

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 健康・福祉のためのナノバイオ材料およびバイオ素子としての「スーパー抗体酵素」の創製

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名

研究代表者

宇田 泰三 ((公) 県立広島大学生命環境学部 教授)

主たる共同研究者

松浦 欽司 (花田医院 院長、附属医学研究所 所長)

西園 晃 ((国) 大分大学医学部医学科 教授 (平成17年4月～))

3. 研究内容及び成果：

3-1. 研究課題全体

酵素活性を持つ抗体の存在は知られていたが、その活性は弱く、興味を示す研究者は少なかった。研究代表者は、その活性の本質を見極めるべく研究を開始し、本研究領域に採択されてからの進展には目覚ましいものがある。ブレイクスルーとなったのは、スーパー抗体酵素の酵素活性の中心であるアミノ酸三つ組残基(Asp1-Ser27a-His93)が germline に組み込まれていることを見いだしたことである。さらに、酵素活性が抗体の一部を切り出すことによって、押さえ込まれていた活性を回復し(仮説)、天然酵素に近い活性を示すものを創り出せることを示している。これを Antigenase と命名し、学界でも認められてきている。この研究は、新しい分野であったため、その成果がなかなか認められなかったが、代表者がこの分野を研究している数少ない海外の研究者との交流を深めて、積極的に成果を公開していったことにより、徐々に知られるようになった。

ヘリコバクター・ピロリや、HIV(エイズウイルス)のタンパクを分解する Antigenase の取得などにより、医薬用途への展開の可能性を示すことにも成功している。まだ *in vitro* の段階のものが多いが、一部動物実験も開始しており、これまでの研究成果からすると今後の発展を大いに期待できるものである。代表者は、医療の専門家ではないため、ある程度研究が進んだ段階で専門家である西園教授をチームに迎え、研究の進展を図っている。

Antigenase 利用上の利点としては、タンパク質とは異なり糖鎖の結合が必要ではないため、比較的合成が容易であろうと推測されるうえ、ヒト型の Antigenase が遺伝子組み換えで合成できる可能性も高く、大量生産に向いているのではないかとと思われる点があげられる。実用的な酵素活性を示すものはまだ一部でしかない点や、生体内での安定性、体内動態、酵素活性以外の生理作用など、まだ詳細を詰めなければならない課題は多いが、本質の解明により医薬用途面のみならず抗体分野での研究にも大きく貢献出来る可能性のある研究といえる。

3-2. グループ毎

1) 宇田グループ (西園グループを含む)

当初の研究は、マウスの抗体系を用いて行われた。研究期間の前半は、マウスの系での技術確立に費やされている。後半に至って、ヒトの免疫系の研究に入り、加速度的に成果を上げてきたものである。

Antigenase の作成の手順を ①標的タンパク質の決定、②標的抗原の免疫、③抗原特異的抗体産生細胞の取得、④抗体遺伝子配列の解析と germline の決定、⑤触媒三つ組残基を(あるいは特定の germline)を持つ抗体軽鎖を分離精製、⑥活性試験、と確立して、多くの Antigenase が作成可能にな

り、この分子の特徴を明らかにすることができた。Antigenase は、共通するアミノ酸三つ組残基様構造を持つこと、それらの構造が germline にコードされていることを、マウスを用いて明らかにした。また、その配列が germline の一部の系列に集中していること、触媒三つ組残基様構造のうち最も多く存在するものが、Asp1,Ser27a,His93 よりなる構造であり、この構造が一部の例外を除き抗体軽鎖に集中していることも明らかにしている。また、その活性の動力学的な解析から、コンフォメーション変化が起こっていると思われる初期に反応の誘導期があり、その後活性が安定することも明らかにしている。これらの仮説については、今後の検証が必要であらうし、代表者も課題として提起している。

具体的な標的タンパク質として以下のようなものを対象とした。

(1)CCR5 のAntigenase

HIV(エイズウイルス)の感染経路のなかで、被感染細胞にあつて外皮タンパクと共にHIV ウィルスと結合して感染を引き起こすレセプターで、破壊されても被感染細胞に影響を与えないとされているケモカインレセプター CCR5 の第2細胞外領域を分解する Antigenase の作成に成功し、N 末端領域を分解する Antigenase の取得にも目処を付けている。これらの特徴は、その標的特異性から一般の酵素にみられる自己分解性がなく、抗原をほぼ完全に分解してしまうところにあり、抗体からの誘導体であることもあつて、血清中での安定性が確保されていることを Bovine Serum で確認している。酵素活性も、誘導期を過ぎるとトリプシンとほぼ同等の酵素活性を示すものを得ており、今後の検討次第では実用化に耐えうるものとなる可能性がある。

(2)*Helicobacter pylori* urease に対する Antigenase

Helicobacter pylori は、それ自身が持つ urease の作用によって強酸性の胃壁での生存が可能となっている。その urease を分解することにより、*Helicobacter pylori* を駆除しようとするアイディアの下に、urease の活性サイトが存在する β -subunit を選択的に破壊する Antigenase の取得に成功しており、動物実験の準備段階に入っている。

(3)インフルエンザウイルスに対する Antigenase

インフルエンザウイルスは、その表面にHA(ヘマグルチニン)、NA(ノイラミニダーゼ)の2種のタンパクを持っており、これが感染と増殖に必須とされている。これらは多くの亜種が存在しているが、共通する保存領域が存在することも知られている。代表者らは、HAの保存領域をターゲットとする Antigenase を取得し、ウイルスに対する活性を確認している。

(4)自己免疫疾患、アレルギーに対する Antigenase

これらの原因であるといわれているTNF- α 、IgEに対する Antigenase を取得して、TNF- α や、IgE に対して抗原特異的な分解活性があることが確認されている。

非常に興味深い成果が得られているが、実用化に向けては、従来にないタイプのものであるため、十分な薬効を示すものを作るのみでなく、安全性のデータ蓄積が非常に重要な要素となるものと思われる。どのような体制を組んで研究を進めるかが今後の課題と思われる。

2) 松浦グループ

このグループでは、Bence Jones Protein (BJP:ヒト型抗体軽鎖)の基礎及び応用の研究を行っている。種々の病態の多発性骨髄腫患者の尿から精製した BJP には、腎細胞に傷害性を持つものと持たないものがあり、重傷腎障害を合併する患者から得た BJP が腎細胞に対して傷害性を示すことから、BJP が腎合併症をもたらす可能性を示唆していることを見いだした。

抗体活性を示す BJP の癌培養細胞に対する傷害性を調べ、肺癌細胞(A549)が萎縮していること

が認められ、正常細胞には影響を与えていないことが認められた。このことは、Antigenase が癌治療に使える可能性を示すものである。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

論文 (原著)		口頭 (ポスター)		講演		その他 (著作など)		特許出願	
国際	国内	国際	国内	国際	国内	国際	国内	国際	国内
22	1	32	89	3	8	1	10	2	19

独創的、革新的な研究であったため、著名な学術雑誌にはなかなか受け入れてもらえず、専門誌への投稿が主体になっているが、積極的に成果を公開すると共に、着実に特許化を進めている。この分野においては、その量・質共に群を抜いているものと推定され(公開前の特許の状況が不明)、今後の展開に有用になるものと思われる。マウスでの基本原理の研究から始まって、ヒトの抗体酵素の研究に進み、Pylori、インフルエンザウイルス、HIVなどのタンパク質を分解する抗体酵素の開発にまで進んだ。5年間の研究で、抗体酵素のタンパク質分解活性の機構解明から応用までに進んだことは、当初の計画を十分に達成しており高く評価したい。

この分野の研究が行われているのは、日、米、仏、露のみであり、世界の研究者との連携も良好である。宇田代表は、日－米のミーティングから始まり、日－仏、日－米－露の国際ワークショップを広島で主催し、本研究の終盤においては世界のリーダーとして認められて来た。宇田代表が提唱した酵素活性を持つ「スーパー抗体酵素」の Antigenase という命名は、学界において次第に認められて来ている。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

Antigenase は、抗原タンパク質に特異的に結合し抗原タンパク質を分解するという、従来の免疫学と酵素学の間とでもいう新しい分野の研究であり、国際的な認知度も低く殆ど未知の分野であったが、その独創性と可能性に注目して採択された課題であったため、どのような成果が出るか注目されたが、5年間で目覚ましい成果をあげた。

マウスをモデルとして、Antigenase の活性の本質がアミノ酸三つ組残基に有ることの解明、そしてその製法、評価方法などを確立してヒト型 Antigenase の研究に移っている。マウス型 Antigenase では、現在注目されている HIV、Pylori、インフルエンザ、TNF- α 、ヒトIgE 等に活性な Antigenase の作成に成功している。また、ヒト型AntigenaseであるBJP(ベンス・ジョーンズ・プロテイン)が、腫瘍傷害性を示すことの発見の意味は非常に大きく、Antigenase が癌治療にも使える可能性を示したものである。

これまでに得られた Antigenase が、全て実用的な活性を示すとはいえないが、一部は実用範囲の活性を示すことが明らかとなっている。このように社会的要請が非常に高い分野でその可能性を提示した研究であり、インパクトは高い。まだ改良の余地が残されており、今後の発展が期待される。

このチームの研究成果は、当領域の戦略目標に合致しているだけでなく、この分野の世界のリーダーとして、新しい分野を切り拓いて来たことに重要な意義があり、高く評価したい。ただし、基礎的な研究がまだ途上であり、この段階で CREST の研究が終了してしまうことが非常に残念な思いが残る。

4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

- 抗体酵素および抗体工学に関する日仏ワークショップ(H16.9:広島)の開催
- 抗体酵素に関する日米露ワークショップ(H18.9:広島)の開催

- 当研究開始当初は、宇田研究室の助手であった一三三氏が、「さきがけ」に採択され、助教授に就任、さらに大分大学の教授として転出することになった。
- チーム参加当初は講師（大分大学医学部・感染分子病態制御部門）であった伊波氏が、助教授に昇任した。
- 一三三恵美：日本大学婦人協会・守田研究技術奨励賞受賞