

TNFR2 の機能解析に向けたマウス TNFR2 指向性変異体の作製

○古屋 剛^{1,2}, 阿部 康弘¹, 井上 雅己¹, 有田 修平^{1,2}, 鍋師 裕美^{1,2}, 吉川 友章^{1,2}, 吉岡 靖雄^{2,3}, 伊藤 徳夫^{1,2}, 趙 秀麗¹, 長野 一也¹, 鎌田 春彦^{1,3}, 堤 康央^{1,2,3}, 角田 慎一^{1,2,3} (1)医薬基盤研, (2)阪大院薬, (3)阪大MEIセ)

【背景・目的】免疫応答の中心的役割を担うサイトカインの一つである腫瘍壊死因子(TNF)は、様々な自己免疫疾患の病態に関与することが明らかとされつつあり、これら疾患の創薬ターゲットとして注目されている。しかし、自己免疫疾患における2種類のTNFレセプター(TNFR1及びTNFR2)を介した機能の相違や病態との連関は未だ十分に解明されておらず、特にTNFR2の機能に関しては不明な点が多く残されている。そこで本研究では、*in vivo*における各TNFレセプターの機能解析を念頭に、独自の機能性人工蛋白質創製技術により、マウスTNFR2に指向性を有するTNF変異体を創出し、その特性評価を試みたので報告する。

【方法】TNF構造変異体発現ファージライブラリから、マウスTNFR2(mTNFR2)に選択的に結合するクローンを濃縮するため、mTNFR2に対するパンニングを複数回行った。mTNFR2指向性クローンのスクリーニングには、各レセプターを固相したELISAを用いた。スクリーニングの結果、選出されたクローンのリコンビナント体を作製し、表面プラズモン共鳴法によりレセプター選択性や結合様式を評価した。

【結果・考察】本検討より、mTNFR2指向性に優れたTNF変異体(c-2-9)を得た。各レセプターに対する結合力を評価した結果、c-2-9はmTNFR2に対して野生型TNFと同等以上の結合性を示した。一方で、mTNFR1への結合性は殆ど示さなかったことから、mTNFR2指向性に優れていることが判明した。我々はTNFR2の構造解析に先駆けて成功しており、一方で今後、c-2-9に関する詳細な特性評価を進めるとともに、自己免疫疾患モデルマウスに投与した際の影響を解析するなど、各TNFレセプターと疾患病態との連関解明をさらに試みる予定である。

【Ref】 Science Signaling, 3(148), ra83:1-10, 2010.