

学位論文の要旨

氏名

岸本 聡

学位論文題目

抗体部位特異的修飾技術による多様な抗体医薬開発

本論文では、高機能型の抗体医薬品を開発することを目標に、新規の抗体部位特異的修飾方法であるCCAP (Chemical conjugation by affinity peptide) 法を確立した。確立したCCAP法を用いて得られたコンジュゲート抗体の特性解析や機能解析を行い、従来の修飾方法との違いを比較することで、本手法の抗体修飾法としての有用性を明らかにした。実際の応用例として抗体薬物複合体ならびに、VHH抗体を修飾した二重特異性抗体を作製し、医薬品としての可能性を評価した。本論文は、5章からなり、以下各章の内容についてまとめた。

第1章は、研究背景として抗体医薬品の機能や抗体への分子修飾技術、医薬品として実際に応用されている分子修飾抗体の概要と、ファージディスプレイ技術を用いた抗体探索手法、ラクダ科動物であるアルパカ重鎖抗体由来のVHH抗体の概要を記載した。

第2章は、IgG抗体のFc領域に結合可能なペプチド (IgG結合ペプチド) の結晶構造解析に基づいてデザインされた抗体部位特異的修飾技術 (CCAP法) の開発と、その反応条件、修飾位置の検討を行った。その結果、CCAP法による抗体作製は、極めて定量的に高効率で進行し、また、短時間にて、IgG抗体のFc上の特定のアミノ酸部位に起こることが示された。

第3章は、CCAP法に調製した抗体コンジュゲートの特性を明らかにするため、CCAP法によってペプチド修飾した抗体の抗原ならびにFc受容体との結合能、結合親和性の解析を行った。その結果、CCAP法による分子修飾が抗原結合能に影響しないこと、FcγRとの結合を阻害しないことが明らかとなった。

第4章では、CCAP法の応用法として、抗体に抗がん剤を修飾した抗体薬物複合体、ならびに好中球表面受容体であるFcαR特異的VHH抗体を修飾した二重特異性抗体の作製とその機能評価を行った。CCAP法による抗体薬物複合体は、従来法で作製された抗体薬物複合体と同等にガン細胞に対する殺傷効果を有すること、また、FcαR特異的なVHH抗体を付加した抗体コンジュゲートは、その抗原結合能、FcαR結合能をほぼ完全に維持していたことが明らかになった。以上のことは、CCAP法は、高機能性抗体医薬品を創出する上で極めて優れた方法であることが分かった。

第5章は、CCAP法による抗体部位特異的修飾の有用性や、今後のさらなる展望についてまとめ、本論文を総括した。

Summary of Doctoral Dissertation

Title of Doctoral Dissertation:

Development of various antibody therapeutics by using site-specific antibody modification technology

Name: Kishimoto Satoshi

This thesis mainly comprises the establishment of site-specific modification technology of antibody named CCAP (Chemical conjugation by affinity peptide) method to develop highly functional antibody therapeutics. We examined the binding properties and function of the conjugates generated by CCAP method to elucidate the usefulness of CCAP method as a chemical conjugation, comparing the properties with conventional modification methods. In addition, antibody drug conjugate (ADC) and bispecific antibodies modified with VHH antibody were prepared by CCAP method and their potentials as a biotherapeutic were evaluated. This thesis is composed of five chapters and the contents for each chapter were summarized as following.

Chapter 1 described the research background, including the functions of antibody drugs, molecular modification technology of antibodies, antibody isolation design by phage display technology, and camelid VHH antibody derived from alpaca heavy chain antibody.

Chapter 2 describes the development of site-specific modification of antibody called CCAP method designed based on the crystal structure of IgG-Fc and IgG-binding peptides, and the investigation of the reaction conditions and the modification site in CCAP reaction. The results indicate that the CCAP reaction proceeded quantitatively and site-specifically on the specific residues on Fc region in a short time.

In Chapter 3, we analyzed the binding properties of the CCAP conjugates toward antigen and Fc receptor. As a result, it was found that the modification by CCAP method does not affect antigen binding and also does not inhibit Fc γ R binding.

In Chapter 4, as an application of CCAP method to generate antibody therapeutics, the ADC and bispecific antibody were prepared by CCAP method and their functions were evaluated. The results indicate the ADC prepared by CCAP method showed cytotoxic activity against tumor cells, which is comparable with the conventional antibody drug conjugate. Furthermore, the bispecific antibody between antigen-specific IgG and Fc α R-specific VHH antibody almost completely maintained both antigen and Fc α R binding. These observations suggest that CCAP method is an advantageous method to create highly functional antibody therapeutics.

Chapter 5 summarized the utilities of the CCAP method and discussed about the possibilities in use of CCAP method for medical and industrial applications.