

## ヒト抗体を超迅速に作製する技術 ～ヒト ADLib システム～

### 1. 発表者：

瀬尾 秀宗（東京大学 大学院総合文化研究科 特任研究員）  
太田 邦史（東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 教授）  
中崎 有恒（株式会社カイオム・バイオサイエンス 技術研究所 所長）

### 2. 発表のポイント：

- ◆ヒト抗体を試験管内で簡便かつ迅速に作製する「ヒト ADLib システム」により高性能の機能性ヒト抗体が作製できることを実証しました。
- ◆この技術では、鳥類免疫系細胞に多数のヒトの抗体遺伝子を導入し、シャフリング（シャフルを起こさせること）を活性化させることでさまざまな種類の抗体の作製が可能です。この中から目的の標的に結合する抗体を簡単に単離することができます。
- ◆本技術により、従来技術では2～3ヶ月を要していた治療薬や診断薬の候補抗体の作製が、細胞の選別から免疫化学的スクリーニングまで最短で約10日と極めて迅速に実施可能です。また、簡単な操作を加えて、得られた抗体をより強く標的に結合できるように改良することにも成功しました。

### 3. 発表概要：

東京大学大学院総合文化研究科 瀬尾秀宗特任研究員と太田邦史教授らの研究グループは株式会社カイオム・バイオサイエンスが開発したヒト ADLib システム（試験管内でヒト抗体を迅速に作製・改良する技術）に関して、同社と共同で科学的検証と実用性評価を実施し、抗体創薬開発における同技術の有用性を立証しました。現在、抗体はその高い薬効と安全性から多くの疾患の治療薬として医療の大きな柱となっています。発表者らは、既に初期段階の研究として、鳥類免疫細胞における抗体遺伝子間シャフリングの高速化を利用した試験管内抗体作製技術「ADLib システム」を開発しています。本手法は、従来法とは一線を画す特長を備えています。ここで得られる抗体は鳥類由来の抗体であるため、ヒトに投与するためには「ヒト化」と呼ばれる作業が必要な点が課題でした。

株式会社カイオム・バイオサイエンスでは、この鳥類細胞の持つ抗体遺伝子をヒトの抗体遺伝子と入れ換え、ヒト抗体遺伝子間でシャフリングを起こさせることにも成功しました。この技術の確立によりさまざまなヒト抗体を産生する細胞集団を調製できるようになり、ここから標的に対して結合するヒト抗体を取得することが可能になりました。すなわち、本技術を用いれば、ヒト化を行う事なく試験管内で直接ヒト抗体を取得することが出来ます。このヒト抗体作製を実現する一連の技術を「ヒト ADLib システム」と命名して実用化しています。今回、このヒト ADLib システムを用いて、モデルとして抗がん剤の標的となるヒトのタンパク質に対する抗体を作製したところ、これらのタンパク質の機能を阻害する、即ち抗がん剤に必要とされる薬理活性を有する抗体が得られました。さらに、これらの抗体を産生する細胞中で再度抗体遺伝子を多様化し、そこから標的に対する結合力が強化された抗体を単離する「親和性向上」にも成功しました。これにより、当初得た抗体に比べ、阻害活性の大幅な向上が認められました。従来の親和性向上プロセスは非常に手間と時間がかかるものでしたが、本手法は簡単な一連の培養作業・選別作業を実施するだけで完了するのが大きな利点です。

ヒト ADLib システムにより抗体取得から親和性向上までを極めて迅速かつ簡便に実施できるようになり、抗体医薬開発の加速が期待されます。

本成果は、2020年5月26日に *Cellular & Molecular Immunology* (オンライン版) に掲載されました。

#### 4. 発表内容：

抗体は、私たちが感染症に罹患した時など異物が体外から侵入してきた際、これら異物に結合し、排除するために免疫系が作り出すタンパク質です。現在医薬品として注目を集めており、癌や自己免疫疾患、感染症などに対する治療用の抗体（抗体医薬）が多数開発されています。抗体は私たちの体で作るタンパク質であるため安全性が高く、加えて標的に対して特異的かつ強固に結合することから高い薬効を示すものが多いため、多くの抗体医薬が開発されています。

試験管内の抗体作製技術である ADLib (Autonomously Diversifying Library) システムは、鳥類免疫細胞である DT40 細胞を利用した抗体作製技術です。鳥類の抗体遺伝子は、機能的なものは一つしかありませんが、偽の抗体遺伝子が多数存在します。これら偽の遺伝子と機能的な抗体遺伝子との間で相同組換え（注1）という組換えが起き、偽の遺伝子がシャフリングされるような形で機能的遺伝子に上書きされます（図1）。これにより体内に侵入してきたさまざまな異物に対する多様な抗体を準備しています。ADLib システムは、このシャフリングを高速に起こさせることでライブラリ（さまざまな種類の抗体を産生する細胞集団：注2）を作製し、そこから標的を結合させた磁気ビーズ（鉄の微粒子）などを用いて迅速に目的の抗体を作製する技術です（図2）。ADLib システムは、1）迅速である（セレクションからスクリーニングまで最短10日程度で完了する）、2）独自の多様化メカニズムに基づいた抗体作製が可能、3）得られた抗体の標的に対する結合力の強化（親和性向上：注3）が容易、といった従来法を上回る特長を有しており、既に複数の抗体医薬候補が開発されています。しかしながらオリジナルの ADLib システムでは最初に得られる抗体は鳥類抗体でした。そのままヒトに投与するとヒトの体内で異物として認識され拒絶反応が出てしまうことから、抗体医薬として利用するためにはヒトの抗体に近づけて副作用を低減させる「ヒト化」という作業が必要でした。このヒト化作業は複雑で、またヒト化により抗体の活性が低下してしまうこともあります。このため、最初からヒト抗体が得られる ADLib システムの開発が待たれていました。

株式会社カイオム・バイオサイエンスでは、ゲノム配列の改変が容易という DT40 細胞の特長を生かし、DT40 細胞の抗体遺伝子を合成ゲノム的方法により人工的に設計したヒト抗体遺伝子に入れ換えた細胞（図3）を作製することで、ヒト抗体遺伝子間でシャフリングを起こさせてヒト抗体ライブラリを作製しました。発表者らの検証により、このライブラリから作製された VEGF（注4）や TNF $\alpha$ （注5）といった癌や自己免疫疾患に対する治療薬の標的となるタンパク質に対する抗体が、これらの標的に結合するだけでなく、一部の抗体にこれらの標的の持つ機能を阻害する活性がある（機能を阻害する活性は医薬品候補として必要な性質です）ことが確認されました。また、これら阻害活性を有する抗体を産生する細胞を再度培養し、ヒト抗体遺伝子をマイルドにシャフリングしたのち、より標的に対する結合力が強化された抗体を取得することに成功しました。中には100倍程度結合力が強化されている抗体もありました。さらに、これら結合力が強化した抗体は元の抗体と比較し、標的の機能を阻害する活性も大幅に増強されていました。これらの結果から、ヒト ADLib を用いた抗体作製と親和性向上が簡便に可能であることが証明されました。

本技術により、さまざまな疾患に対する抗体医薬品候補の作製と最適化を迅速化することが出来るようになるとともに、これまで抗体が取得しづらかった標的に対する抗体医薬の開発の実現が期待されます。

本研究は、株式会社カイオム・バイオサイエンス、NEDO、CREST 等の助成により支援されました。

本研究は、瀬尾特任研究員、太田教授が株式会社カイオム・バイオサイエンスとの共同研究として実施されました。

## 5. 発表雑誌：

雑誌名：*Cellular & Molecular Immunology* (オンライン版：2020年5月26日掲載)

論文タイトル："Streamlined human antibody generation and optimization by exploiting designed immunoglobulin loci in B cell line "

著者：Hidetaka Seo, Hitomi Masuda, Kenjiro Asagoshi, Tomoaki Uchiki, Shigehisa Kawata, Goh Sasaki, Takashi Yabuki, Shunsuke Miyai, Naoki Takahashi, Shu-ichi Hashimoto, Atsushi Sawada, Aki Takaiwa, Chika Koyama, Kanako Tamai, Kohei Kurosawa, Ke-Yi Lin, Kunihiro Ohta and Yukoh Nakazaki

DOI：10.1038/s41423-020-0440-9

Abstract URL：<https://www.nature.com/articles/s41423-020-0440-9>

## 6. 問い合わせ先：

東京大学 大学院総合文化研究科

特任研究員 瀬尾 秀宗 (せお ひでたか)

株式会社カイオム・バイオサイエンス

IR 担当

ウェブサイト：<https://www.chiome.co.jp/>

## 7. 用語解説：

(注1) 相同組換え

配列がよく似た遺伝子同士の間で起きる組換え。鳥類抗体遺伝子のみならず、DNAに損傷が入った際の修復や精子や卵子の形成の際などにも起きる、非常に重要な組換えです。

(注2) ライブラリ

多様な抗体を産生する細胞集団のこと。さまざまな書物を収めた図書館(ライブラリ)になぞらえてこのように呼びます。

(注3) 親和性向上

抗体が標的に結合する強さを増強させること。抗体の結合力を増強させることで、抗体医薬の副作用や投与量を低減させる効果があります。抗体医薬は製造コストが極めて高額であることが課題ですが、親和性向上による投与量の低減によりコストを抑制することにもつながります。

(注4) VEGF

VEGFは Vascular Endothelial Growth Factor (血管内皮細胞増殖因子) の略。血管新生に関わる因子。VEGFを標的とした抗体医薬の代表的なものとして、がんの治療用抗体であるアバスタチンがあります。

(注5) TNF $\alpha$

TNFは Tumor Necrosis Factor (腫瘍壊死因子) の略。炎症を介した生体防御に関与する因子として知られています。TNF $\alpha$ を標的とした抗体医薬の代表的なものとして、自己免疫疾患の治療薬であるレミケードがあります。

8. 添付資料：

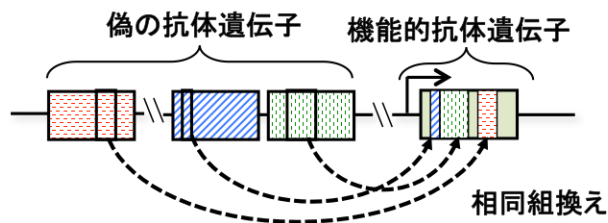


図1 鳥類抗体遺伝子の多様化

偽の抗体遺伝子がシャフリングされるような形で機能的抗体遺伝子に上書きされ、多様性が創出されます。

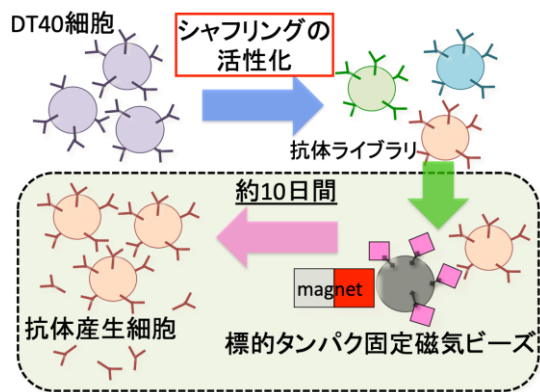


図2 ADLib システムの概要

DT40細胞の抗体遺伝子においてシャフリングを活性化させることでライブラリを構築し、ここから標的タンパク特異的な抗体を迅速に単離できます。

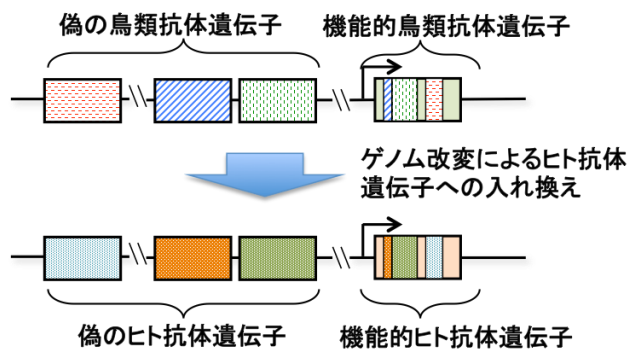


図3 DT40 抗体遺伝子のヒト抗体遺伝子への改変

DT40 細胞の機能的抗体遺伝子および偽の抗体遺伝子を、ヒトの遺伝子に変換しました。