

令和 3 年 4 月 27 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08002

研究課題名（和文）トランスジェニックマウス法による完全ヒト型生物学的製剤の薬理動態解析法の確立

研究課題名（英文）Development of new immunoassays for biologics generated by transgenic mice method

研究代表者

安藤 朗（Andoh, Akira）

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：90252395

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：完全ヒト型生物学的製剤の体内薬物動態を明らかにできる薬剤濃度、抗薬物濃度想定系を確立した。トランスジェニックマウス法による完全ヒト型生物学的製剤血中濃度と中和抗体血中濃度を指標とした完全ヒト型生物学的製剤の効果を最大限に引き出す炎症性腸疾患テラーメイド免疫療法のストラテジーを構築する基盤を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

完全ヒト型生物学的製剤の体内薬物動態を明らかにし、トランスジェニックマウス法による完全ヒト型生物学的製剤血中濃度と中和抗体血中濃度を指標とした完全ヒト型生物学的製剤の効果を最大限に引き出す炎症性腸疾患テラーメイド免疫療法のストラテジーを構築する基盤を確立した。

研究成果の概要（英文）：We developed new assays for serum ustekinumab trough and AUA levels. These assays might provide new insights into therapeutic drug monitoring-based management of Crohn's disease patients under ustekinumab therapy.

研究分野：内科学

キーワード：炎症性腸疾患

### 1. 研究開始当初の背景

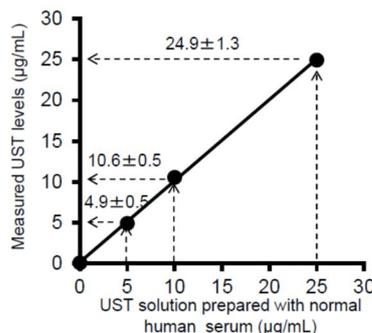
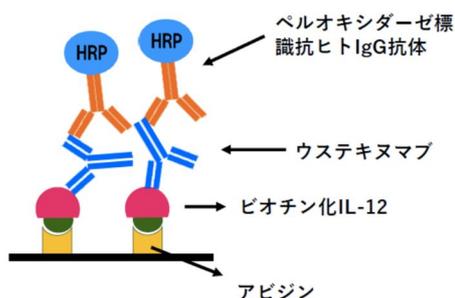
炎症性腸疾患の治療薬として、生物学的製剤が次々と医療の場に導入されその効果も実臨床家が実感できる現状となっている。そのような中で生物学的製剤の導入は、炎症性腸疾患 (IBD) の内科治療に革新的進歩をもたらした。さらに、抗体創製技術の進歩によりキメラ型抗体製剤からヒト型抗体製剤が主流となりつつある。ファージディスプレイ法によるヒト型製剤は相補性決定領域の人為的改変から弱い抗原性を持つが、トランスジェニックマウス法による製剤はさらに抗原性が低いとされる。ただ、薬剤抗原性の低下は、薬剤定量法による薬物動態解析の困難さにつながる。

### 2. 研究の目的

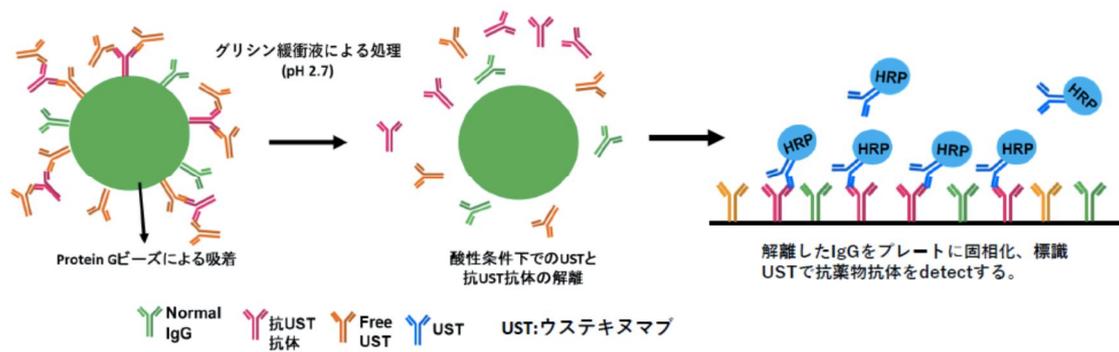
研究の目的は以下となる。(1)トランスジェニックマウス法による完全ヒト型生物学的製剤の血中濃度および中和抗体定量法を世界に先駆けて開発し、完全ヒト型生物学的製剤の体内薬物動態を明らかにする。(2)トランスジェニックマウス法による完全ヒト型生物学的製剤血中濃度と中和抗体血中濃度を指標とした完全ヒト型生物学的製剤の効果を最大限に引き出す炎症性腸疾患テラーメイド免疫療法のストラテジーを構築する。

### 3. 研究の方法

図左のごとく抗原 (TNF- $\alpha$  もしくは IL-12) をビオチン化し、プレート上のアビジンを通じてプレートに固相化した上で、ゼラチン、アルブミンで重厚にブロッキングするという画期的方法で非特異的 IgG の結合が完全に防げることを見いだした。ヒトの血清で調節した既知濃度 UST 規準液の濃度を、抗ヒト IgG 抗体を用いて測定したが、ほぼ正確に測定できることも確認している (図右)。



さらに、GOL や UST に対する中和抗体の測定法も未だ確立していない。単純には、固相化した薬剤たとえば UST で抗 UST 抗体 を捕らえ酵素標識した UST で detect するサンドイッチ ELISA 法が考えられるが、この方法では、血中に UST が存在すると抗 UST 抗体と UST が液相ですでに反応して抗 UST 抗体の UST 認識部位が残っていないため測定が不可能となる。患者の多くで血中に UST が存在しているため、このような患者では抗 UST 抗体の判定が困難となってしまふ。同様な問題点は GOL でも同様である。この抗薬物抗体測定法上の問題点により、効果減弱例に対する理論的裏付けを伴った対処法の確立が困難と考えられる。我々は、フリーの薬剤の存在下にも中和抗体を detect する方法の基礎検討について報告している (J. Gastroenterol 2012;47:136)。その方法の応用として、まず血中に存在する UST (もしくは GOL) と抗 UST (GOL) 抗体の免疫複合体を酸性条件下に解離し、UST (GOL) の認識部位がフリーとなった抗 UST (GOL) 抗体を直接プラスチックプレートに固相化して、標識した UST (GOL) で detect する方法を考案した (図 2)。



この方法はUST や GOL に限らず、すべてのヒト型生物学的製剤の血中濃度、中和抗体の検出に応用可能で、今後登場する新たな生物学製剤の薬物動態解析に大きく貢献するものと思われる。

#### 4 . 研究成果

この3年間に我々はトランスジェニック法で作成されたヒト IgG のウステキヌマブの血中濃度と抗薬物濃度の測定系を確立し報告した。また、ファージディスプレイ法にくらべ、抗薬物抗体の産生が明らかに低いことも見いだした。これらの結果から、完全ヒト型生物学的製剤の体内薬物動態を明らかにし、トランスジェニックマウス法による完全ヒト型生物学的製剤血中濃度と中和抗体血中濃度を指標とした完全ヒト型生物学的製剤の効果を最大限に引き出す炎症性腸疾患テラーメイド免疫療法のストラテジーを構築する基板を確立した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sugitani Y, Nishida A, Inatomi O, Ohno M, Imai T, Kawahara M, Kitamura K, Andoh A	4. 巻 55
2. 論文標題 Sodium absorption stimulator prostasin (PRSS8) has an anti-inflammatory effect via downregulation of TLR4 signaling in inflammatory bowel disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 408-417
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-019-01660-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morita Y, Imai T, Bamba S, Takahashi K, Inatomi O, Miyazaki T, Watanabe K, Nakamura S, Yoshida A, Endo Y, Ohmiya N, Tsujikawa T, Andoh A.	4. 巻 未定
2. 論文標題 Clinical relevance of innovative immunoassays for serum ustekinumab and anti-ustekinumab antibody levels in Crohn's disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Gastroenterol Hepatol.	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jgh.14962.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tatsumi G, Kawahara M, Yamamoto R, Hishizawa M, Kito K, Suzuki T, Takaori-Kondo A, Andoh A	4. 巻 34
2. 論文標題 LSD1-mediated repression of GF11 super-enhancer plays an essential role in erythroleukemia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Leukemia.	6. 最初と最後の頁 746-758
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41375-019-0614-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------