



Title	自己免疫疾患治療の最適化を目指した分子標的医薬の開発とその評価
Author(s)	野村, 鉄也
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/57965
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【14】	
氏 名	野村鉄也
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第23757号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	自己免疫疾患治療の最適化を目指した分子標的医薬の開発とその評価
論文審査委員	(主査) 教授 中川 晋作 (副査) 教授 山元 弘 教授 藤尾 慈 教授 堤 康央

論文内容の要旨

近年のライフサイエンス研究の進展に伴い、各種疾患の原因・病態形成の鍵となる生体分子の同定が進み、これら疾患関連分子の選択的制御を目指した治療薬開発が盛んに行われてきた。しかし現在においても、悪性関節リウマチや多発性硬化症をはじめとする130種類もの疾患について、その発症のメカニズムは未だ不明であり、有効な治療法も確立されていない難治性疾患として残されている。

難治性疾患の多くは自己免疫性の疾患として位置づけられ、その病態の発症や悪化には往々にして炎症性サイ

トカインが関与していることが明らかとなりつつある。サイトカインは生体の免疫機能制御の根幹を成していることから、その量的・質的・時空間的異常は、種々の自己免疫性の病態を発症・悪化させるものと考えられる。そのため、サイトカインバランスを是正することで病態の改善および寛解を達成しようとする抗サイトカイン療法が台頭し、従来の低分子医薬品では困難であった画期的な治療効果を発揮している。これら抗サイトカイン医薬は、特定の疾患関連分子を標的とした、所謂、分子標的治療薬（DDS医薬品）とも言うことができ、例えば関節リウマチはTNF阻害薬の適応により、根治も可能な疾患へと変遷しつつある。しかし、サイトカインは一般に生体内で複数のレセプターを介して多様な生理作用を発揮することから、その作用を一様に制御することは、重篤な副作用を招いてしまう。事実、既存の抗サイトカイン医薬を用いた治療では、その副作用が原因となり、臨床適用に至っていない疾患も数多く残されている。

そこで本研究において私（学位申請者）は、TNFの過剰産生が認められる難治性疾患の一つである多発性硬化症（MS）を対象として、その克服を目指した新たな抗TNF治療戦略への道を探索した。

MSは、種々の中枢神経系脱髄疾患の中で、最も患者数の多い（全世界で300万人）難治性疾患であり、四肢の麻痺に伴う運動機能低下・言語障害などを起こす重篤な疾患として知られている。またMSは、患者の多くが症状の再発と寛解を繰り返す予後不良の疾患であり、詳細な疾患発症・悪化の原因は解明されていない。現在、MSの病態形成において、TNFが炎症反応の発現に関わる主要な分子の一つとして認識されているものの、既存のTNF阻害薬は、逆に脱髄・炎症症状の悪化を招き、使用が禁忌に指定されている。一方で近年、2種類のレセプターのうちTNFR1が疾患の発症や悪化に、TNFR2が疾患の寛解に関与することが報告されてきた。即ち、TNFR1の作用を選択的に抑えることができれば、これまでの医薬品では不可能であったMSに対して治療効果を示す、有効な新規治療薬の開発に繋がると期待される。そこで本研究では、TNFR1を介した作用を選択的に阻害可能な分子標的医薬（アミノ酸置換体）を開発し、新規MS治療薬としての可能性を検討した。

我々はこれまでに、ファージ表面提示法を駆使することで、TNFR1選択的に結合し、活性を示さないTNFR1指向性アンタゴニスト（R1antTNF）を創出してきた。そこで、R1antTNFの有用性評価にあたり、MSの動物モデル（EAE）に対する発症予防効果を検討した。なお評価するにあたり、R1antTNFの体内安定性を高める目的で独自のN末端部位特異的PEGylationを駆使して作製したPEG-R1antTNFを用いた。

EAE（MS）の発症予防効果を検討した結果、PEG-R1antTNF投与群では、クリニカルスコア並びに発症率が顕著に抑えられていた。またMSの発症メカニズムの一端を明らかにするために、主要な免疫反応の場と考えられる二次リンパ組織や病巣である脊髄に及ぼす作用を検討した。その結果、二次リンパ節において、疾患の発症・惹起に関わるヘルパーT細胞サブセットTh17（IL-17産生細胞）およびTh1（IFN- γ 産生細胞）の割合が、PEG-R1antTNF投与群で減少していた。さらに脊髄では、PEG-R1antTNFの投与によって、炎症性細胞の浸潤および脱髄症状が抑制されたうえに、Th1、Th17細胞を含むヘルパーT細胞の移行も抑えられていた。以上PEG-R1antTNFは、抗原特異的なTh1やTh17細胞の増殖および病巣への浸潤を抑制し、脱髄症状の悪化を抑えることを明らかとした。このようにTNFR1を介した作用を選択的に阻害可能なPEG-R1antTNFは、既存のTNF阻害薬では適応不可能であったMSに対する新たな治療薬となる可能性をはじめて提示した。

また、MSに対して抗炎症効果を発揮したTNFR1指向性アンタゴニストの安全性と有効性の更なる向上を目的に、ファージ表面提示法を駆使し、TNFR1への選択性を一層向上させた新規TNFR1指向性アンタゴニストの開発を試みた。TNFは宿主の生体防御機能に必須であるため、既存のTNF阻害薬による両TNFレセプターシグナルの遮断は、感染症のリスクや発がん率の上昇を招くことが懸念されている。従って、TNFR1に対する選択性の向上したアンタゴニストの創出は、有効性の増強のみならず副作用の低減にもつながると期待される。以上の観点か

ら私は、まず機能性人工蛋白質創出技術として用いてきたファージ表面提示法と遺伝子シャッフリング法を融合することで、効率のかつ簡便に特定機能の増強した構造変異体を創出可能とする独自技術を開発した。さらに本手法をR1antTNFに適用し、TNFR1に対する選択性の向上した新規アンタゴニストの創製を試みた。R1antTNFの配列中の6箇所のレセプター結合領域を網羅的に置換して作製したアミノ酸改変ライブラリを用いて、TNFR1に対する結合親和性を利用したパンニングを行うことで、TNFR1指向性アンタゴニスト候補クローンを20種類同定した。中でも、クローンN7は、R1antTNFと比較してTNFR1に対する作用選択性が飛躍的に増強していることが判明した。このように、独自の機能性人工蛋白質創出技術を駆使することで、活性と結合性の両面で、TNFR1選択性の向上した新規アンタゴニストを創製することに成功し、現在、そのin vivoでの有用性・安全性を検証している。

以上のように私は、難治性疾患の克服に向けて、レセプター指向性というDDS機能（医薬価値）を付与した新規分子標的医薬の開発と、それに資する独自の創業基盤の確立に成功した。今後、本研究で確立した基盤技術をもとにして、様々な難治性疾患に対する画期的な治療法、革新的医薬品の開発が一層進展することを期待し、またこれに貢献したいと願っている。

論文審査の結果の要旨

難治性疾患の多くは自己免疫性の疾患として位置づけられ、その病態の発症や悪化には往々にして炎症性サイトカインが関与していることが明らかとなりつつある。サイトカインは生体の免疫機能制御の根幹を成していることから、その量的・質的・時空間的異常は、種々の自己免疫性の病態を発症・悪化させるものと考えられる。そのため、サイトカインバランスを是正することで病態の改善および寛解を達成しようとする抗サイトカイン療法が台頭し、従来の低分子医薬品では困難であった画期的な治療効果を発揮している。これら抗サイトカイン医薬は、特定の疾患関連分子を標的とした、所謂、分子標的治療薬（DDS医薬品）とも言ことができ、例えば関節リウマチはTNF阻害薬の適応により、根治も可能な疾患へと変遷しつつある。しかし、サイトカインは一般に生体内で複数のレセプターを介して多様な生理作用を発揮することから、その作用を一様に制御することは、重篤な副作用を招いてしまう。事実、既存の抗サイトカイン医薬を用いた治療では、その副作用が原因となり、臨床適用に至っていない疾患も数多く残されている。そこで本研究では、TNFの過剰産生が認められる難治性疾患の一つである多発性硬化症を対象として、その克服を目指した新たな抗TNF治療戦略への道を探索し、以下の結論を得た。

1. 申請者が独自に創製したTNFR1指向性アンタゴニストが、既存のTNF阻害薬では治療が不可能であった多発性硬化症に対して発症予防効果を発揮しうることが、EAEマウスを用いて先駆けて示した。
2. TNFR1指向性アンタゴニストによるEAE抑制効果のメカニズムは、MOG抗原特異的なヘルパーT細胞の増殖抑制や神経組織への浸潤抑制によることを初めて明らかにした。
3. 医薬価値に優れた分子標的医薬を開発する技術として、ファージ表面提示法と遺伝子シャッフリング法を組み合わせた新規機能性人工蛋白質創出技術を確立した。
4. TNFR1指向性アンタゴニストのアミノ酸配列をもとに、独自のファージ表面提示法を適用することで、TNFR1結合性および作用の選択性が一層向上した改良型TNFR1アンタゴニストを創出することに先んじて成功した。

以上、難治性疾患の克服に向けて、レセプター指向性というDDS機能（医薬価値）を付与したサイトカイン医薬の開発と、それに資する独自の創業基盤の確立を試みた結果、既存のサイトカイン阻害薬のように、サイトカインの機能を一様に遮断するだけでは治療不可能であった難治性の自己免疫疾患に対して、レセプターサブタイプ選択的な蛋白質性アンタゴニストが新たな治療薬になる可能性を見出した。さらに、ファージ表面提示法による

アミノ酸同時改変技術が、蛋白質性アンタゴニストの更なる副作用低減など、医薬価値に優れた蛋白医薬品の創製技術として有用であることを提唱した。今後、申請者が確立した基盤情報・技術をもとにして、様々な難治性疾患に対する画期的な治療法、革新的医薬品の開発が一層進展すると期待されることから、博士(薬学)の学位を授与するにふさわしいものとする。