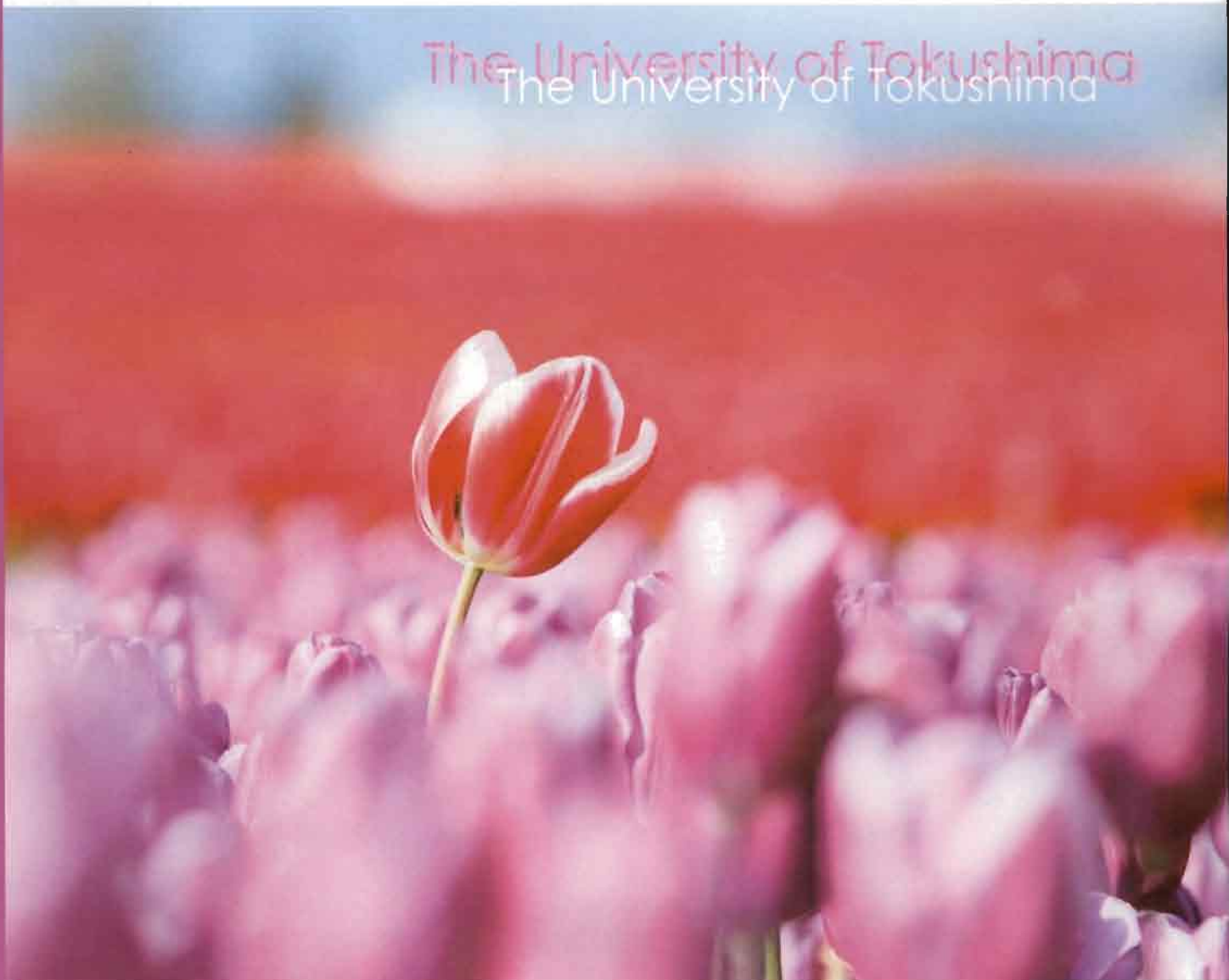


国立大学法人徳島大学

VOLUME 05
2012年2月発行

産学官連携推進部 ニュース

The University of Tokushima
The University of Tokushima



ご挨拶

徳島大学産学官連携推進部 客員教授 兼平 重和

1

糖鎖修飾したヒト血清糖タンパク質を用いた癌免疫療法の開発

徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部 ライフシステム部門

准教授 宇都 義浩 教授 堀 均

3

ヒト正常インスリン受容体を発現した トランスジェニックマウス作製とその応用

徳島大学疾患酵素学研究センター シグナル伝達と糖尿病研究部門

教授 蛸名 洋介

5

ご挨拶

徳島大学産学官連携推進部

客員教授

兼 平 重 和



日頃は徳島大学産学官連携推進部の活動にご理解・ご協力を賜りまして誠にありがとうございます。心からお礼申し上げます。

今号では、最近における技術移転の事例として、大学院ソシオテクノサイエンス研究部の宇都義浩准教授・堀 均教授と疾患酵素学研究センターの蛭名洋介教授に案件のご紹介をお願いしました。いずれも産学官連携推進部が企業との交渉などのお手伝いをして契約締結に至ったものです。

せっかくの機会ですので、ここで産学官連携推進部の主な産学連携活動について簡単にご紹介させていただきます。

1. 特許出願手続きと企業への案件の紹介

研究成果として生まれた発明について、研究者からの相談に応じ、特許化及び技術移転等の可能性を検討した上で、特許出願の手続きを行っています。その後、Webページへの技術移転案件の掲載、いろいろな展示会への出展、研究者による技術発表等を通じて、産業界の方々に案件を紹介しています。特に、展示会出展や技術発表は企業の技術者・研究者と接触できる機会が多く、共同研究などにつながるケースが多くなっています。なお、大学単独出願した特許案件については、四国内の大学等が共同で創設した四国TLO(株式会社テクノネットワーク四国)に技術移転を委任しています。

技術紹介は、特許発明に限らず、ノウハウや試作品、研究試料など、共同研究やマテリアルトランスファーにつながるような案件も取り扱っていますので、ご遠慮なく何でもご相談ください。



▲ Nano tech展示会



▲ JST新技術説明会



アグリビジネス創出フェア ▶

2. 企業ニーズの学内研究者への紹介

企業からの相談に応じ、企業ニーズを学内研究者に紹介しています。特に、JST(独立行政法人科学技術振興機構)主催の企業ニーズマッチングイベント「産から学へのプレゼンテーション」では企業の方々から具体的な開発ニーズが提示されるので、産学官連携推進部が提供する案件紹介情報への学内研究者の関心は高く、多数の企業との面談・共同研究につながっています。

企業の方々には、開発ニーズ等がございましたら、ご遠慮なく産学官連携推進部までご相談ください。産学官連携推進部ではこれまでも企業からのニーズを個別にご相談いただき、学内研究者と技術相談や共同研究の可能性検討などを随時実施しております。手続きは産学官連携推進部のWebページ「技術相談」をご覧ください。(http://www.ccr.tokushima-u.ac.jp/sgk/gs.html)

相談は無料です。また、秘密は厳守しますのでご安心ください。

3. 海外展開

近年は、産学連携活動の海外展開にも力を入れています。2011年4月には、米国拠点としてカリフォルニア州シリコンバレーに徳島大学シリコンバレーオフィスを設置いたしました。さらに、現地のB-Bridge International, Inc. と覚書を締結し、米国における技術移転の支援を委任しました。2011年9月16日には、開所式と徳島大学研究者による新技術セミナーを現地で開催し、多くの方々にご参加いただきました。開所式には、徳島からも徳島県企業経営研究会の6名の方々にご出席くださいました。具体的な技術移転活動としては、B-Bridge International, Inc. がWeb上で運営する技術マッチングサイト(http://www.b-bridgetechnologies.com/)に英文の案件紹介資料を掲載するとともに、米国企業に直接、e-mailにて技術紹介を行っています。今後は現地企業との技術紹介面談等も含めて、米国企業との連携の実現につなげていきたいと考えています。



▲ 米国での拠点開所式(上)、新技術セミナーの様子(左下)
▼ (シリコンバレーSheraton Hotel)



▲ 徳島大学シリコンバレーオフィス
(B-Bridge International本社内に設置)

糖鎖修飾したヒト血清糖タンパク質を用いた 癌免疫療法の開発

徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部
ライフシステム部門

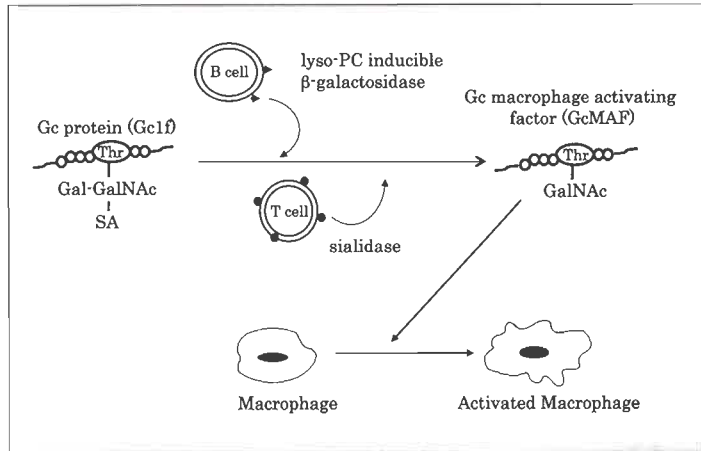
准教授
宇都 義 浩
教授
堀 均



概説

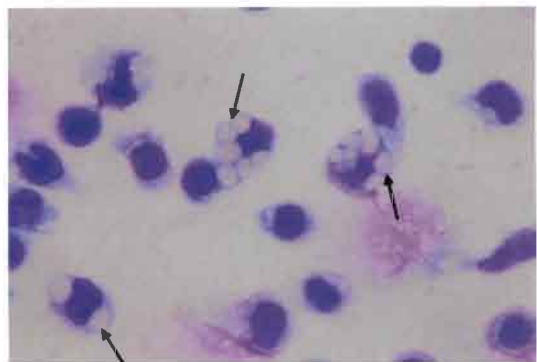
血清中に存在する糖タンパク質の1つであるGcグロブリン(別名:ビタミンD結合タンパク質)は、51~58 KDaの分子量を有し、ビタミンDの輸送やアクチンのスカベンジャーとして機能することが知られている。また、Gcグロブリンには糖鎖構造の異なる主に3種類の亜型(1f, 1s, 2)が存在することが法医学の分野で知られており(下表)、その中で1f1fホモダイマーのGcグロブリンはB細胞およびT細胞の免疫担当細胞により糖鎖切断を受け、N-アセチルガラクトサミン末端を有するGc-derived Macrophage Activating Factor (GcMAF、別名:DBP-maf)に変換され(右図)、マクロファージ活性化や血管新生阻害作用を介した抗腫瘍効果を示すことが明らかとなってきている。我々は、Gcグロブリンの各亜型の糖鎖構造とマクロファージ活性化能との関係について長年研究して得られた知見や技術を応用し、医療法人再生未来との共同研究により、単離したヒト血清を人工的に糖鎖修飾して癌患者に戻すことで癌患者の免疫活性を高める癌免疫療法を開発したのでここに紹介する。

Gc subtype	Gc1f	Gc1s	Gc2
	418 or 420	418 or 420	418
Oligosaccharide	Gal-GalNAc SA	Gal-GalNAc α -Man	Gal-GalNAc
	GalNAc: N-acetylgalactosamine Gal: Galactose SA: Sialic acid (N-acetylneuraminic acid)		



技術の概要

我々が開発したマクロファージ活性化療法の概要を以下に示す。まず、癌患者もしくはその近親者の血液約60 mlを採血し、遠心して血清を得る。得られた血清を希釈して2種類の酵素と反応させた後、熱処理により酵素を失活させる。マイクロコンを用いて濃縮し、タンパク質濃度およびGcMAF量を定量して24回分の注射液を調製する。残った血清サンプルでエンドトキシン試験・Gcグロブリン亜型の同定・マクロファージ活性化試験(I-gGでコートしたヒツジ赤血球をマクロファージが貪食している様子を右に示す)・その他の基礎研究を実施する。



癌患者への投与は原則週1回の筋肉注射とし、24回を1クールとして治療効果と副作用を観察する。なお、マクロファージ活性化療法は、他の免疫療法(温熱療法・リンパ球療法・コーリーワクチン療法、など)との併用を推奨している。

企業の概要

糖鎖修飾ヒト血清による癌免疫治療(マクロファージ活性化療法)を実施中の医療法人再生未来は、大阪府守口市・兵庫県神戸市にがん免疫治療科や肌再生治療科を有する医療法人であり、ハイパーサーミア(温熱療法)と遺伝子治療・免疫療法を中心にその他の治療を併用して相乗効果を狙うと同時に副作用軽減を治療目的としたQOLの高いがん治療を行っている高度先進医療機関である。また、併設の細胞培養センターでは、大学病院規模のクリーンルーム及び培養設備を有し、リンパ球療法やマクロファージ活性化療法に使用する培養細胞および処理血清の調製を行っている。詳細に関しては、医療法人再生未来ホームページ(<http://www.saisei-mirai.or.jp/>)を参照下さい。

上市までの道のり

我々は、約20年前からGcグロブリンおよびGcMAFについて種々の基礎研究や動物実験を行ってきたが、GcMAFは糖タンパク質であるため医薬品としての開発が困難であった。2008-2009年にGcMAFの発見者である山本信人博士(米国 Socrates Institute for Therapeutic Immunology)らは、ヒト血清由来GcMAFを用いて4例の医師指導型臨床研究(乳がん・大腸がん・前立腺がん・HIV)を報告したが、他に医薬品開発や臨床研究に名乗りを上げる研究者や企業は皆無であった。そんな中、2011年1月14日午後、医療法人再生未来の乾利夫理事長から当講座の堀のもとに1本の熱意溢れる電話があり、そこからGcMAFの臨床研究に向けて本格的な開発研究がスタートしたことを覚えている。乾理事長は標準治療が適用外となったいわゆる「がん難民」を救いたいという一心から、さまざまな免疫療法を試みており、その過程で、患者さんや知人、学術論文から、我々がGcMAFに関する研究を進めていることを探り当てたそうです。ヒト血清を用いてがん患者に投与可能なGcMAF製剤を製造することは困難を極めたが、平成23年7月2日に新治療「マクロファージ活性化療法」をスタートさせる運びとなったことは万感の思いである。同年11月の時点で100名を越えるがん患者がこの治療を受けており、また、同年12月上旬には、先端未来クリニック(免疫内科)がエイズ(AIDS)・難治性B型肝炎・難治性C型肝炎・肝硬変・非定型性抗酸菌のウィルス・病原菌除去/疾患の根治を目的として神戸市にオープンした。我々は、これからも糖鎖修飾したヒト血清糖タンパク質を用いた免疫療法の新たな可能性を追求するつもりである。

ヒト正常インスリン受容体を発現した トランスジェニックマウス作製とその応用

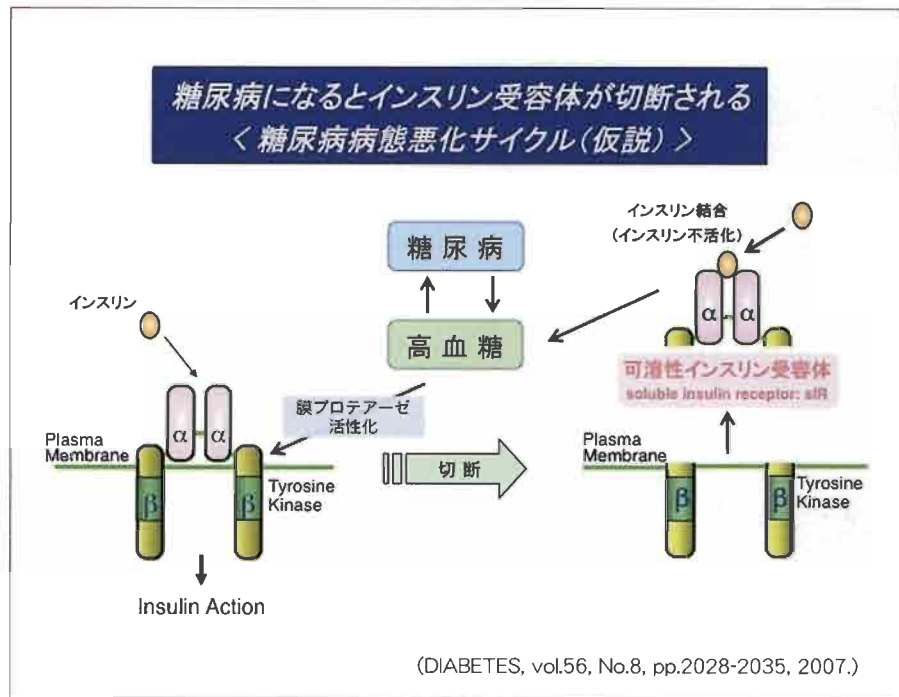
徳島大学疾患酵素学研究センター
シグナル伝達と糖尿病研究部門

教授
蛭名 洋介



はじめに

インスリンは細胞表面に存在するインスリン受容体に結合することでその作用が開始する (Cell, 1985, Ebina et al.)。膜タンパク質であるインスリン受容体は細胞膜外にインスリン結合ドメインを持つ分子量約135kDaの α サブユニット、細胞内にチロシンキナーゼドメインを持つ分子量約95kDaの β サブユニットから成り、各々のサブユニット2分子が



ジスルフィド結合によって細胞膜上でヘテロ4量体を形成している(図)。 α サブユニットのインスリン結合ドメインにインスリンが結合すると、 β サブユニットに内在するチロシンキナーゼが活性化され情報が細胞内に伝達され、血中から細胞内へのグルコース取り込み促進などのインスリン作用が発現する。

我々はヒトインスリン受容体細胞外ドメイン(以下sIR; soluble Insulin Receptor)を高感度に検出するELISAをMBL社と共同で開発し、血中にsIRが遊離して存在することを見出し、糖尿病患者ではそれが増加していることを発見した(図;Diabetes, 2007, Obata, Ebina et al.)。

sIRは遊離した状態でもインスリンとの結合能を保持しており、血中でインスリンと結合することにより実質的な血中インスリン濃度を下げ、結果的に血中グルコース濃度を上昇させるように働くことをマウス実験ですでに報告している。

血中sIRが糖尿病を増悪させる因子として機能している可能性が考えられる(図)。

当研究室で既に確立されているELISA系はヒトのsIRを特異的に認識する抗体を用いているため、マウスのインスリン受容体は認識せず、マウス本来の血中遊離sIRを測定することができない。

そこで、本研究では、ヒトインスリン受容体(Insulin Receptor: IR)を全身の臓器に多量に発現させたトランスジェニックマウスを作製した。

ヒトインスリン受容体発現トランスジェニック (TG) マウスの作製、 解析と応用

ヒトインスリン受容体を全身に発現したマウスを得るため、導入したい遺伝子をほぼ全身性に過剰発現させることができると予想されるCAGプロモーターサイト(遺伝子発現を強力に誘導するCMV-IE enhancer配列と AG promoter)を持つpCXNベクターにヒトインスリン受容体cDNAを挿入し、そこから切り出したDNA断片を用いてマイクロインジェクションを行った。

ウェスタンブロットでIRタンパク発現量の検討を行った。その結果、膵臓、骨格筋、脳、心臓、肺での発現が認められた。また、最もグルコースを多く必要とする組織である脳での発現も多く見られた。しかし、肝臓、脂肪細胞、腎臓、脾臓における発現は確認することができなかった。

血糖値の増減による血中sIR値への影響を検討するため、ストレプトゾトシンにより1型糖尿病(急性高血糖モデル)マウスを作製した。ストレプトゾトシン投与によって急性高血糖状態を誘導することでTGマウスはストレプトゾトシン投与前と比較して明らかな血中sIR値の増加が認められた。加えて4日間のインスリン治療を施すことで血中sIR値はほぼストレプトゾトシン投与前と同程度まで減少した。

マウス血中ではsIRの半減期は約6時間であり、他の糖尿病の指標であるグリコヘモグロビンHbA1c(半減期約30日)やグリコアルブミン(半減期約17日)と比べると非常に短いことが分かった。

まとめ

これまでの研究により、ヒトにおける臨床的な知見では健常人と比較して1型糖尿病、2型糖尿病患者ともに血中遊離sIRの値が有意に上昇していること、また、血中sIR値は、糖尿病の指標である血糖値やグリコヘモグロビン(HbA1c)やグリコアルブミン(GA)と相関性があることを明らかにした。

現時点では血中sIRはインスリン抵抗性の一因となっている可能性が高いと考えられる。sIR切断阻害化合物は新規糖尿病改善薬(インスリン抵抗性改善薬)になる可能性がある。これは全く新しい糖尿病薬になると予想される。培養細胞系でも高グルコースによる培養液中のsIR増加も明らかにしている。また切断酵素も明らかにしつつある。この系を用いるとsIR切断阻害化合物をスクリーニングできる可能性があり、本TGマウスを用い個体全体での効果を検討することも可能となる。

更に、本TGマウスは、糖尿病モデル動物としての用途以外に薬の脳内輸送のテストに使用できる可能性が見出され、昨年、本TGマウスに関する特許のライセンス契約を製薬企業と締結した。脳は、現在薬の最も大きな標的の一つである。しかし、脳の血液関門が存在するため、小分子のくすりの98%はこの関門を通過できない。大きな分子の薬は100%通過できない。この問題を解決するため、“トロイの木馬による脳での運搬(Trojan horse brain delivery)”という方法が開発された。この方法はヒトインスリン受容体を介して血液から脳内に輸送する方法である。このテストのためにヒトに最も近いサルを用いていた。しかし、本TGマウスは脳内でヒトインスリン受容体を多く発現しているため、薬の脳内輸送のテストに使用することが可能となるかもしれない。現在この目的のため企業で本マウスが使用されている。



ニュースについてのお問い合わせ先

徳島大学産学官連携推進部

〒770-8506

徳島県徳島市南常三島町2丁目1番地

徳島大学産学官連携プラザ内

TEL:088-656-7592 FAX:088-656-7593

E-mail : center@ccr.tokushima-u.ac.jp