

Study on stabilization of human IgG4 antibodies

浪崎, 博史

<https://doi.org/10.15017/2534401>

出版情報 : Kyushu University, 2019, 博士 (創薬科学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏名	浪崎 博史
論文名	ヒト IgG 抗体の安定化に関する研究 Study on stabilization of human IgG4 antibodies
論文調査委員	主査 九州大学大学院薬学府 教授 田中 嘉孝 副査 九州大学大学院薬学府 教授 山田 健一 副査 九州大学大学院薬学府 准教授 阿部 義人 副査 九州大学大学院薬学府 准教授 石井 祐次

論文審査の結果の要旨

今日まで、50以上のモノクローナル抗体が癌、慢性疾患、自己免疫疾患に対する治療薬として承認されている。2018年には米国または欧州において12の抗体医薬が承認され、現在、500を超えるモノクローナル抗体の臨床試験が進行中である。抗体医薬は、所望の機能的作用のためにサブクラスを選択する必要があるため、IgG1は、CDC活性、ADCC活性などのエフェクター機能によって標的細胞を除去させるために必要とされ、IgG2またはIgG4は、IgG1およびIgG3と比較して低い細胞傷害性のため、アンタゴニスト、アゴニストまたは中和作用が求められる抗体医薬のフォーマットとして適している。しかしながら、IgG4は、IgG1と比較して凝集体を形成しやすく、特に低pH条件下でその傾向があることが報告されている。抗体医薬は、精製の製造プロセスにおいて低いpHに曝されるため、低pH誘導性の凝集体形成抑制は解決すべき重要な研究課題の一つである。申請者は、IgG4における凝集体形成を抑制できる改変体を確立することを目的とし、本研究を行った。

安定化IgG4として知られているコアヒンジ領域の228番目のセリンをプロリンに置換した変異(IgG4_S228P)では、凝集体形成を抑制する効果は認められなかったが、Fc領域のCH3ドメインをIgG4からIgG1のアミノ酸に変換することで、低pH誘導性の凝集体形成を抑制することが明らかとなった。さらに、IgG4の409番目のアルギニンをリジンに置換した改変体(IgG4PE_R409K)において、IgG1と同等な凝集体形成の抑制効果が認められた。また、可変領域が異なる複数の抗体においてもIgG4PE_R409Kの凝集体形成抑制効果は認められ、特定の抗体クローンに特有な現象ではないことが示唆された。R409Kと同等な低pH誘導性の凝集体形成抑制効果を示すアミノ酸置換を見出せなかった。

CH3ドメインにおける、IgG1とIgG4で異なる6つのアミノ酸の箇所(355, 356, 358, 409, 419, 445番目)について、IgG4のFcの構造を用いて構造的な分析を行ったところ、CH3-CH3の相互作用面の位置にあるのは、409番目のアルギニンのみであることが示された。

熱安定性を検討するために、示差走査熱量測定法によりR409Kのアミノ酸置換によって、CH3のTm値が高くなることが示され、CH3ドメインの構造的変化による安定性の向上が寄与していると示唆された。

IgG4_S228Pはハーフ抗体の形成を抑制したが、IgG4_R409Kはハーフ抗体が確認された。さらに、IgG4におけるS228PおよびR409Kのアミノ酸置換の組み合わせは、in vitro および in vivo 試験において、Fab Arm-ExchangeをIgG1と同等に抑制することが示された。最後に、IgG4のR409Kのアミノ酸置換は、抗体の抗原またはヒトFc受容体への結合およびCDC活性に影響を及ぼさなかった。これらの結果は、IgG4PE_R409Kが、安定性をより改善した低エフェクター活性の抗体医薬のフォーマットの一つとなる可能性を示している。

本研究は、ヒトIgG4における低pH誘導性の凝集体抑制のためのタンパク質工学によるR409K変異の生物学

的重要性を実証した。さらに、IgG4PE R409K の抗原、FcR の結合性および CDC 活性を含む生物物理学的プロファイルは、現在の治療用抗体の低エフェクター機能のためのフォーマットである IgG4PE と類似していた。本研究結果は、抗体の安定化に関する新しい情報を提供し、より改善された安定性を有する治療用抗体の設計および工学のための新しい手がかりを提供している。

このような研究成果は、学術的新規性に加え新たな抗体医薬の開発にも有益な知見を与えるものであり、申請者は博士（創薬科学）の学位を取得するに相応しいと判断した。