

27AB-pm106

一本鎖化構造安定化技術による TNF 受容体アンタゴニストの創製と最適化
○井上 雅己¹, 鎌田 春彦^{1,2,3}, 瀧 慎太郎^{1,2}, 安藤 大介^{1,2}, 長野 一也^{1,2}, 堤 康央^{1,2,3},
角田 慎一^{1,2,3} (¹医薬健栄研, ²阪大院薬, ³阪大 MEI セ)

【背景・目的】 TNF は、2つの受容体サブタイプである TNFR1 及び TNFR2 を介して異なる作用を示す。我々は、これまで、新規モダリティをもつ抗 TNF 医薬の開発を目指し、主に炎症反応を誘導する TNFR1 に対して選択的なアンタゴニスト能を示す TNF 変異体 (R1antTNF) を創製し、関節リウマチモデルや多発性硬化症モデルでの薬理効果を実証してきた。本研究では、R1antTNF の *in vivo* における更なる作用向上を目指し、新たな構造安定化技術として、ペプチドリンカーによる一次構造の直鎖化を導入した一本鎖 R1antTNF (scR1antTNF) の創製を試み、血中半減期の延長並びに生体安定性の最適化を図った。

【方法】 R1antTNF を構成する 3 つの単量体をペプチドリンカーで連結した scR1antTNF 発現ベクターを作製し、哺乳類細胞を用いて発現させた。続いて、R1antTNF との特性の違いを比較するため、表面プラズモン共鳴法によるレセプター結合親和性の解析、及び細胞傷害性アッセイによる生物活性の解析を行った。また、サーマルシフトアッセイによる熱安定性の評価を行った。さらに、*in vivo* での体内安定性を調べるため、マウス投与後の血中濃度を経時的に測定した。

【結果・考察】 精製タンパク質の解析から、scR1antTNF は、従来の R1antTNF と同様の分子サイズながら、3 量体構造が直鎖状に融合した分子構造をもつと考えられた。両者の機能を比較解析した結果、scR1antTNF は、R1antTNF と同等のレセプター選択性やアンタゴニスト活性を保持する一方、熱安定性が大きく向上することが判明した。また、*in vivo* においても血中濃度が維持される傾向が認められた。従って、R1antTNF の一本鎖化は、構造安定化技術として有効であると考えられた。

