

TNF- α 機能改変体の創製と難治性疾患治療薬開発の試み

角田 慎一

独立行政法人医薬基盤研究所 バイオ創薬プロジェクト
大阪大学大学院薬学研究科 医薬基盤科学分野

サイトカインは免疫応答制御の中心を担う分子であり、その過不足が往々にして疾患の病態に関わっている。中でも Tumor necrosis factor- α (TNF) は、様々な炎症病態に関わっていることから、自己免疫疾患のターゲット分子として研究開発が進められてきた。既に TNF 中和抗体が慢性関節リウマチ等の治療薬として臨床応用され、顕著な治療効果を発揮しているのは周知の通りである。しかし、これら抗 TNF 薬は炎症病態を改善する一方で、易感染性といった副作用が問題となっている。また脱髄症状の発症例がみられたことから、多発性硬化症等の患者への抗 TNF 薬の使用は禁忌となっている。最近の研究から、これら副作用の原因として、宿主の生体防御機構に重要な役割を担う TNF の 2 種類のレセプターサブタイプ (TNFR1 及び TNFR2) を介した作用を両方阻害すること、特に TNFR2 を介したシグナルの阻害による可能性が示唆されている。従って、TNF あるいは TNF レセプターを標的とした難治性疾患治療を最適化するためには、TNFR1 及び TNFR2 の機能と病態との連関を明らかにするとともに、それらの情報に基づき、TNF の有する特定機能のみを選択的に活性化／阻害できる次世代の TNF シグナル制御薬の開発が求められる。本観点から我々のグループでは、ファージ表面提示法を用いたタンパク質機能改変体創製技術により、レセプターサブタイプ特異的に、さらにアゴニストあるいはアンタゴニストとして作用しうる TNF 変異体を創製し、それらを新規バイオ医薬として応用することを試みている。

これまでに我々は、副作用を克服しうる次世代型抗 TNF 薬の開発を念頭に、TNFR2 を介する作用は阻害せず、TNFR1 の作用のみを阻害する TNFR1 指向性アンタゴニスト (デコイタンパク質) を、上記の機能性タンパク質変異体創製技術により作製した。すなわち TNFR1 との相互作用領域と考えられるアミノ酸残基 6 カ所を他のアミノ酸にランダム置換したヒト TNF 構造変異体を網羅的に発現するファージライブラリを構築し、その膨大なライブラリの中から TNFR1 に対する結合力を保持しつつ、TNFR2 には結合しない TNFR1 指向性 TNF 変異体を濃縮した。最終的に、TNF の TNFR1 を介した生物活性のみを選択的に阻害するアンタゴニスト TNF 変異体の取得に成功し、R1antTNF と名付けた。R1antTNF の有用性を検証するため、関節リウマチモデルマウスでの抗炎症効果を検討した結果、優れた抗炎症効果を発揮することが明らかとなった。さらに、既存の抗 TNF 薬とは異なり、ウイルス感染に対する防御反応を低下させなかったことから、R1antTNF が従来の副作用を克服しうる次世代型抗 TNF 薬になり得ることが示された。また、既存の抗 TNF 薬では病態悪化を伴う多発性硬化症に関しても、そのモデルである EAE マウスにおいて病態を悪化させることなく発症抑制作用を発揮したことから、多発性硬化症治療薬としての応用も期待される。

以上のように、タンパク質機能改変体創製技術、および、それにより得られるタンパク質構造変異体は、各種疾患の分子病態解明や難治性疾患等に対する新規バイオ医薬開発に資するものである。今後、本研究をもとに、我が国発の画期的医薬品開発に貢献していきたいと考えている。

参考文献

1. Shibata H., Tsunoda S. *et al.* Creation and X-ray structure analysis of the tumor necrosis factor receptor 1-selective mutant of a tumor necrosis factor- α antagonist. *J Biol Chem* 283: 998-1007 (2008).
2. Shibata H., Tsunoda S. *et al.* The treatment of established murine collagen-induced arthritis with a TNFR1-selective antagonistic mutant TNF. *Biomaterials* 30: 6638-6647 (2009).
3. Mukai Y., Tsunoda S. *et al.* Solution of the structure of the TNF-TNFR2 complex. *Science Signal* 3: ra83 (2010).
4. Nomura T., Tsunoda S. *et al.* Therapeutic effect of PEGylated TNFR1-selective antagonistic mutant TNF in experimental autoimmune encephalomyelitis mice. *J Controlled Release* 149: 8-14 (2011).