻害薬の PAI-1 に対する阻害活性の生体外評価を行

った。昨年度までに明らかにした官能基導入可能位置へリンカーを導入したリンカー結合 PAI-1 阻害薬の PAI-1 活性阻害試験を行い、阻害薬の PAI-1 結合性を失わないリンカー構造をいくつか明らかにした。さらに、2(ii)で作製したカップリング剤付きリンカー導入 PAI-1 阻害薬を低分子抗体へ結合させ、その PAI-1 阻害薬修飾低分子抗体の生体外における PAI-1 阻害活性およびポドプラニンへの抗体の標的結合性を評価した。その結果、PAI-1 阻害薬の PAI-1 結合機能と抗体のポドプラニン結合機能を維持できるリンカー構造を明らかにした。

4. マウスにおける動態挙動評価および薬理活性評価

(i) 臓器特異性評価

これまでに開発したポドプラニン提示細胞に結合する低分子抗体を正常マウス投与し、免疫染色によって腎上皮への臓器特異性を評価し、抗体の腎上皮への集積を評価するとともに、抗体の投与がタンパク尿等有害事象を引き起こさないかを検討した。その結果、有害事情を起こさずに抗体が基底膜を通過し、ポドプラニンへ抗体が結合していることが示唆された。