

## ヒト、ウサギ、サメモノクローナル抗体の迅速作製と創薬への応用

富山大学大学院医学薬学研究部（医学）免疫学 助教

小澤 龍彦

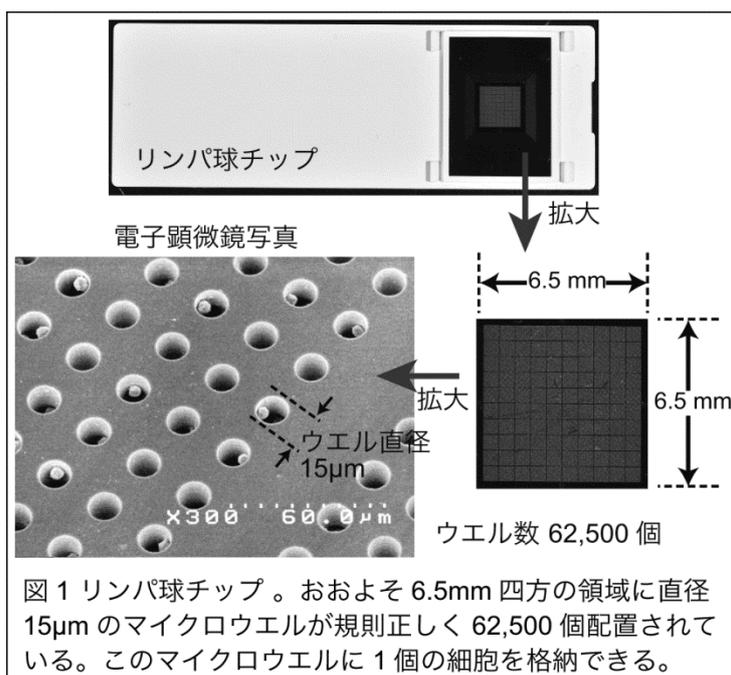
B細胞が産生する抗体は、生体の防御機構を担う免疫システムの重要なタンパク質である。そして、特異的なタンパク質と高い親和性で結合する性質を持ち、ウイルスなどの病原性微生物を排除する働きを持つ。このような性質や働きを利用して、様々な研究用、体外診断薬用、そして治療用の抗体が開発され、創薬への応用が進んでいる。このように抗体は、創薬への応用に期待が高まっているものの、目的の抗体を作り出すことは難しいのが現状である。その理由の1つとして、目的の抗原特異的な抗体を産生するB細胞をどのようにスクリーニングしてくるか、が挙げられる。生体内において、抗原特異的B細胞の頻度は、免疫を誘導しても0.1%~0.01%程度と極めて少数である。そのため、従来のハイブリドーマ法などを用いたモノクローナル抗体作製法では、1種類の抗体を得るためでも多大な時間、労力、コストが必要であった。

我々は、目的とする極めて低頻度の抗原特異的B細胞を、迅速かつ効率的に直接スクリーニングして回収し、そのB細胞より抗体遺伝子を得て、そして、得てきた抗体遺伝子を用いてリコンビナントモノクローナル抗体を作製することで、今まで必要だった多大な時間、労力、コストを大幅に削減し、抗体による創薬開発を加速できないかと考えた。

そのため我々は、スクリーニング法を開発するにあたり、B細胞が丁度1個入る大きさの穴が6万個以上並んでいて、その穴の中に格納したB細胞を単一細胞レベルで同定・回収できる「リンパ球チップ」を工学系のグループと共同で作製した(図1)。リンパ球チップを用いることで、今まで集団として解析していたB細胞を、単一細胞レベルで網羅的に解析することが可能となった。

次に、リンパ球チップに格納したB細胞より、迅速かつ効率的に抗原特異的な抗体産生B細胞を検出し、その細胞を回収して単一細胞RT-PCRにより抗体遺伝子を増幅させ、ヒトやウサギなどのリコンビナントモノクローナル抗体を最短1週間程度で作製する一連のシステム、ImmunoSpot Array Assay on a Chip (ISAAC)法を開発した。

我々はこのISAAC法を用いて、ウイルスに対して中和活性を持つヒト抗体、抗腫瘍効果を持つ



ヒト抗体、自己免疫疾患患者由来の自己抗体、リン酸化ペプチド特異的ウサギ抗体、Gタンパク質供役受容体(GPCR)に対するウサギ抗体など、今までに計25種類以上の抗原に対して計300種以上の抗体を作製した。これら抗体を用いて、ウイルス感染症の治療、がん免疫療法、自己免疫疾患発症メカニズムの解明、がんに関わるリン酸化シグナル伝達解析、GPCRを標的とした創薬開発などの研究を行い、創薬への応用を進めている。

近年、GPCR抗体をはじめ、様々な抗体を創薬に応用する研究が進んでいる。一方、創薬のターゲットとして有望なタンパク質のアミノ酸配列は、ヒトやマウス、ウサギなどの高等生物間で高度に保存されている。そのため、ヒトタンパク質をマウスやウサギなどに免疫しても、アミノ酸配列が類似しているために免疫寛容が働くことで目的抗体が誘導されず、その抗体作製が困難なことがあった。そこで我々は、抗体を産生する生物の中でヒトから進化的に最も遠いサメは、ヒトタンパク質との類似度が低いことを利用して、サメを用いて今まで作製できなかったヒトタンパク質抗体が得られるのではないかと考え、研究を進めている。モデル抗原を免疫したサメ脾臓のRNAよりサメ抗体遺伝子を得て、それを基にサメ抗体のライブラリーを作製し、スクリーニングを進めることで、複数種類のサメ抗体を得ることに成功した。現在これらの性状解析を進めるとともに、今まで作製が困難だった様々な抗体の取得を試みている。

このように我々は、ヒトやウサギなどのモノクローナル抗体が容易に得られるISAAC法と、今まで作製が困難だったヒトタンパク質に対する抗体の取得が期待できるサメ抗体の作製法を確立した。これら多彩な抗体作製技術を目的に応じて用いることで、様々な抗体が容易に得られることが見込まれる。そして作製した抗体は、基礎研究や創薬研究など幅広い応用が期待される。

## 略歴

### 学歴

- 1999年3月 富山大学工学部 卒業  
2001年3月 富山大学大学院理工学研究科 博士前期課程 修了  
2004年3月 富山大学大学院理工学研究科 博士後期課程 修了  
学位：博士（工学）

### 職歴

- 2004年4月 財団法人富山県新世紀産業機構 派遣研究員  
2006年4月 富山大学大学院医学薬学研究部（医学）助手  
2007年4月 富山大学大学院医学薬学研究部（医学）助教  
（学校教育法改正による職名変更）  
現在に至る

### 所属学会

日本分子生物学会、日本免疫学会

### 受賞歴

- 2014年5月 第31回とやま賞（学術研究部門）