

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名:高機能分子「スーパー抗体酵素」の自動合成装置と大量合成
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者 宇田泰三(大分大学 工学部 客員教授)

主たる共同研究者

Srini Kaveri (INSERM Professor & Director)

### 3. 研究実施概要

研究代表者らは、抗体から軽鎖と重鎖を分離し、セリン、ヒスチジン、アスパラギン酸の触媒三ツ組残基を有する軽鎖に注目し、これが疾病を起こす抗原を特異的に分解することを発見し、「スーパー抗体酵素(Antigenase)」と名付けた。CREST 研究領域「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」(平成13年12月~平成19年3月)ではマウス型「スーパー抗体酵素」の基礎的研究を行い、効率的作製法、生化学的性質、生理活性作用などを明かにした。続いて、本CRESTでは、スーパー抗体酵素をヒトへ投与可能にするため、ヒト型「スーパー抗体酵素」の開発とその意義の解明に取り組んだ。この結果、近年、その高い機能性に多くの注目を集めるようになり、「スーパー抗体酵素」の実用化への期待が急速に高まってきた。そこで、本プロジェクトでは、「スーパー抗体酵素」を本格的に実用化し、ヒトに投与するため、これまでのようにマウスに免疫してから作製するのではなく、新しい考え方や手法を取り入れて「ヒト型」を開発することを大目標として取り組むと共に、生体内での生理学的意義についても研究を行った。

宇田グループ:

ヒト型のアミノ酸配列を持つ「スーパー抗体酵素」作製の戦略は、成人のワクチン接種者やインフルエンザ罹患者などから提供された白血球を使ってヒト型抗体軽鎖遺伝子を取得し、これをライブラリー化して、遺伝子をタンパク質として発現、回収、精製し、抗狂犬病ウイルス活性、抗インフルエンザウイルス活性および抗がん活性を網羅的に解析する手法を採った。その結果として、有効な「スーパー抗体酵素」クローンを取得する事ができ、予想以上に本戦略は功を奏したと言える。

狂犬病ウイルスは感染すると致死率が100%という危険なウイルスであり、今でも、世界では年間5-6万人が死亡している。狂犬病ウイルスワクチン接種者から採取した抗体軽鎖遺伝子には *in vitro* は勿論 *in vivo* 試験に於いても、狂犬病ウイルスの感染を顕著に抑制する#18「スーパー抗体酵素」など数クローンを得ることに成功した。また、毎年流行するインフルエンザウイルスに対しても、マウスへの経鼻投与で見事に感染を抑制するヒト型「スーパー抗体酵素」を数種類を取得する事に成功した。しかも、興味深い事に、H1型およびH3型を同時に抑制できるこれまでの抗体では為し得なかった高機能「スーパー抗体酵素」を取得できた。

また、中間評価以降の2年間をかけて抗ガン活性を有する「スーパー抗体酵素」が存在するか、また、存在するとしたらどの程度の確率で存在するのか詳細に探索したところ、驚くことに、抗体軽鎖ライブラリーの10%以上に何らかの抗がん活性を有する「スーパー抗体酵素」が存在することが判明した。この結果は重要であり、「スーパー抗体酵素」は日常的に「出来たて」のがん細胞を破壊して、健康維持に大きな役割を果たしているという、可能性を示唆している。抗がん作用を示す「スーパー抗体酵素」にはシスプラチン以上に効果があり、かつ正常細胞にはほとんど作用しないクローンも見出されており、日本独自の新型医薬品開発に向けて大きく前進した。

本チームが見出した「スーパー抗体酵素」の生化学的・免疫学的性能には驚きを隠し得ない。これまでの完全抗体や一般的な酵素には、かつて見出されていない性能を発揮している。完全抗体は重鎖と軽鎖が強く結合していることで高度に抗原を認識しているが、この両者を切り離し、化学結合という束縛を解くと、軽鎖は軽鎖で、重鎖は重鎖で、抗体になる前の状態が現出し、軽鎖特有の化学的・生化学的性質を示すようになると思われる。即ち、束縛を解かれ、自由になることで軽鎖本来の独特の能力が引き出されたものと思われる。生物界に於ける束縛からの解放は、iPS細胞の例を挙げるまでもなく非常に重要である事が本研究でも証明できたと考えられる。

Kaveri グループ:

敗血症やWaldenström マクログロブリン血症患者などの自己免疫患者からの血清からIgGやIgM

の抗体を分離し、その酵素活性を検討した。患者血清では約 10%が Factor VIII を分解した。こうした自己免疫疾患患者のなかには Factor VIII を分解する抗体酵素が自然に産生されており、この場合にはより病状を悪化させる方向に作用している。抗体酵素阻害剤を開発すれば新しい薬が開発可能であるので、現在、実用化研究の提案を行っている。

以上の効率的作製法や生化学的・生理学的意義の解明、そして新薬創製へとつなげる興味ある多くの結果が得られた。

#### 4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果（論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む）

抗体の軽鎖フラグメントに酵素活性が存在するという独自の発見をもとに、その完全ヒト型ライブラリーを確立し、大量合成システムを樹立した後、様々な疾患への有用性を明らかにしつつ実用化に持っていくことを目的に研究を進め、狂犬病やインフルエンザウィルスの感染抑制や抗がん活性を明らかにした。さらに安全性試験でも問題ないという結果を得ており、当初の目標は達成している。ヒト型スーパー抗体酵素の開発と自動合成装置による大量合成を目的としているが、一部、当初の目標から除外した部分（合成装置の開発）もあるが、抗体酵素を取り出す技術の確立、安全性の確立など、むしろ本質的な抗体酵素の研究に集中することで大きな成果を得ることが出来たと考えられる。

また銅イオンの共存が抗がん活性を高めることを発見し、軽鎖フラグメントと銅との複合体が活性体であることを明らかにしている。これは物質特許につながる可能性があり、実用化への大事な布石となると考えられる。抗体の分子構造を基にした抗体酵素の取り出し技術が本研究で確立したことにより、今後は健常者からの抗体酵素を取り出す手法が確立出来れば更なる発展が期待される。

比較的小規模な研究チームでありながら十分な発表が行われている。

- ① 原著論文（国内 2 件、海外 26 件）、その他の著作物・総説、書籍 9 件
- ② 学会招待講演（国内会議 15 件、国際会議 4 件）
- ③ 学会口頭発表（国内会議 80 件、国際会議 19 件）、ポスター発表（国内会議 32 件、国際会議 14 件）
- ④ 国内特許出願（10 件）、海外特許出願（1 件）
- ⑤ 受賞 1 件、新聞報道等 18 件

#### 4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

抗体酵素という新概念を始めて提案した数年前は必ずしも学会からの確かな評価を受けていたとは言えなかったが、この 5 年間の CREST 研究のなかで進めた完全ヒト型抗体酵素の有用性を明らかにしていく過程で国内外への発信を続け、広く高い評価を受けるに至っている。抗体の軽鎖にある酵素をスーパー抗体酵素として取り出す技術をほぼ確立しており、この成果は世界に類例がなく（米国の Paul 教授が唯一の競争相手である。）、極めてユニークで学問的にも重要な意義を持ち、医療の面で非常に大きなインパクトを持っている。特に最近、抗がん作用の非常に高いスーパー抗体酵素を見いだしており、医療分野への適用に向けて、今後さらに大きな成果が期待出来る。一方、世界に類例がなく、ユニークな研究成果であるだけに、企業がまだその可能性を十分理解していない面があり、今後は企業との共同研究を進めて実用化研究に力を注いでもらいたい。

#### 4-3. 総合的評価

軽鎖に存在する触媒三つ組み残基の優れた抗体酵素機能の発見に基づき、前クレスト研究でのマウス型での基礎研究で確立した手法に加え、本 CREST では「ヒト型」の「スーパー抗体酵素」開発に的を絞り、実用化直前にまで達したと言える。その過程では、ヒトボランティアからの抗体軽鎖遺伝子をライブラリー化し、数百種類のタンパク質を発見させ、高純度に大量に精製し、それからクローンの精製は、当初の 0.1mg から現在は 50~100mg/月にまで向上させる粘り強く且つ丹念な作業が本研究者の強いリーダーシップの元で絶え間なく続けられた。そして得られたクローンの活性が網羅的に *in vitro*、*in vivo* の両方で調べられ、有望なクローンが見出され、狂犬病やインフルエンザウィルス、マウスを用いた抑制効果と安全性が確認され、最近では *in vitro* ではあるがクローンによってはシスプラチンを越えるがん細胞傷害性が見出されたことは高く評価できる。そして、この 5 年間の CREST 研究のなかで進めたヒト型抗体酵素の有用性を明らかにしていく過程で国内外への発信を絶えず続け、広く高い評価を受けるに至っている。その結果、抗体酵素の新学術領域の先駆者

として国内外を問わず他グループを大きくリードし、完全に先頭を走っていることは高く評価したい。

残念ながらまだ企業との共同研究による応用実用化への動きは小さいが、CREST 研究で成果を上げ、高い評価を受けたことから、今後は GMP 準拠の「スーパー抗体酵素」を作製できる機関が名乗りを上げ、できるだけ早く実用化に向けて、臨床試験の実施を切望する。しかしながら、この課題は容易に実現するものでもないことは周知であり、CREST 研究としてはこのようなユニークな研究成果はすぐに応用研究の成果を評価対象とせず、今後につなげる工夫を研究者と共に協力して探して行く努力をしてもらいたい。

最後に、本研究の発端である軽鎖を分離して「スーパー抗体酵素」を見出したことに対して本チームが抗体の分子進化と免疫機構、免疫系の進化の解明に挑戦しており、まだ未研究の軽鎖の他のサブグループ、及び手付かずの重鎖に関して更に研究を発展させ、「Antigenase world」の解明の暁には、人類にとり大きな恩恵が得られることが期待され、一層の努力を願う次第である。そのためには、本分野に参入を希望する研究者を募り、新学術分野を是非創成して頂きたい。