

ADCC 発光レポーターバイオアッセイを用いた 抗 TNF 抗体医薬品および抗ウイルスワクチンの評価

抗体医薬に代表されるバイオ医薬品の研究開発が加速しています。このセクションでは、抗体医薬の研究・評価試験のうち従来法の問題を新たな技術で克服したアッセイや、従来法では対応できなかった新しいニーズに応えるアッセイをシリーズでご紹介していきます。第三回目は ADCC Reporter Bioassay の利用例として、抗 TNF α 抗体医薬品の評価用 mTNF α CHO-K1 Target Cells、およびマウス ADCC Reporter Bioassay を用いた抗ウイルスワクチン評価についてのお話です。

mTNF α CHO-K1 Target Cells

抗 TNF α 抗体医薬は第一世代の Remicade (Infliximab, EU では 2015 年 2 月に期限切れ、アメリカでは 2018 年 9 月)、Humira (Adalimumab, アメリカで 2016 年 12 月、EU で 2018 年) がここ数年で相次いで特許切れになり、現在バイオシミラー開発競争が激しく繰り広げられています。Remicade のバイオシミラーは一足先に日本国内でも承認され、すでに上市されています (インフリキシマブ BS 点滴静注用、日本化薬)。

これら抗 TNF α 抗体の作用機序は、可溶性 TNF α (sTNF α) や膜結合型 TNF α (mTNF α) への結合等により TNF α の生理活性を中和することとされていますが、Remicade や Humira においては他にも mTNF α に結合することにより TNF α 産生細胞にアポトーシスを誘導する作用や、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) や補体依存性細胞傷害 (CDC) を引き起こす作用も報告されており、これらは特にクローン病や潰瘍性大腸炎における薬効の一つと考えられています。このためバイオシミラーの承認申請時にも mTNF α を介した活性の有無を調べるよう求められていますが、mTNF α 発現細胞株は入手が難しいのが問題点でした。プロメガではこのニーズに応えて mTNF α 安定発現 CHO-K1 細胞を開発し、カスタム品での供給を開始しました。

通常 TNF α は膜結合型として発現し、細胞表面でプロテアーゼ (TNF-converting enzyme, TACE) に切断されて sTNF α が放出されます。そのためプロメガの mTNF 安定発現株では、TNF α を膜上にとどめるため TACE が切断できない mTNF α 変異体を使用しました。この細胞株は ADCC Reporter Bioassay のターゲット細胞として使用できます。図 1 に細胞およびアッセイの模式図と、Remicade (Infliximab) および Humira (Adalimumab) でのアッセイ結果を示しています。プロトコルも確定しており、これまで困難だった mTNF α を介する ADCC 活性の測定も抗体さえあればすぐに結果を出せるようになりました。

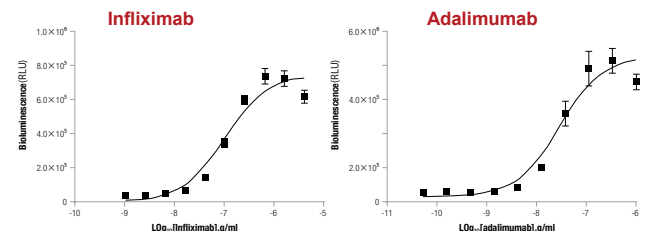
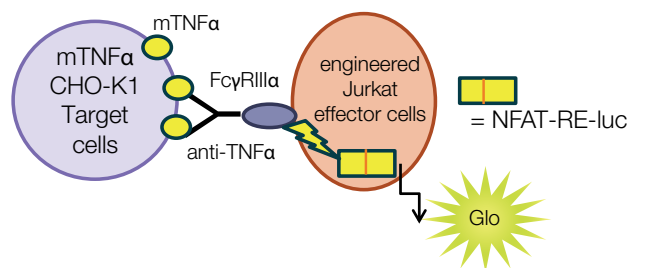


図 1. mTNF α Target cells でのアッセイ模式図および Infliximab, Adalimumab のデータ

Murine Fc γ RIV ADCC Reporter Bioassay

インフルエンザのシーズンが近づいてきました。そろそろワクチン接種する方もいらっしゃるのではないのでしょうか？現在のワクチン接種で誘導される抗ウイルス抗体は主に中和抗体ですが、中和抗体の弱点はウイルス抗原がわずかに変異するだけで反応しなくなるため、ほぼ毎年新たにワクチン接種が必要なことです。

実は ADCC 活性を調べたいというニーズは、抗体医薬品だけでなくワクチン開発の分野でも高まりつつあります。ワクチン接種によって産生さ

れた抗体の中には ADCC 活性を示すものも含まれており、1970 年代後半にはすでにこのような抗インフルエンザウイルス抗体の存在が報告されていました (① *Infect. Immunol.* 1978 **20**: 640–645. ② *J. Immunol.* 1977 **119**: 2100–2106. ③ *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1979 **76**: 4622–4626)。驚くべきことに、ADCC 活性を示す抗体はインフルエンザウイルスの亜型に関係なく A 型ウイルス全般と反応し、これに感染した細胞を除去できると報告されています (*J. Immunol.* 2014; **193** (2) :469–475)。このため ADCC 活性を持つ抗体を優先的に誘導できる新しいタイプのワクチン開発に焦点があてられています。

しかし、このようなワクチンをどうやって見つけたいいのでしょうか？ワクチン開発にはマウスモデルが使われますが、マウスは血液量が少ないため従来の ADCC アッセイのエフェクター細胞である初代 NK 細胞 (PBMC など) を必要量採取することができません。ここで活躍するのが、プロメガが開発したマウス ADCC Reporter Bioassay です。ワクチン候補で免疫したマウスの血清を採取し、マウス ADCC Reporter Bioassay で ADCC 活性の強さを調べれば、効率的に ADCC 活性を持つ抗体を産生できるワクチン候補を簡単にスクリーニングできます。マウス ADCC Reporter Bioassay はヒト ADCC Reporter Bioassay の Effector cells を改変し、抗体と結合する Fc γ 受容体をマウスの Fc γ RIV に置き換えたアッセイです (図 2)。ヒト用キットと同じ簡便なプロトコルでありながら、①マウスの *in vivo* と *in vitro* の結果をシームレスに解析できる、②ヒトとマウスでの効果と同じアッセイプラットフォームで比較ができる、という大きなメリットがあります。

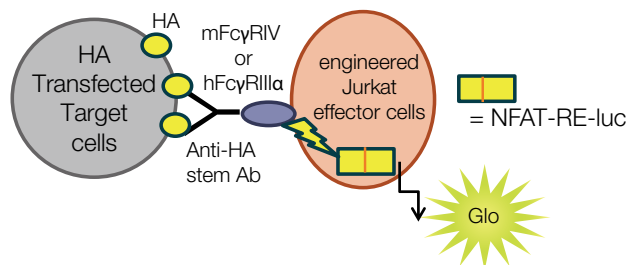


図 2. 抗インフルエンザ HA ワクチンの ADCC 活性評価

近い将来、インフルエンザワクチンは数年に 1 回接種するだけになるかもしれません。インフルエンザにかかりやすい方はどうぞ期待！

ここでご紹介した ADCC ベースのアッセイの他にも、プロメガでは抗体医薬品開発をサポートする画期的な製品を次々に開発しています。次回の記事もお楽しみに！

今回ご紹介したバイオアッセイについての詳細は弊社までお問合せください。

コラム ウェブセミナーも要チェック！

以下のタイトルのウェビナーが 7/12、9/27 に開催されました。

- 処理容量を自由に換えられるマグネットビーズ法による抗体濃縮の効率化
Streamline Your Antibody Enrichment Using Scalable Magnetic Bead-Based Chemistries
- 免疫療法を加速させる免疫チェックポイントバイオアッセイ。
Immune Checkpoint Bioassays Power Combination Immunotherapy

以下よりウェビナーの記録やファイル、今後の予定をご覧いただけます。

Promega Webinars

検索

www.promega.jp/resources/webinars/