

発表論文：

Berger, S., Seeger, F., Yu, T. et al. Preclinical proof of principle for orally delivered Th17 antagonist miniproteins.

Cell, Volume 187, Issue 16 p4305-4317.e18 August 08, 2024

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.05.052>

研究目的および概要:

IL-23 と IL-17 は炎症性腸疾患 (IBD) や乾癬などの自己免疫疾患において重要な治療標的であるが、現在の抗体医薬品には高コスト、注射による投与、免疫原性などの課題がある。そこで、本研究では自己免疫疾患治療のための経口投与可能な高性能タンパク質医薬品 (ミニバインダー) の開発と目的とした。

筆者らは、計算機支援設計と実験的最適化を組み合わせたアプローチを用いて、IL-23R と IL-17A に対する小型 (7-8 kDa) のミニバインダーを開発した。これらのミニバインダーは、以下の特徴を持つことを目指して設計した。

1. 抗体並みの高親和性 (ピコモルオーダー)
2. 胃腸管内の厳しい環境に耐える高い安定性
3. 経口投与後に標的組織に到達する能力
4. 既存の抗体医薬品と同等以上の治療効果

筆者らは、まず計算機支援設計によって初期のミニバインダー候補を作成し、その後、酵母

表面ディスプレイとフローサイトメトリー (FACS) を用いた実験的最適化を行った。最適化されたミニバインダーは、*in vitro* および *in vivo* 実験で詳細に評価された。結果として IL-23R 及び IL-17A においてピコモルオーダーの結合親和性であり、模擬胃液 (SGF) および模擬腸液 (SIF) 中で高い安定性を示すミニバインダーの開発に成功した (図 1)。さらに、ラットへの経口投与後、小腸組織や結腸組織で検出可能な濃度で存在することを確認し、NSG-IBD ヒト化マウスモデルにおいて、既存の抗体医薬品 (グセルクマブ) と同等以上の治療効果を示すことが示唆された。

これらの結果は、経口投与可能な高性能タンパク質医薬品の開発が可能であることを示唆しており、自己免疫疾患治療の新たなアプローチとして期待される。

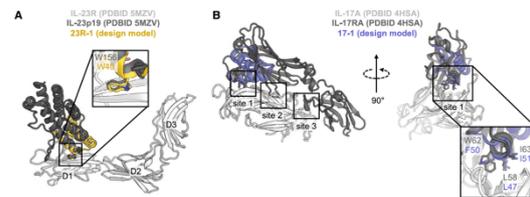


図 1

先行研究と比べて何がすごい？ 技術やアプローチのキモはどこ？:

1. 経口投与可能性の実現：

従来の抗体医薬品は大きな分子量 (約 150 kDa) のため経口投与が困難であるが、本研究で開発されたミニバインダー (7-8 kDa) は SIF や SGF による最適化により、経口投与が可能

である。胃腸管内の厳しい環境（低 pH、プロテアーゼの存在）に耐える高い安定性と、抗体並みの高親和性・高機能性を両立させている。さらに、*in vitro* や *in vivo* による治療薬としての効果を検証し、有効性を示している。

アプローチのキモは、これまでの Minibinder の主な開発手法である、計算機設計、飽和突然変異 (SSM) 解析、組み合わせライブラリーの選別からなるアプローチを胃腸管内の環境に耐える安定性の獲得に適応したことである。このような手法でリードとなるミニバインダーから胃腸管内で安定になるように進化させることで経口投与を実現することができた。

どうやってこの手法/仮説の有効性を検証したのか:

バイオレイヤー干渉法 (BLI) と表面プラズモン共鳴 (SPR) を用いて、ミニバインダーの標的タンパク質 (IL-23R または IL-17A) に対する結合親和性を定量的に評価した。また、円二色性 (CD) スペクトル測定により、熱安定性と化学的安定性を評価した。さらに模擬胃液 (SGF) および模擬腸液 (SIF) 中での時間依存的分解実験を行い、消化管環境での安定性を評価した。開発されたミニバインダーにおいて IL-23 および IL-17 シグナル伝達を阻害する能力を、レポーター細胞を用いて評価し、さらに初代培養細胞 (ラットの結腸、腸間膜リンパ節、脾臓由来) やヒト皮膚由来オルガノイドを用いて、より生理的な条件下での効果を確認した。最後に NSG-IBD ヒト化マウスモデルを用いて *in vivo* での有効性を検証した。

この研究をさらに発展させるとしたら:

開発されたミニバインダーは血中濃度の半減期が非常に短いため、半減期を長くするようなミニバインダーの開発が望まれる。また、PK/PD パラメータの詳細な解析も必要である。また、長期投与への安定性や免疫原性への評価なども有益である。また、経口以外の投与経路 (経鼻や経皮、舌下) などの製剤の開発も有益だろう。

その他、議論した内容 (ネガティブコメントや limitation もあれば):

マウスでの実験検証について

- ・白血球が存在しない群も必要ではないか
- ・骨髄移植が妥当ではないか

などの議論をした。

結腸でのミニバインダーの蓄積が 10 nM なのに対して Figure 6A の *in vitro* による検証で 100 nM を曝露している点や、血中で検出できていないのに脾臓から取った初代培養細胞の検証をしている点は好ましくない。

Figure 7 の動物実験での結果をヒトにあてはめると単純計算で 500mg 程度のミニバインダーの経口投与が必要であるが、生産も大変そうである。