

## 医療分野研究成果展開事業/研究成果最適展開支援プログラム (AMED・A-STEP)

### 平成 27 年度成果報告書 (公開)

プロジェクトリーダー (企業責任者)	株式会社カネカ バイオテクノロジー開発研究所 中石 智之
研究責任者	学校法人東京理科大学 生命医科学研究所 分子生物学研究部門 北村 大介
参加機関	学校法人東京理科大学 株式会社カネカ
研究開発課題	ヒト B 細胞由来の完全ヒト抗体作製技術の実用性検証

#### 1. 研究開発の目的

膜タンパク質抗原に対する抗体を産生するマウス B 細胞を体外で増殖・分化・選択するシーズ技術を、ヒト B 細胞からの抗体取得に応用し、ヒト由来抗体の取得が可能であることを検証する。この方法には、ヒト由来で安全性が高く、ヒトの膜タンパク質抗原に対する抗体が取得できるという優位性がある。さらには、この技術を医薬品として実用的なレベルの抗体が取得できる技術へと発展させるため、(1) 完全ヒト抗体取得効率の向上、(2) 高親和性ヒト B 細胞の選択系の確立を行い、(3) 実用価値の高い抗体医薬品シーズ取得に挑戦する。将来的には、抗体医薬品シーズ提供・探索事業を展開により治療法のない難病に苦しむ患者に、安全かつ有効性の高い治療の提供に貢献していくことが研究開発目的である。

#### 2. 研究開発の概要

##### (1) 完全ヒト抗体取得効率の向上

ヒト B 細胞への遺伝子導入や培養条件を検討し、モデル抗原特異的な B 細胞を選択する。選択した B 細胞から抗体遺伝子を取得する。抗体遺伝子を動物細胞に形質転換し抗体を生産、精製、機能評価を行う。

##### (2) 高親和性ヒト B 細胞の選択系の確立

ヒト B 細胞の抗体遺伝子領域に変異導入し、親和性の向上した抗体を選択する。変異導入効率向上のため、遺伝子導入や培養条件等を検討する。

##### (3) 実用価値の高い抗体医薬品シーズ取得

これまでに抗体遺伝子取得が困難であった抗原を設定し、上記技術との組合せで実用価値の高い抗体医薬品シーズを取得する。

#### 3. 研究開発の成果 (平成 27 年度)

##### (1) 完全ヒト抗体取得効率の向上の実施【株式会社カネカ】

ヒト末梢血 B 細胞からモデル抗原特異的な B 細胞選択の再現性が確認できた。選択した B 細胞から抗体遺伝子を取得するために、B 細胞の長期培養を試みたが B 細胞が死滅した。B 細胞に特定の遺伝子を導入することにより長期培養できることがこれまでの検討で解っていたが、B 細胞への遺伝子導入効率が低いという問題があった。そこで、B 細胞への遺伝子導入効率を向上させるために、感染条件や遺伝子導入

に用いるウイルスの検討を行った。その結果、B細胞への遺伝子導入効率を1%程度から20%弱にまで改善できた。さらに、導入遺伝子の組合せ検討を行い、長期培養において細胞増殖率を向上させる組合せを見出した。それに加えて、B細胞のクローン化培養の方法を検討し、モデル抗原特異的なB細胞を含む集団の培養に成功した。今後、抗体遺伝子取得を進めていく。

### (2) 高親和性ヒトB細胞の選択系の確立【東京理科大学】

B細胞の抗体遺伝子領域に変異導入するために、変異導入のためのタンパク質発現カセット作製を完了した。CD40 リガンドとBAFFを発現するフィーダー細胞上で培養したマウスB細胞(胚中心様B細胞:iGB細胞)にこのタンパク質発現カセットを導入して培養し、抗体遺伝子への変異導入を調べたが変異はほとんど入っていなかった。一方で、iGB細胞をマウス個体内に戻して2週後の記憶B細胞様(iMB細胞)となった細胞を調べると変異が多く蓄積していた。よって、現在の培養方法にはない個体内因子が変異誘導に必要であることが考えられた。また、体外における変異導入には抗原受容体を介した刺激が必要であることを明らかにした。

### (3) 実用価値の高い抗体医薬品シーズ取得【株式会社カネカ】

抗体遺伝子取得が困難であった抗原としてGPCRと免疫チェックポイント分子を抗原に選び、抗原発現フィーダー細胞の作製を進めた。マーカー発現を指標にGPCRと免疫チェックポイント分子を高発現するフィーダー細胞の選択を終えた。