

論文の内容の要旨

論文題目 Fc 改変による抗体医薬品の高機能化

氏名 味元 風太

1. 序章

抗体医薬品は新たな種類の医薬品として注目されており、現在までに 30 以上の抗体医薬品が承認され、医療現場で用いられている。しかし、天然に存在する抗体は必ずしも医薬品として用いるのに適当な性質、十分な効果を有していない。現在も数多くの抗体医薬品が研究、開発されているが、従来の抗体以上に医薬品として優れた効果をもたらすために、高機能化された抗体を作製する技術が望まれている。

現在、数多くの抗体医薬品が癌の治療を目的として開発されており、それらの中には抗体依存的細胞傷害活性 (ADCC 活性) や共刺激分子などに対するアゴニスト活性を利用した抗体が含まれている。これらの活性には抗体の受容体の 1 つである Fcγ 受容体 (FcγR) との相互作用が重要であることが報告されている。そのため、FcγR との相互作用を最適化することで、FcγR を介した抗体の機能を強化する Fc 改変技術を開発することは抗体医薬の癌治療への更なる応用を進めるのに効果的であると考えられる。従来の Fc 改変技術には、親和性の向上の程度が十分でない、特異性が十分でない、抗体の物理化学的な安定性が損なわれる等、医薬品として適用する上での課題が報告されており、更なる改善が期待されていた。このような背景に基づき、本研究では抗体の FcγR との相互作用領域である Fc 領域を改変することによって、既存の Fc 改変技術の課題を克服し、FcγR との相互作用を最適化する Fc 改変技術の開発を目指した。

FcγR は FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIb、FcγRIIIa から構成される受容体ファミリーであり、活性型 (FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIIa) と抑制型 (FcγRIIb) とに大別される (図 1)。FcγR の中でも、NK 細胞に発現する FcγRIIIa が ADCC 活性に重要であること、FcγRIIb は抗体産生のフィードバック制御や、抗体のアゴニスト活性に重要な役割を果たすことが報告されている。本論文は ADCC 活性の増強を目的に活性型 FcγR に対する結合を増強するための Fc 改変技術の開発を目指した 1) 非対称 Fc 改変技術を用いた FcγRIIIa 結合を選択的に増強した ADCC 活性増強 Fc 改変体の創製、その結合向上のメカニズムの解明を目指した 2) 複数の FcγR に対する結合を増強した非対称 Fc 改変抗体の創製と結晶構造解析、および抗体のアゴニスト活性等の増強を目的に FcγRIIb に対する結合を増強するための技術の開発を目指した 3) FcγRIIb に対して選択的に結合増強した改変抗体の創製、から構成される。

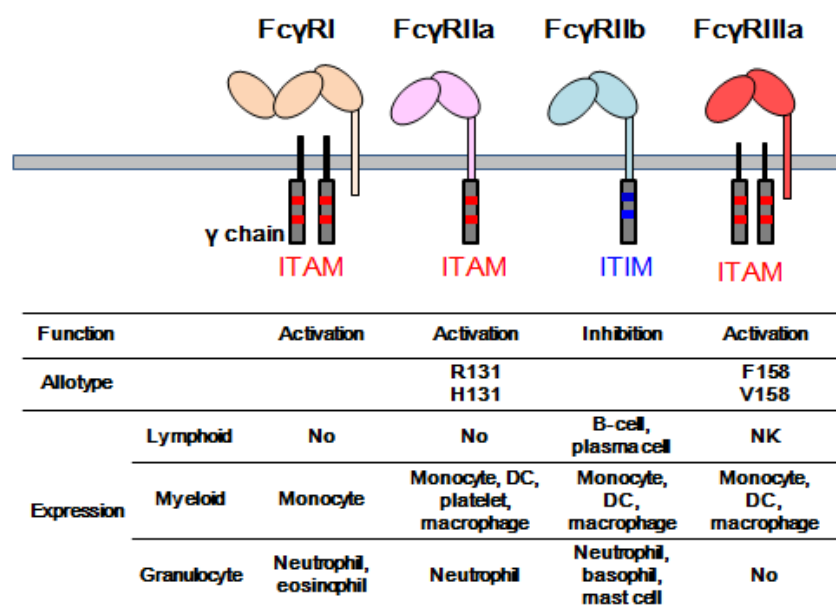


図1 FcγR ファミリーの概要

2. 本論

1) 非対称 Fc 改変技術を用いた FcγRIIIa 結合を選択的に増強した ADCC 活性増強 Fc 改変体の創製

抗体が ADCC 活性を発揮するためには、NK 細胞上の FcγRIIIa と相互作用する必要がある。ADCC 活性の増強を目的に FcγRIIIa に対する affinity を向上させる技術として、アミノ酸変異導入によるタンパク質改変技術や Fc 領域の N 型糖鎖のアフコシル化による糖鎖改変技術を用いた技術がこれまでに開発されている。しかし、従来の技術には、FcγRIIIa に対する結合が十分に増強されていない、抑制型 FcγR に対する結合と比較して活性型 FcγR に対する結合が十分に選択的でない、抗体の物理化学的な安定性が損なわれる等の課題が残されていた。本研究ではこれらの課題を克服し、より優れた抗体医薬品を創製することを目指した。

抗体の Fc 領域は 2 つの H 鎖から構成されるホモダイマーであるが、X 線結晶構造解析から Fc 領域を構成する各 H 鎖はそれぞれ異なる相互作用面を利用して、Fc 領域全体としては FcγR を非対称に認識していることが明らかにされている。従来の Fc 改変技術ではこの非対称な相互作用を対称的に最適化していたが、Fc と FcγR の相互作用が非対称であることを考慮すると、Fc 領域を非対称的に改変することによって相互作用を最適化した方が、より精緻に FcγR との相互作用を最適化することが可能であり、より優れた Fc 改変体の作製が可能ではないかと考えられた。本研究ではこの点に着目し、非対称 Fc 改変技術を用いることで、従来技術の課題を克服したより優れた Fc 改変体を創製することを目指した。

この非対称 Fc 改変技術を用いた結果、この技術を適用することで Fc と FcγR の相互作用をより精緻に最適化することが可能であり、抑制型の FcγRIIb に対する結合を増強することなく、これまでに報告された対称 Fc 改変体と比較して両 FcγRIIIa の遺伝子型に対して最も高い affinity を有し、かつ高い ADCC 活性を有する Fc 改変体を作製することが可能であることを示した。それに加えて、非対称 Fc 改変技術を用いることで、CH2 ドメインの T_M を低下する変異の利用を最小限に抑えることが可能になり、より安定な改変体を創製可能であることも示した。これらの結果から、非対称 Fc 改変技術は抗体のエフェクター機能を最大化するプラットフォーム技術として利用できると考えられた。

2) 複数の FcγR に対する結合を増強した非対称 Fc 改変抗体の創製と結晶構造解析

1)では非対称 Fc 改変技術を用いることで、従来技術と比較して抗体の物理化学的な安定性を著しく損なうことなく、FcγRIIIa に対して選択的に結合を増強し、かつ ADCC 活性を増強した Fc 改変体を作製可能であることを示した。しかし、この非対称 Fc 改変技術を用いることで、どのような FcγR 結合活性を有する Fc 改変体を作製することが可能であるかは十分に明らかではない。それに加えて、非対称に改変された Fc 改変体の FcγR 認識メカニズムを分子レベルで解明することが本技術の更なる応用に重要であると考えられた。このような背景に基づき、本研究では新たな FcγR 結合活性を有する非対称 Fc 改変体の創製とその X 線結晶構造解析における相互作用メカニズムの解明を目的とした。

本研究では、非対称 Fc 改変技術を用いることで、FcγRIIIa に対する結合を増強すると同時に、過去に報告された FcγRIIa 結合増強 Fc 改変抗体と比較して、同程度に FcγRIIa に対する結合を増強した新たな非対称 Fc 改変抗体を作製した。この非対称 Fc 改変体はアフコシル化抗体と同等の ADCC 活性を示した。

理論上、非対称 Fc 改変抗体は 2 通りの方向で FcγR と相互作用することが考えられるが、この非対称 Fc 改変体と FcγRIIIa の複合体の X 線結晶構造解析を実施した結果、そのうちの一方のみで相互作用する Fc 改変体と FcγRIIIa との結晶構造が観察された。この結果からは、非対称 Fc 改変体は Fc と FcγR の 2 通りの方向の相互作用のうち、一方のみを選択的に増強していると考えられた。さらに、この非対称 Fc 改変体の CH2 ドメインと FcγRIIIa の各相互作用界面を詳細に解析すると、非対称的に導入された変異が各相互作用界面を独立して最適化することで、より精緻にその相互作用を制御していることが示された。

これらの結果から、非対称 Fc 改変技術を用いることで、各相互作用界面を独立して最適化することが可能になり、多様な FcγR 結合プロファイルを有する Fc 改変体をより精度高く創製することが可能になると考えられた。

3) FcγRIIb に対して選択的に結合増強した改変抗体の創製

FcγRIIb は抗体のアゴニスト活性や抗体産生のフィードバック制御に重要な役割を担うことが報告されている。このような FcγRIIb の特徴的な機能を活用することを目的に、これまでに FcγRIIb に対する結合を増強した Fc 改変技術が開発されている。しかし、この Fc 改変体は FcγRIIb に対する結合を増強する一方で、同時に FcγRIIb に最も相同性の高い活性型 FcγR である FcγRIIa の遺伝子型の 1 つ、FcγRIIa の R 型に対しても結合を増強しており、FcγRIIb に対する選択性が十分ではないという課題がある。VEGF および CD154 に対する抗体が血小板上の FcγRIIa を介して血小板の活性化および凝集を誘導し、血栓塞栓症のリスクを上昇させることが報告されている。このことから、FcγRIIa に対する結合が増強した抗体は FcγRIIa の架橋を介して血小板を活性化、凝集させ、血栓形成につながるリスクを上昇させることが懸念される。この課題を克服した FcγRIIb に対して選択的に結合を増強した Fc 改変体を作製することができれば、高機能な抗体医薬品として応用することが可能である。本研究では網羅的な変異の探索を通じて、活性型 FcγR に対する結合を増強することなく、FcγRIIb に対してのみ選択的に結合を増強する改変体を創製することを目的とした。

網羅的な変異探索の結果、FcγRIIb と FcγRIIa の R 型を厳密に区別し、FcγRIIb に対する結合を特異的に増強する特徴的な変異、P238D を同定した。また、P238D 改変体の X 線結晶構造解析から P238D 変異が Fc と FcγRIIb の相互作用界面を大きくずらしていることを見出した。この構造情報を利用して、更に改変体の探索を進め、最終的には天然型 IgG1 と比較して FcγRIIb に対して 200 倍結合が増強した改変体を作製した。これに加えて、本研究での検討から、FcγRIIa に対する affinity が増強した抗体は、血小板の活性化および凝集を誘導する可能性が高くなっていることが確認され、医薬品への応用には懸念があることが示唆された。一方で、私たちが作製した改変体は血小板の活性化および凝集を誘導しないことが確認された。また、血中動態や保存安定性については、この改変体は天然型 IgG1 の優れた性質を維持していることが確認された。CD137 に対するアゴニスト抗体を使った評価からは、本研究で作製した FcγRIIb に対する結合を増強する技術を適用することで抗体のアゴニスト活性が増強されることが示された。

3. 結論

本論文では抗体の高機能化技術のうち、特に抗体と FcγR との相互作用を最適化する技術に着目して、従来の Fc 改変技術の課題を克服し、活性型 FcγR および抑制型 FcγR との相互作用をそれぞれ最適化する Fc 改変技術を開発することを目指した。本論文の Fc 改変技術を用いることで、FcγR に対する親和性の向上の程度が十分でない、特異性が十分でない、抗体の物理化学的な安定性が損なわれる等の、従来の Fc 改変技術の課題を克服できることを示した。これらの Fc 改変技術を用いることで、より高機能な抗体医薬品の創製に貢献可能であると考えられた。