

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19493

研究課題名（和文）治療応用可能なバイスペシフィックナノボディの開発

研究課題名（英文）Development of bi-specific nanobody capable of therapeutic application

研究代表者

堀内 久徳（Horiuchi, Hisanori）

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：90291426

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：ラクダ科の免疫グロブリンの可変領域はナノボディ（NB）と呼ばれ、1本鎖であり分子生物学的に特異的NBを作成しうる。抗LDL NBと抗HMGB1NBを持つバイスペシフィック（BS）NBを投与すれば、HMGB1はLDL受容体を介して細胞内で速やかに分解されよう。また抗FIXa NBと抗FX NBを持つBS-NBは血友病治療薬となる。我々は、NBライブラリーから発現クローニングによって目的の蛋白質などに対する特異的NBをクローニングする方法を構築・改良しLDL、HMGB1、第IX因子、抗第X因子に対するNBの作製を進めてきた。研究を進め、これらのBS-NBの個体レベルにおける有効性を検証する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナノボディは分子生物学的手法によって作成できるので、モノクローナル抗体の作成に比べて、作成は比較的容易であり、今後大きな発展が期待できよう。多くの医薬品が作成されると期待される。個体レベルで有効なバイスペシフィックナノボディを作成できれば、抗炎症や、血用病などを含め、多くの医療分野に革新的な進歩をもたらさだろう。

研究成果の概要（英文）：Immunoglobulin of camel family is a single strand peptide. Its variable region is called 'nanobody'. LDL is endocytosed via LDL receptor and degraded in lysosomes. Administration of a bi-specific nanobody that contains anti-LDL nanobody and anti HMGB-1, an alarmin, nanobody would induce HMGB-1 degradation through LDL receptor inside cells. It would become a novel type of treatment of a cytokine storm. On the other hand, hemophilia A is caused by genetic defect of a coagulation factor VIII (FVIII). The function of FVIII is a scaffold for FIXa and FX. Thus, bispecific nanobody for FIXa and FX would become a drug for hemophilia. In the study, we have established and improved a method to make a specific nanobody from a nanobody library. Then, we have tried to make nanobodies against proteins described above. We will further advance the research and will evaluate the effect of these bispecific nanobodies in a body.

研究分野：生化学、内科

キーワード：ナノボディ 血友病 低比重リポ蛋白質

1. 研究開始当初の背景

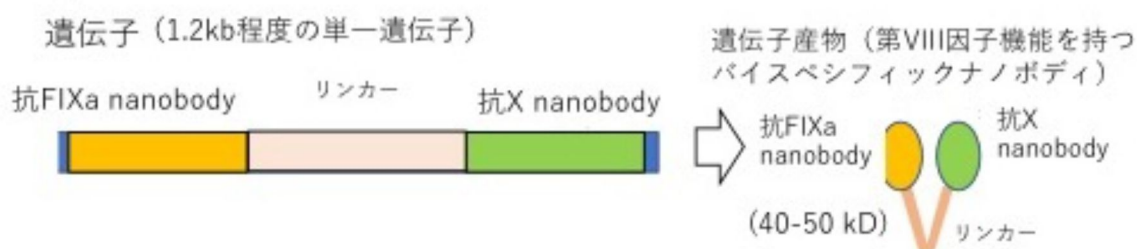
ラクダ科動物の免疫グロブリンは重鎖のみよりなる一本鎖であり、その抗原認識部位は約 15k Da と小型で nanobody と呼ばれる。止血に重要な von Willebrand 因子に対する nanobody が後天性血栓性血小板減少性紫斑病の治療薬として最近欧米で薬事承認されたように医療応用が拡大しつつある。

2. 研究の目的

本研究では以下の 2 つを端緒として、臨床的に有用なバイスペシフィック nanobody を開発することを目的とした。

(1) 炎症性サイトカイン除去バイスペシフィック nanobody の開発 本研究では、低比重リポ蛋白質 (LDL) を免疫沈降できる抗 LDL nanobody と炎症性サイトカイン (DAMPs の一つである HMGB1) nanobody を持つバイスペシフィック nanobody を作成し、最終的にはマウス炎症モデルでの有効性を証明しようとした。

(2) 生体反応の活性化を誘導するバイスペシフィック nanobody を用いた遺伝子治療法の開発 血友病 A は第 VIII 因子 (FVIII) の遺伝的欠損による止血異常症である。FVIII の機能は、FIXa と FX を結合し、FIXa 活性を高めることにあり、FIXa と FX に結合し FVIII 様の機能を持つ IgG 型のバイスペシフィック抗体薬が開発され臨床に革新をもたらした。そこで、抗 FIXa nanobody と抗 FX nanobody を持ち、FVIII 活性を持つバイスペシフィック nanobody の作成を目指した (図)。



3. 研究の方法

本研究は、まず、バイスペシフィックナノボディの作成し、その後作成したバイスペシフィックナノボディの機能評価するプロセスを計画した。

4. 研究成果

Nanobody ライブラリーから FACS を用いた発現クローニングの作成法を研究室で構築し得、その改良に努めた。発現スクリーニングではスクリーニングの過程で非常に大量の蛍光標

識した抗原を大量に要する。まず、HMGB1、FIXa、FX、LDLの大量確保や、スクリーニングに適した蛍光標識法に改良を重ねた。また、スクリーニングの初期に磁気ビーズを用いるなど、スクリーニング効率を上げる方策を試み、作成を行った。研究を継続し、ハイスペシフィックnanobodyを完成させ、培養細胞および疾患モデルマウス等にて、機能を検証していく計画である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------