

抗体医薬

和氣秀徳

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 薬理学

Antibody medicine

Hidenori Wake

Department of Pharmacology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

はじめに

近年まで、抗体はその高い特異性や親和性から、標的をピンポイントに狙い治療できる医薬として期待され続けてきたが、抗体がマウス由来であり、ヒトに投与すると投与抗体に対する抗体が産生されることが原因で臨床に応用することは困難であった。しかし、遺伝子工学の急速な発達により、キメラ抗体、ヒト化抗体等のマウス抗体遺伝子をヒト抗体遺伝子に組み換え作製した抗体が開発され、投与抗体に対する抗体産生問題が解決したことで、今日、我が国では、10種類以上の抗体医薬が認可され、臨床において利用されるまでに至った(表1)。更に、疾病関連遺伝子や疾病関連タンパク質の発見、疾病に至るメカニズムの解明が進み、様々な原因タンパク質に対する抗体が医薬になる可能性が示されたことで、抗体医薬の研究開発は世界中で活発に行われるようになり、現在、抗体医薬開発ブームと言うべき現象が起っている。本稿では、抗体医薬の歴史と、抗体医薬作製技術の説明、さらには代表的な抗体医薬の紹介と今後の展開について概説したい。

抗体医薬の歴史と作製技術

現在の抗体医薬ブーム以前にも一度抗体医薬ブームが起きており、その契機となった技術が1975年、KöhlerとMilsteinによって確立されたモノクローナル抗体作製技術である¹⁾。モノクローナル抗体作製法は岡田らによって発見された細胞融合法²⁾を利用した方法である。まず、マウスに抗原を投与し、脾臓より抗体産生細胞を分離する。この細胞はこのままでは長期培養することができないため、不死化させるためにミエロマと細胞融合する。融合したハイブリドーマから産生された抗体を精製し、モノクローナル抗体として使用する。ポリクローナル抗体は様々な抗体分子の混合物であり、分子が均一で高純度な物質が安定的に大量に生産できることが必要な医薬品への利用には適さなかったが、モノクローナル抗体は一つの細胞由来の抗体が得られるため、単一の抗体を大量に得ることができ、抗体を医薬品にするために最も適した手法であった。

当時、この画期的手法が開発されたことで、数多くのモノクローナル抗体の臨床応用が試みられたが、抗体を患者に投与するとマウス由来の抗体に対する抗体が作られ、人体に重篤な副作用が置きかねないことがわかり、近年まで抗体医薬開発は進まなかった。しかし、この問題を解

決する技術が遺伝子工学等の発展により可能となった。その技術はキメラ抗体若しくはヒト化抗体作製技術である。キメラ抗体とはマウス抗体の不変部の遺伝子をヒト抗体遺伝子に組み換え作製した抗体³⁾、ヒト化抗体はCDR(相補性決定領域)以外の部分をヒト抗体遺伝子に組み換え作製した抗体のことである⁴⁾。抗体中に含まれるマウス由来の部位はそれぞれ、キメラ抗体では33%、ヒト化抗体では更に少ない10%となっており、投与された抗体に対する抗体の出現率が極めて低くなった(図1, 2)。現在、上市されている抗体はこれら、キメラ抗体、ヒト化抗体である。

さらに、近年、完全にヒト由来のタンパクで構成された抗体を作製する技術が開発された。この技術により作製された抗体は、もちろんマウス由来の部位は0%である(図2)。完全ヒト抗体を作製するには2つの方法が用いられている。一つは、ファージディスプレイ法を用いた方法である。大腸菌ウイルスの1種であるM13やT7などのファージのコートタンパク質にファージ感染能を失わないように外来遺伝子(ヒト抗体の可変領域)を融合タンパクとして発現させ、一度に10⁸以上のヒト可変領域を発現するライブラリーを構築し、目的の抗原と特異的に結合するファージクローンを選別する事によりヒト抗体を得る⁵⁾。もう一つは、ヒト抗体を作製する遺伝子改変マウ

平成21年4月受理
 〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1
 電話：086-235-7138
 FAX：086-235-7138
 E-mail：gmdl17007@s.okayama-u.ac.jp

表1 日本における承認済み抗体医薬一覧

名称	商品名	種類	標的	主な適応疾患
Bevacizumab	Avastin	ヒト化抗体 IgG2 κ	VEGF	結腸・直腸癌
Rituximab	Rituxan, MabThera	キメラ抗体 IgG1 κ	CD20B	細胞性非ホジキンリンパ腫
Trastuzumab	Herceptin	ヒト化抗体 IgG1 κ	HER2	転移性乳癌
Gemtuzumab ozogamicin	Myloatarg	ヒト化抗体 IgG4 κ (カリケアマイシン結合)	CD33	急性骨髄性白血病
Muromonab-CD3	OrthocloneOKT3	マウス抗体 IgG2 α	CD3	腎移植後の急性拒絶反応
Basiliximab	Simulect	キメラ抗体 IgG1 κ	CD25	腎移植後の急性拒絶反応
Infliximab	Remicade	キメラ抗体 IgG1 κ	TNF- α	関節リウマチ
Etanercept	Enbrel	融合タンパク質 TNF- α R+Fc	TRF- α	関節リウマチ
Adalimumab	Humira	ヒト化抗体 IgG1 κ	TNF- α	関節リウマチ
Tocilizumab	Actemra	ヒト化抗体 IgG1 κ	IL-6R	キャッスルマン病, 関節リウマチ
Omalizumab	Xolair	ヒト化抗体 IgG1 κ	IgE	喘息
Palivizumab	Synagis	ヒト化抗体 IgG1 κ	RSV F Protein	RSウイルス感染

スを用いた方法である。子孫に伝達するヒト染色体断片を保持する TransChromo (TC) マウス作製技術により⁶⁾、ヒト14番染色体断片(ヒト抗体重鎖遺伝子座を含む)を保持する TC マウス、ヒト2番染色体断片(ヒト抗体軽鎖 κ 遺伝子座を含む)

を保持する TC マウス、内在性マウス抗体重鎖 KO マウス、内在性抗体軽鎖 κ KO マウスを交配する事により、4つの形質をすべて保持するヒト抗体産生マウスが作製され、このマウスに抗原を免疫することで、抗原特異的なヒト抗体を産生するハイ

ブリドーマを作製することができる⁷⁾。今後は、この完全ヒト抗体作製法を用いて作製された、安全で効果の高い抗体医薬が開発されるであろう。

以上の技術により、投与抗体に対する抗体産生の問題をほぼ解決し、現在、抗体医薬開発は次の段階へと進んでいる。巨大分子である抗体は血中から組織への移行は極めて遅い。そこで組織移行を早めるため、ファージディスプレイ等の方法で作製された ScFv, Fab, F(ab')₂等の抗体の一部を用いた低分子抗体医薬の開発が進められている(図1)。また、抗体 Fc 部分の N 型糖鎖からフコースを除去すると ADCC 活性(抗体依存性細胞傷害活性)が動物レベルで100倍上昇すること^{8,9)}を利用して、少量で効果の高い抗体が開発され、低コストで効率よく作用を示す抗体医薬を生産する工夫がなされてきている。

現在の代表的な抗体医薬

関節リウマチにおいて劇的な効果を発揮したのは抗体医薬である。従来の薬では、関節の炎症を抑える、若しくは関節の破壊を遅らせるのが精一杯であった。しかし、関節リウ

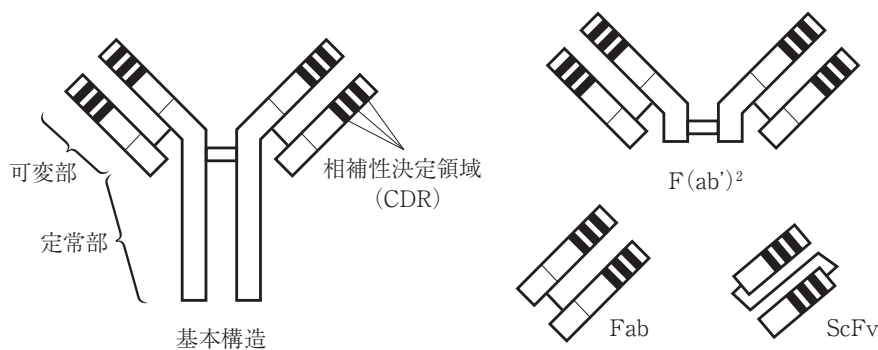


図1 抗体の構造

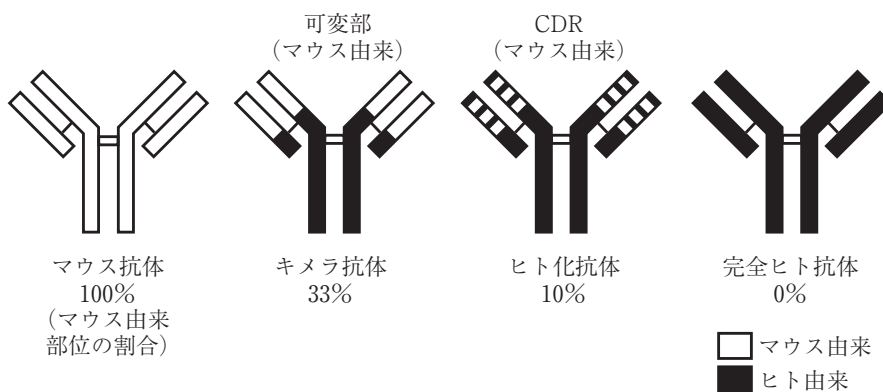


図2 マウス抗体から完全ヒト抗体へ

マチ誘導因子である TNF- α に対する抗体¹⁰⁾や、同じく誘導因子である IL-6 のレセプターに対する抗体¹¹⁾は関節リウマチの進行を抑えるだけでなく寛解状態にまでかなり短い期間で治療することができる上、治療が終ると薬を飲み続けなくて良いという、正に夢の治療薬である。これは、抗体の高い特異性と親和性に加え、疾患の原因となる標的を発見した成果であり、今後、他の疾患においても、原因となる標的物質の検索と、特異的、高親和性の抗体を作製することができれば、今まで治療不可能であった疾患においても治療を可能にするという可能性を示してくれた。

もう一つは、抗腫瘍薬である。HER2 レセプターは乳がん患者の20～30%に過剰発現し、腫瘍細胞の増殖に関与するレセプターである。この HER2 レセプターに対する抗体は、HER2 シグナルをブロックするだけでなく、ADCC 活性により、腫瘍細胞を特異的に破壊する¹²⁾。また B 細胞表面にある CD20 に対する抗体はガン化した B 細胞に結合すると腫瘍細胞を破壊することが知られており、細胞性非ホジキンリンパ腫に使用されている¹³⁾。更に、腫瘍細胞に伸びる栄養血管の形成を抑制し腫瘍を死滅させる抗 VEGF 抗体も抗体医薬である¹⁴⁾。これら抗腫瘍抗体医薬は抗リウマチ抗体医薬に比べて劇的な効果はないが、従来の抗がん剤と比べて極めて副作用が少なく、患者の QOL を保ったまま治療を行えるという大きなメリットがある。

おわりに

現在、世界では約500種類の抗体医薬が研究されているが、そのうち約80%が抗腫瘍薬である。これは、標的に選択的に作用する抗体の性質が、腫瘍細胞のみを選択的に破壊する事に適しているためであると考え

られるが、今後は、新たな標的タンパク質の発見により抗腫瘍薬以外の様々な疾患を治療する抗体医薬も開発されることが予想される。我々の研究室でも、抗体医薬開発のための研究を行っており、なかでも、非ヒストン性核タンパク質で、炎症時には細胞外に分泌される特徴的なタンパク質 HMGB1 に対する抗体はラット虚血再還流モデルにおいて劇的な脳梗塞部位縮小効果を挙げており、脳梗塞治療薬としての抗 HMGB1 抗体の開発が進められている¹⁵⁾。このように、難治性疾患の治療に抗体は高い治療効果を発揮しつつあり、将来、抗体医薬の研究開発が益々活発に行われ、様々な疾患に効く画期的な抗体医薬が開発されることが期待される。

文 献

- 1) Köhler G, Milstein C : Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* (1975) 256, 495-497.
- 2) Okada Y, Tadokoro J : The distribution of cell fusion capacity among several cell strains or cells caused by HVJ. *Exp Cell Res* (1963) 32, 417-430.
- 3) Morrison SL, Johnson MJ, Herzenberg LA, Oi VT : Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1984) 81, 6851-6855.
- 4) Roguska MA, Pedersen JT, Keddy CA, Henry AH, Searle SJ, Lambert JM, Goldmacher VS, Blättler WA, Rees AR, Guild BC : Humanization of murine monoclonal antibodies through variable domain resurfacing. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1994) 91, 969-973.
- 5) Winter G, Griffiths AD, Hawkins RE, Hoogenboom HR : Making antibodies by phage display technology. *Annu Rev Immunol* (1994) 12, 433-455.
- 6) Tomizuka K, Yoshida H, Uejima H, Kugoh H, Sato K, Ohguma A,

Hayasaka M, Hanaoka K, Oshimura M, Ishida I : Functional expression and germline transmission of a human chromosome fragment in chimaeric mice. *Nat Genet* (1997) 16, 133-143.

- 7) 石田 功 : ヒト抗体作製の最新技術. *実験医学* (2002) 20, 846-851.
- 8) Shields RL, Lai J, Keck R, O'Connell LY, Hong K, Meng YG, Weikert SH, Presta LG : Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves binding to human Fc γ RIII and antibody-dependent cellular toxicity. *J Biol Chem* (2002) 277, 26733-26740.
- 9) Shinkawa T, Nakamura K, Yamane N, Shoji-Hosaka E, Kanda Y, Sakurada M, Uchida K, Anazawa H, Satoh M, Yamasaki M, Hanai N, Shitara K : The absence of fucose but not the presence of galactose or bisecting N-acetylglucosamine of human IgG1 complex-type oligosaccharides shows the critical role of enhancing antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J Biol Chem* (2003) 278, 3466-3473.
- 10) Feldmann M, Maini SR : Role of cytokines in rheumatoid arthritis: an education in pathophysiology and therapeutics. *Immunol Rev* (2008) 223, 7-19.
- 11) Nishimoto N, Kishimoto T : Humanized antihuman IL-6 receptor antibody, tocilizumab. *Handb Exp Pharmacol* (2008) 181, 151-160.
- 12) Shepard HM, Lewis GD, Sarup JC, Fendly BM, Maneval D, Mordenti J, Figari I, Kotts CE, Palladino MA Jr, Ullrich A, Slamon D : Monoclonal antibody therapy of human cancer : taking the HER2 protooncogene to the clinic. *J Clin Immunol* (1991) 11, 117-127.
- 13) Boye J, Elter T, Engert A : An overview of the current clinical use of the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab. *Ann Oncol* (2003) 14, 520-535.
- 14) Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W : Bevacizumab (Avastin), a humanized

- anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun* (2005) 333, 328-335.
- 15) Liu K, Mori S, Takahashi HK, Tomono Y, Wake H, Kanke T, Sato Y, Hiraga N, Adachi N, Yoshino T, Nishibori M : Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody ameliorates brain infarction induced by transient ischemia in rats. *FASEB J* (2007) 21, 3904-3916.