



LINK-J

鹿児島大学発シーズの社会実装を目指すイノベーター集合in日本橋
(2023年11月27日)

脳・腸・筋への組織移行性抗体AccumBody®と 抗体結合技術tCAPによる高機能性治療薬

伊東祐二

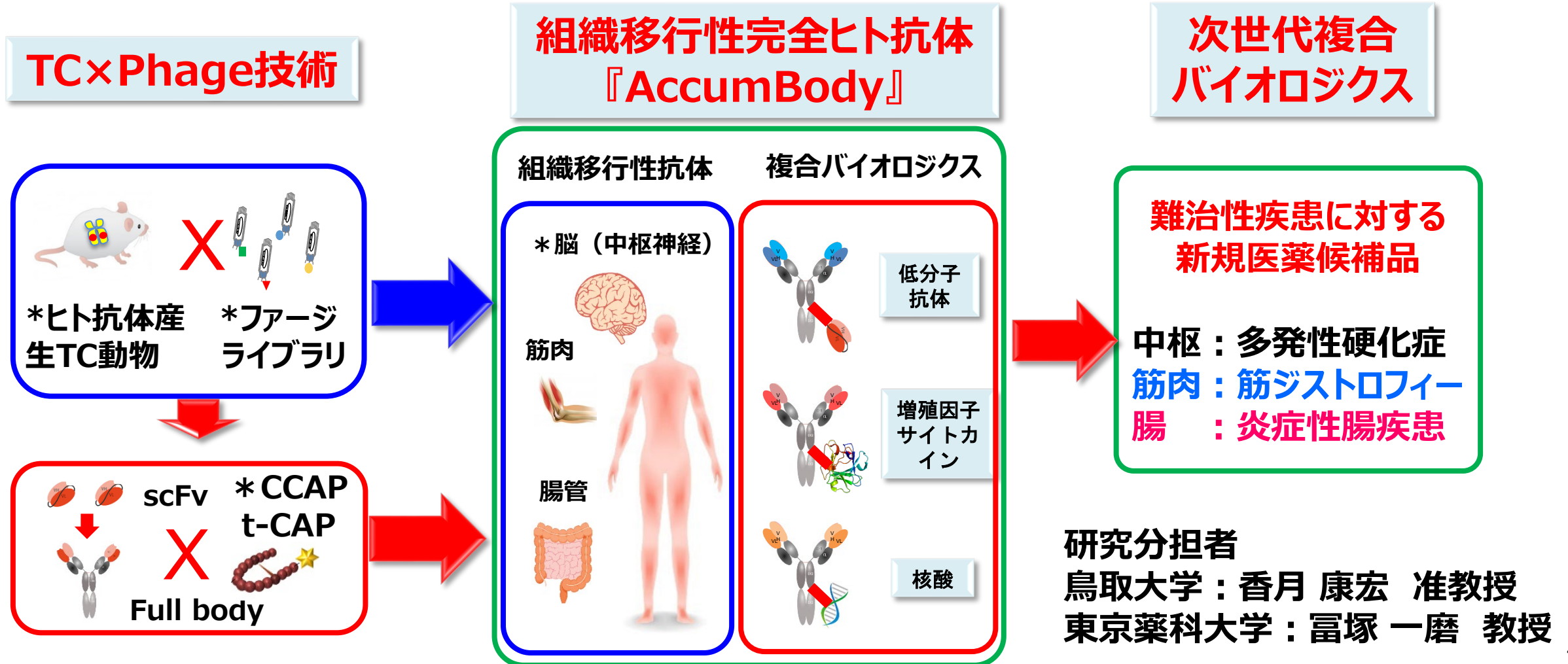
鹿児島大学大学院理工学研究科・教授



1. 組織特異的移行抗体 AccumBody®
(Tissue-specific delivering antibody: AccumBody®)
2. 抗体-薬物結合技術 tCAP
(Antibody-drug conjugation technology: tCAP)

AMED先端的バイオ創薬等基盤技術開発事業(R1-5、研究代表者:鹿児島大学、伊東)

研究題目：完全ヒト抗体×ファージライブラリによる組織特異的移行性抗体 AccumBodyの開発と次世代複合バイオロジクスへの応用



(背景) 医薬品開発における局所移行性の重要性



○標的となる臓器や組織へのドラッグデリバリーシステム (DDS) 技術により、以下の効果が期待できる。

-用量低減

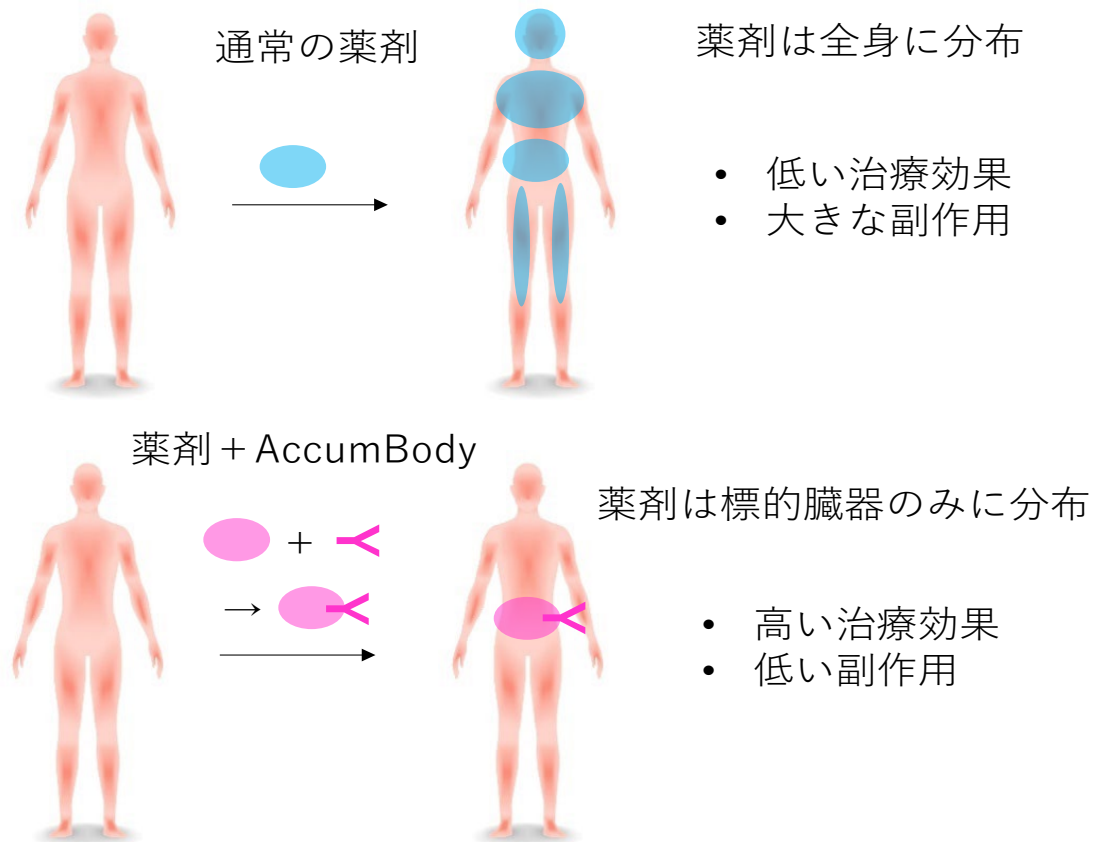
-毒性低減

○**低分子化合物**については、開発途中で断念された候補薬剤を適切なDDS技術と組み合わせることで、医薬品として上市できる可能性がある。

○**核酸医薬**については、肝臓以外の臓器へのデリバリーを実現する技術が必須である。

○その他のモダリティ (**抗体医薬・タンパク製剤**) についても、臓器指向性を持たせるメリットは大きい。

○既に医薬品としての使用実績がある抗体というプラットフォームを薬剤送達のツールとして使用する **AccumBody®** 技術を開発することで、上記のような課題を解決したい。



AccumBody® 技術の特長



1. ヒト抗体産生動物の使用

Trans Chromosome (TC)技術を用いたヒト抗体産生動物から得られるヒトIgGを利用する。そのため、抗体のヒト化のステップが不要で、開発を加速することができる。

2. ファージディスプレイ技術

ヒトIgGの重鎖遺伝子と軽鎖遺伝子をクローニングし、単鎖化したscFv (single chain Fv)をファージに発現させる。scFv発現ファージライブラリーに対して、複数回のスクリーニングステップを繰り返すことで、特定の臓器への移行性・貯留性を持つクローンを単離することができる。

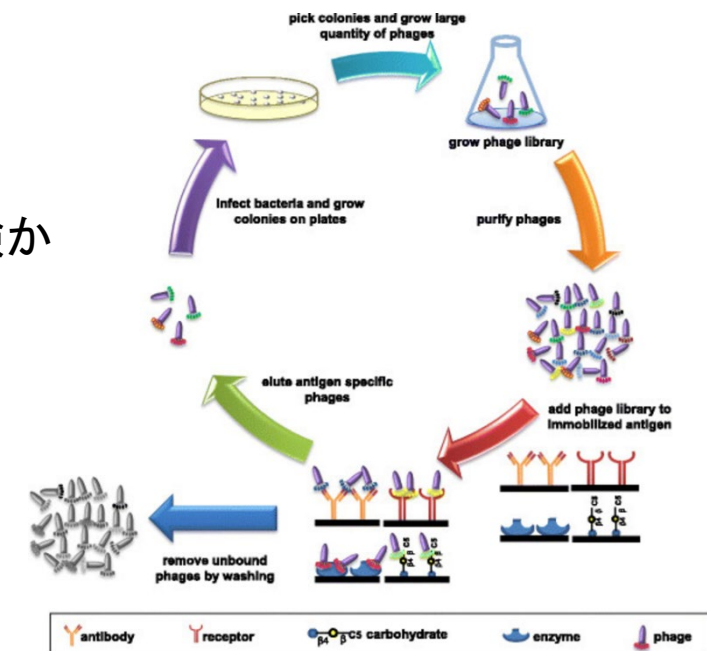
抗原の選択やスクリーニング方法に対するノウハウの蓄積が重要である。

3. ヒトとマウスの抗原に交差活性を持つ抗体

、得られた抗体は、ヒトとマウスの抗原に交差活性を持つため、マウスの前臨床実験から、ヒトの臨床試験まで、同じ抗体で実施することができる。

現在までに得られているAccumBody

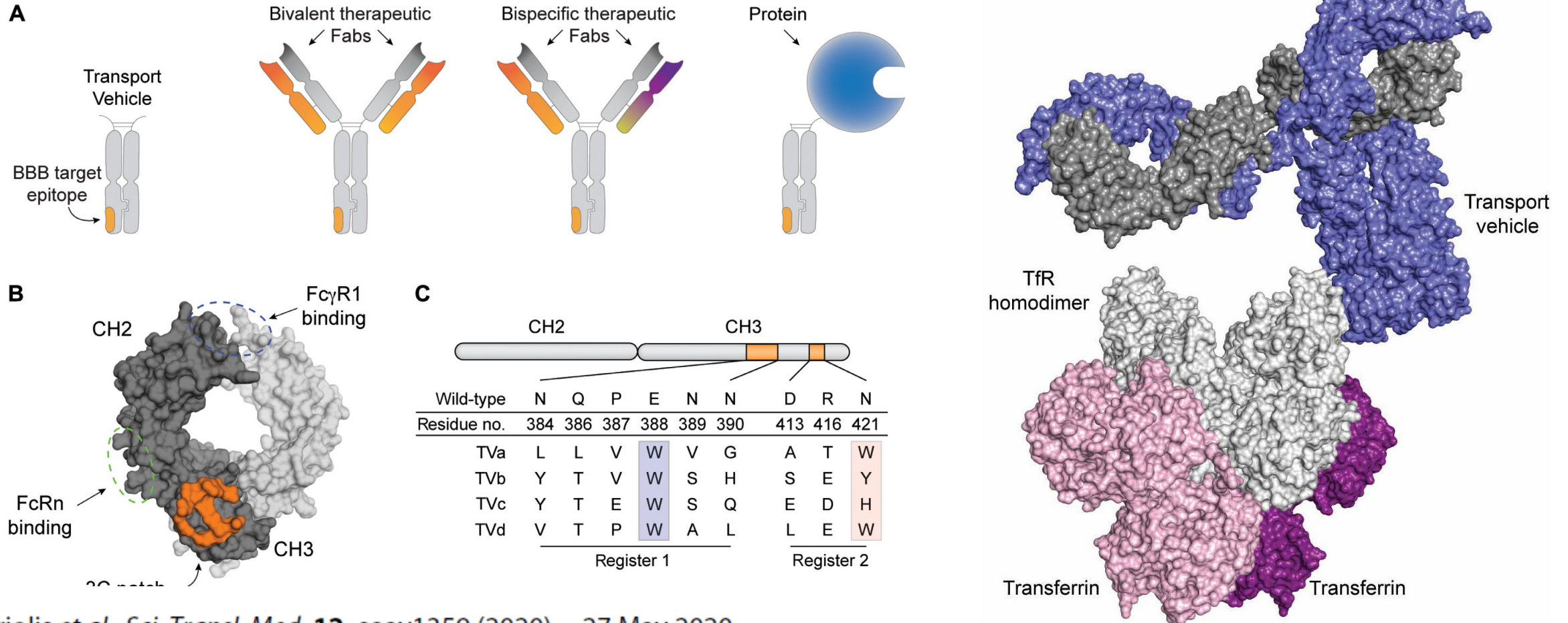
- ・脳 (AccumBody®-Brain)
- ・腸 (AccumBody®-Bowel)
- ・筋 (AccumBody®-Muscle)



Competing technology: Denali Therapeutics Inc



blood-brain barrier transport vehicle (TV)



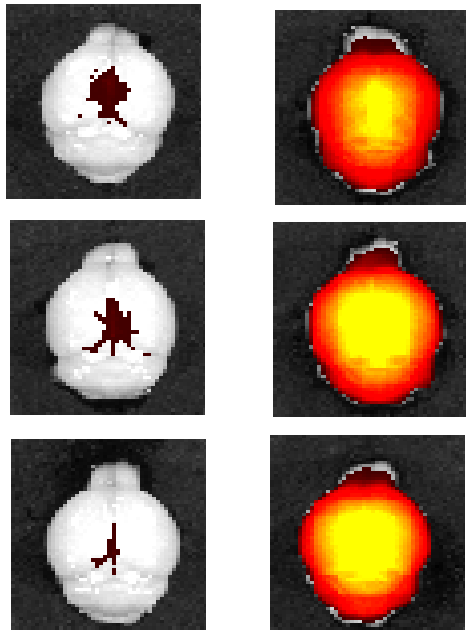
Kariolis et al., *Sci. Transl. Med.* **12**, eaay1359 (2020) 27 May 2020

脳AccumBody® (AccumBody®-Brain)の開発

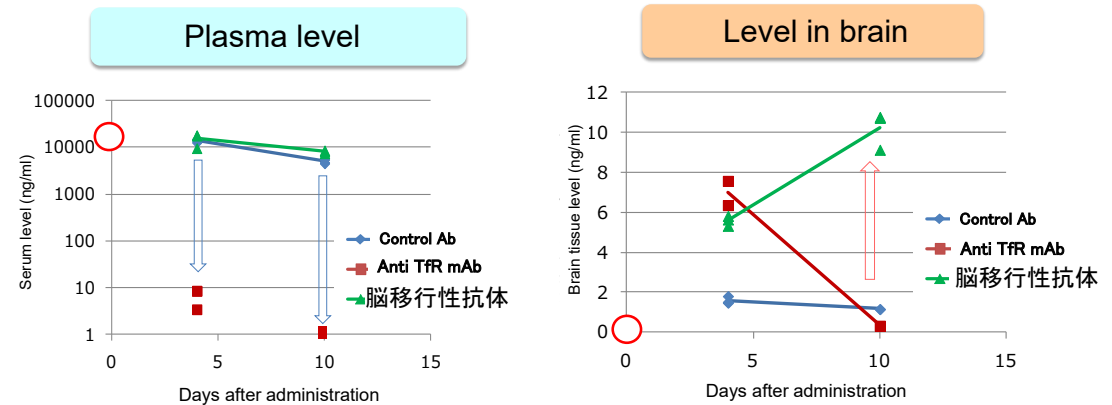


AccumBody®-Brain
(VHH-Fc抗体)

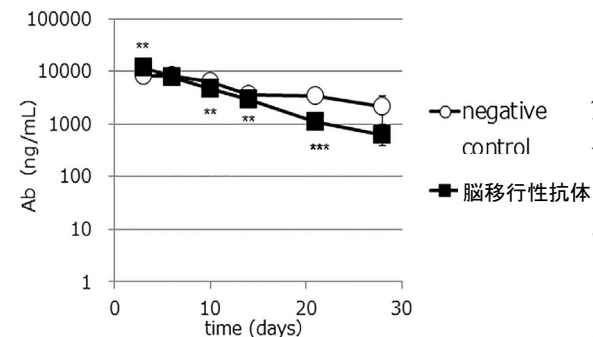
Control 抗体 AccumBody®
-Brain



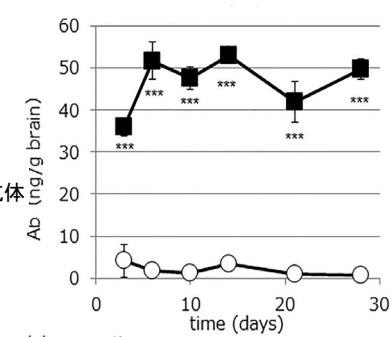
(参考) 抗TfR抗体による脳内移行性と、脳移行性抗体による脳貯留の特性の違い



(A) Plasma level



(B) Level in brain

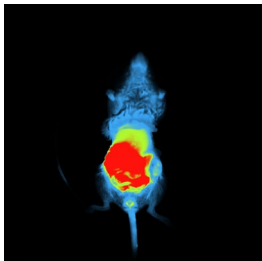


ICRマウスに5 mg/kgで尾静脈投与後
7日目に、灌流後脳蛍光イメージング

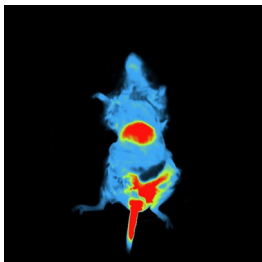
腸、筋への送達用AccumBody®の開発

AccumBody®-Bowel

AccumBody®-Bowel



Control抗体



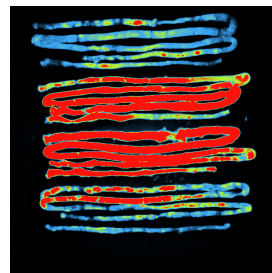
Balb/cマウスに約5mg/kgで尾静脈投与後24時間で灌流・開腹し蛍光イメージング

AccumBody®-Bowel

2RC17 scFv-Fc



2h
5h
24h
48h

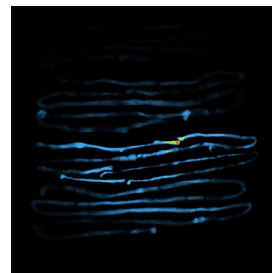
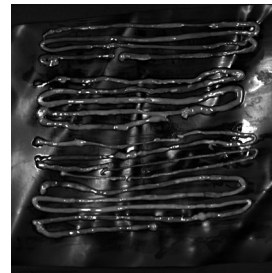


2h
5h
24h
48h

Balb/cマウスに約5mg/kgで尾静脈投与後2, 5, 24, 48時間後に灌流し、腸を摘出・洗浄後蛍光イメージング

Control抗体

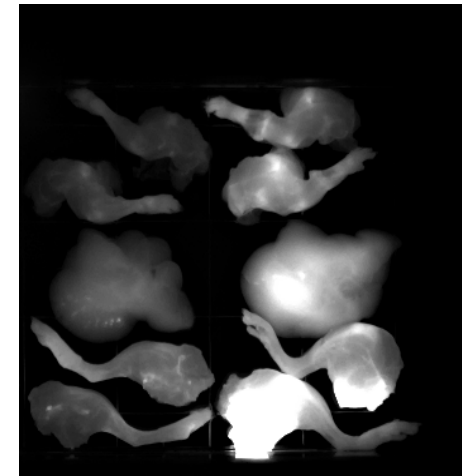
Tmab



AccumBody®-Muscle (抗TfR hVHH-Fc抗体)

Control抗体

抗TfR抗体



Balb/cマウスに約5mg/kgで尾静脈投与後3時間で灌流し、各部位を蛍光イメージング

各AccumBody®が、動物モデルにおいて、脳、腸、筋それぞれの部位特異的に集積することを確認した。



AccumBody®-Brainの競合技術との比較

	血中滞留性	BBB移行速度	脳滞留性	ヒト・齧歯類交差性
J-Brain Cargo (JCR)	△	◎	△	×
BBB-TV (Denali)	△	◎	△	×
AccumBody®-Brain	○	○(△)	◎	◎

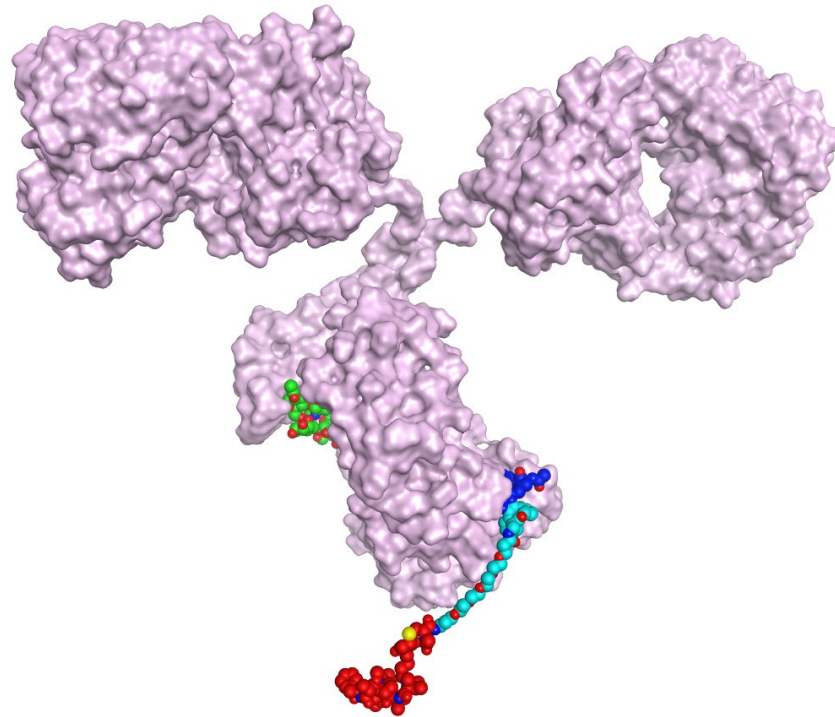
AccumBody®-Brainは既存技術と比べて脳滞留性、ヒト・齧歯類交差性において非常に優れた特性を有している。

tCAP法の特徴



- ・IgG結合ペプチドを介した部位特異的結合 (Conjugation by Affinity Peptide; CAP)
- ・一反応で結合ペプチドを残さずアジド基 (-N₃) を導入
- ・生体直交性のclick反応を使用して薬剤の導入によるコンジュゲート化

生体直交性のアジド基を導入した抗体を使った、クリック反応により 簡便なコンジュゲート化

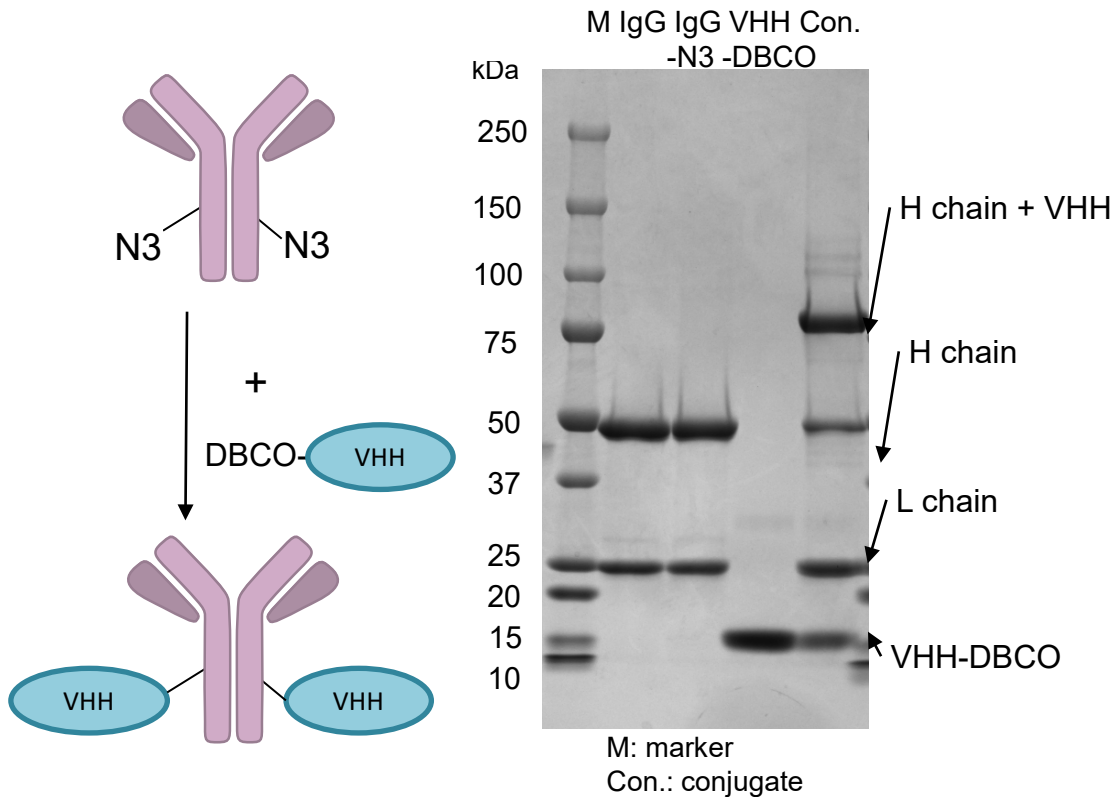


GlyGlyLys(N3) (3 residues)
PEG4 spacer
MMAE
Sugar chain

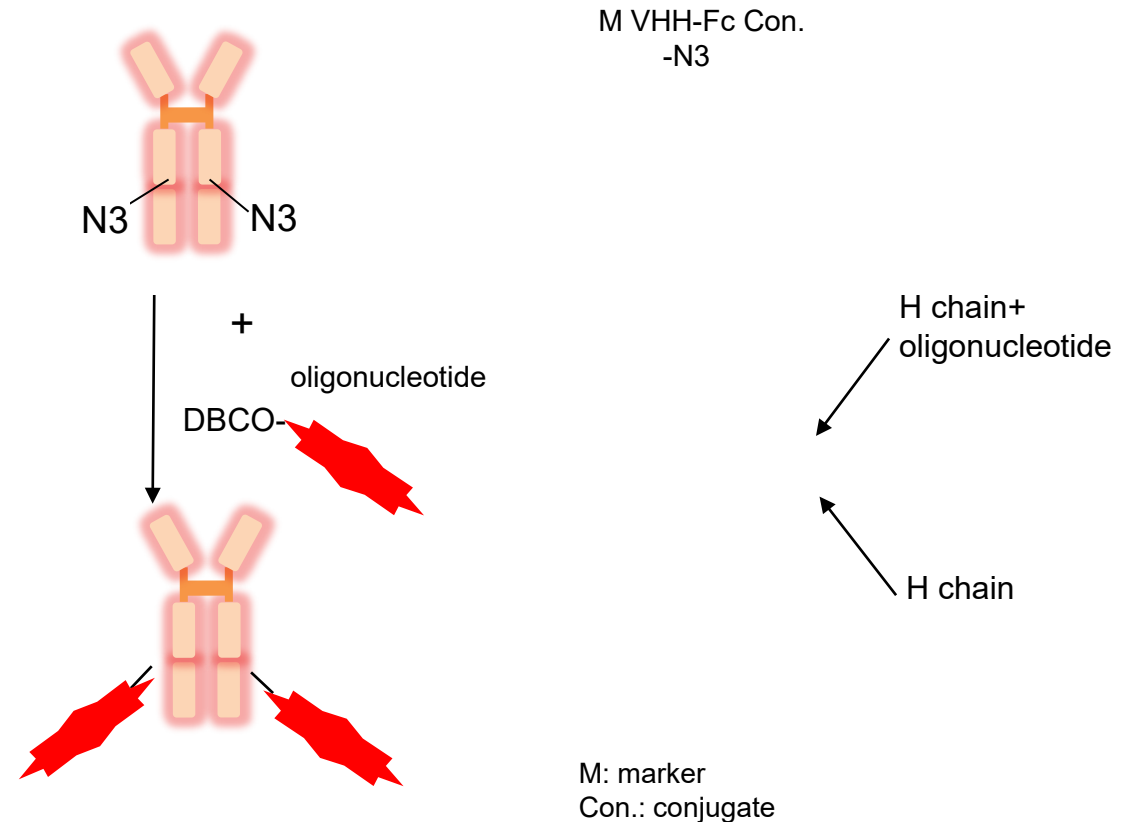
tCAP法による2重特異性抗体、抗体核酸コンジュゲートの創製



2重特異性抗体 (IgG + VHH)



抗体核酸コンジュゲート (VHH-Fc + oligonucleotide)



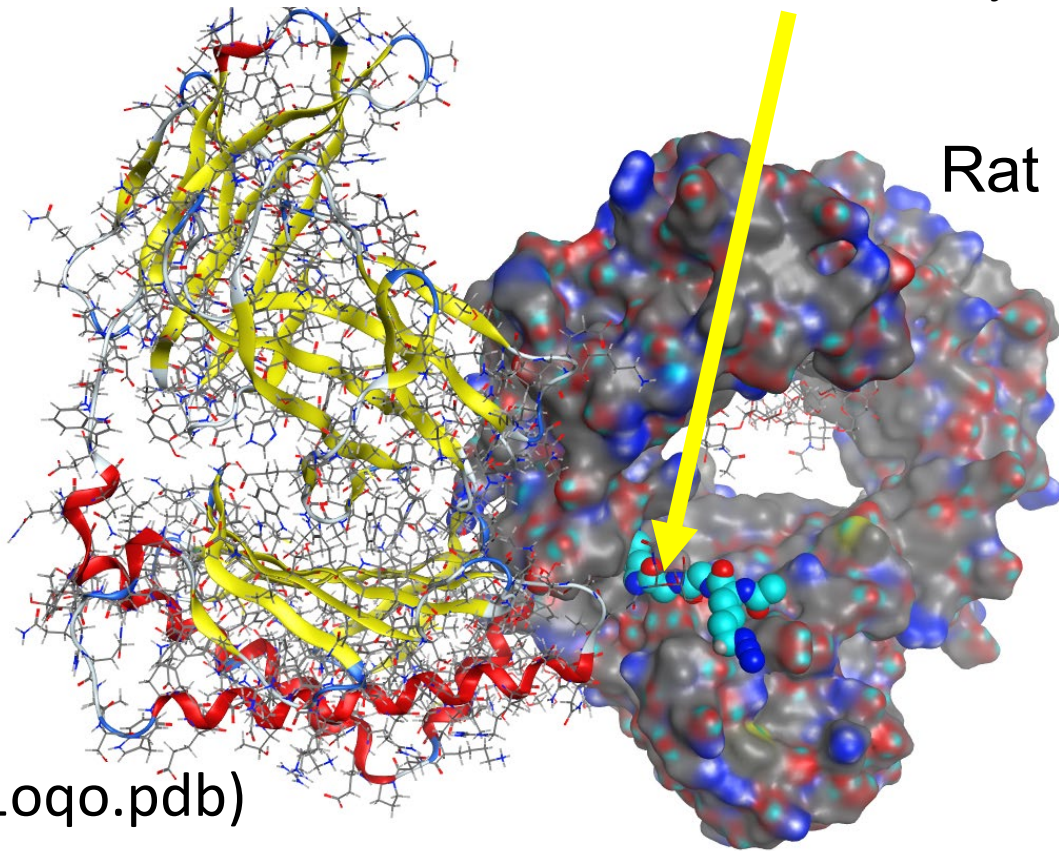
t-CAPコンジュゲートでは、FcRnとの結合は保持されている



Rat FcRn

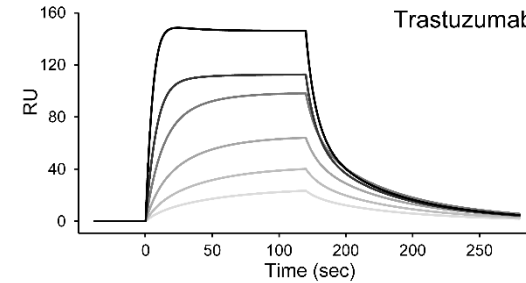
N-acetyl Azide-Lys-Gly-Gly
Bind to ϵ amino acid of Lys248

Rat Fc



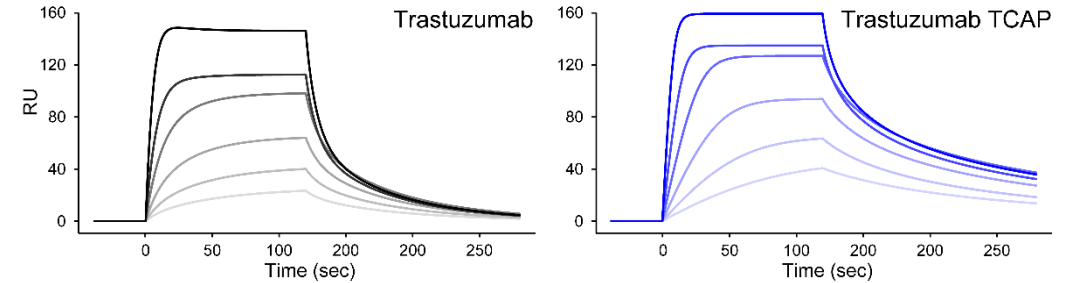
(1oqo.pdb)

Control antibody
Kd=570 nM

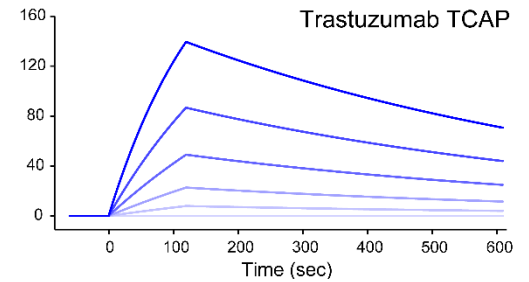
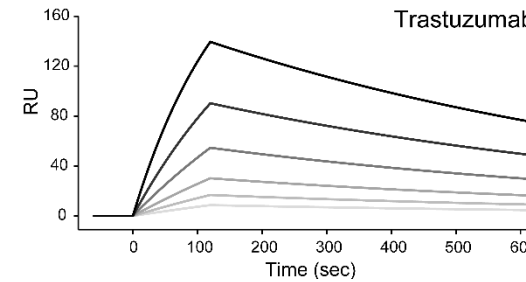


tCAP bound antibody
Kd=250 nM

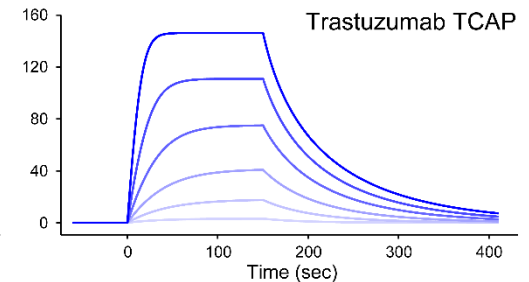
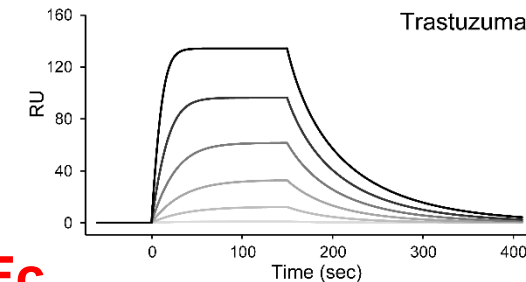
FcRn



FcγRI



FcγRIIIa



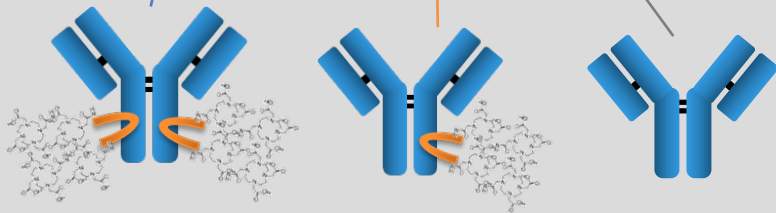
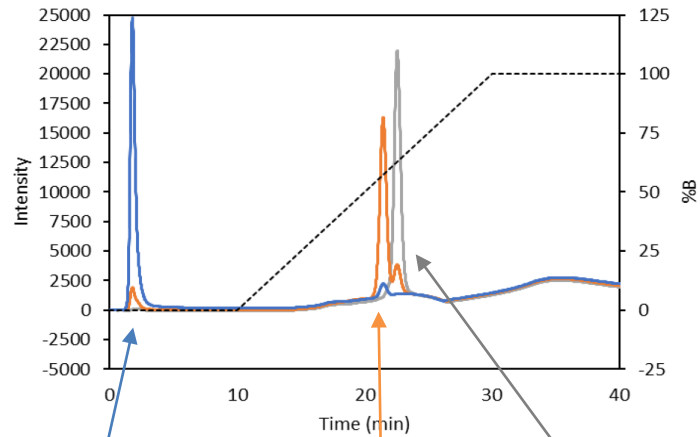
Lys-Gly-Gly does not hinder binding of FcRn to Fc

t-CAPコンジュゲートのFcRnカラム*を用いたFcRn結合確認



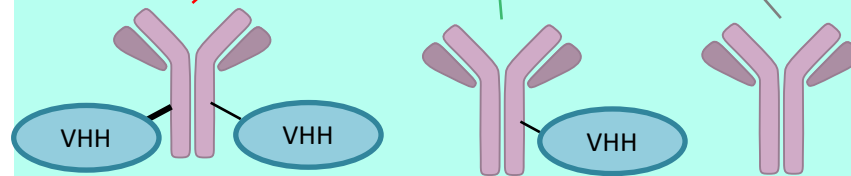
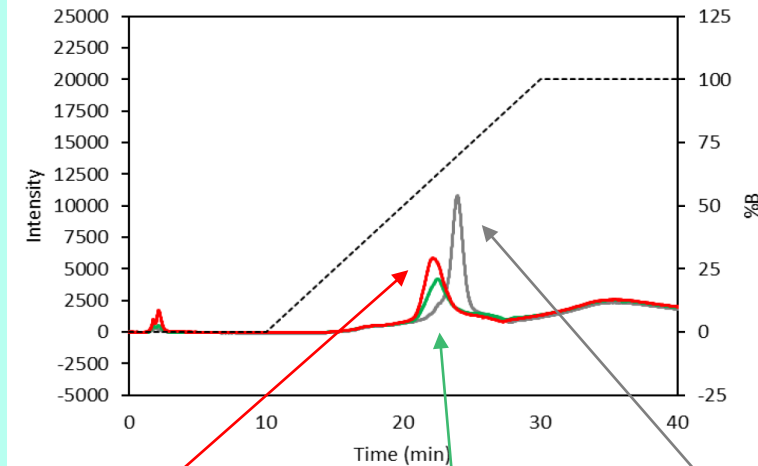
CCAP conjugate

Mono and divalent conjugate with chelator (DOTA)

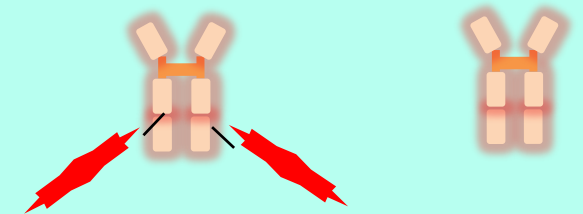
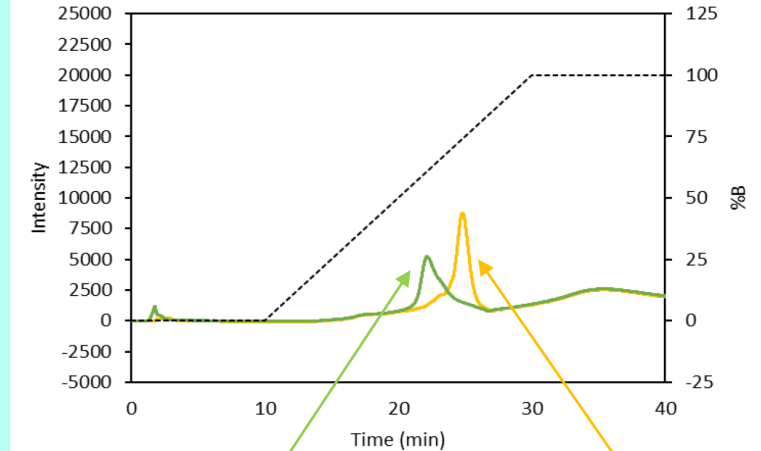


tCAP conjugate

Mono and divalent conjugate with VHH



Divalent conjugate with nucleotide



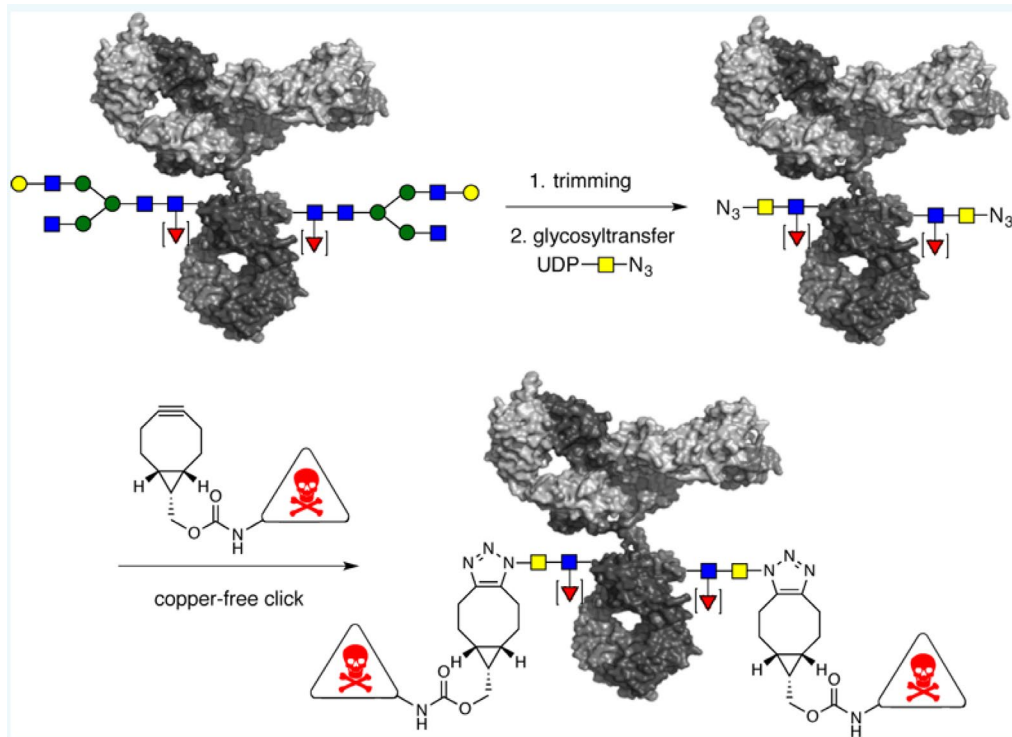
tCAPコンジュゲートは、FcRnとの結合を保持しているため、長い血中半減期を持つ。

* FcRnカラム (βバージョン) については、東ソー株式会社への問い合わせを願いたい。

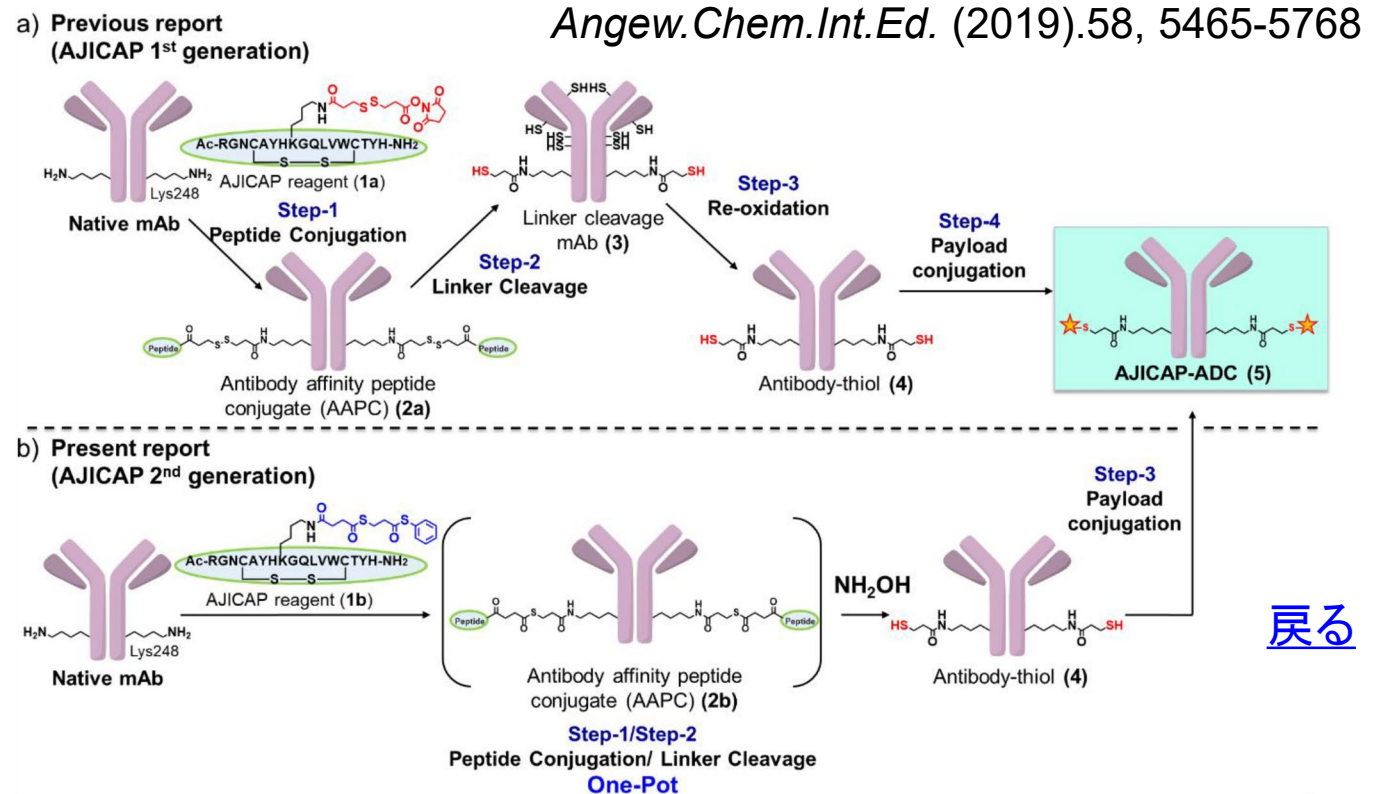
競合技術: SynAffixとAJICAP



抗体のN型糖鎖を標的にした酵素による糖鎖修飾
(SynAffix-GlycoConnect)



抗体のFcに特異的なペプチドを使った部位特異的チオール導入法
(AJINOMOTO-AJICAP)



Bioconjug Chem. 2015 Nov 18;26(11):2233-42.
doi: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00224.

Bioconjugate Chem. (2023) 34, 728-738

抗体部位特異的修飾法としてのtCAPの他技術との競合表

	tCAP	SynAffix	AJICAP (第2世代)
トータルの反応時間	1h	16h + 16h	1h + 1h
反応条件 (pH)	8-9	8.0 + 8.0	5.5 + 5.5
反応条件 (他の試薬)	試薬のみ	酵素1 + 酵素2	試薬 + 1M NH ₂ OH
反応条件 (温度)	室温 (25°C) 前後	37C + 30C	20°C + 20°C
導入官能基	アジド基	アジド基	SH
官能基導入抗体の安定性	◎	◎	△
反応効率 (2価収率)	90%	>95%	98%
反応ステップ	1	2	2 (CCAP + 切断)

tCAP法は他競合技術と比べて操作性、官能基導入抗体の安定性において格段と優れた特徴を有している。

まとめ

1. 脳及び腸に高い特異性を持つ臓器移行性抗体AccumBody®の開発に成功した。
2. 抗体と治療薬剤を容易に連結するtCAP法を開発した。この手法は、簡単なステップかつマイルドな条件で、インタクトなIgG抗体に治療薬剤を付加することができるため、医薬品製造において高い利用可能性のある方法である。
3. AccumBody®と治療薬剤のtCAP法による連結によって、治療薬の効率的に標的臓器へデリバリー可能な医薬品が開発可能となった。