薬 剤 学, **78** (2), 72–76 (2018)

≪若手研究者紹介≫

安全で有効な製剤の開発を目指して

野 村 鉄 也* Tetsuya Nomura
昭和薬科大学薬剤学研究室

1. は じ め に

筆者の研究生活は, 2004 年 4 月大阪大学薬学部薬剤学分野に配属したところからスタートした．薬剤学分野は，中川晋作先生（大阪大学大学院薬学研究科薬剤学分野教授）が主宰されており，前年度に退官された眞弓忠範先生（大阪大学名誉教授，神戸学院大学名誉教授，元大阪大学副学長，元神戸学院大学学長）の時代より，昼夜問わず，学部生・大学院生が激烈に研究を行う環境にあった．筆者は大学入学以前より，「ヒトに役立つ薬を開発したい」と思い続けていたので，DDS 研究に基づく薬剤学分野での研究生活は毎日が刺激的であったし，筆者が配属されて研究生活にどっぷりと浸かるのに時間はかからなかった．配属当初こそ，3 年生までの部活動を中心とした生活との変化が大きすぎて戸惑いもあったが，そのようなことが気にならなくなるまでに 1 か月とかからなかった．夢中になって研究をするあまり，帰宅は毎晩日が変わってからであったし，朝一番に研究室に来て研究をはじめることもしばしばであった．また薬剤学分野は，研究だけではなく，何事にも一生懸命取り組むことがモットーであり，学部内で行われていた野球大会・テニス大会・ボウリング大会にも必ず参加し，事前には練習をみっちり行うほどの熱の入れようであった．筆者個人としては，博士課程修了の年にテニス大会で優勝したときの喜びは今でも忘れない．

前置きはさておき，筆者は 4 年時に薬剤学分野に配属後，修士 1 年より当時独立行政法人医薬基盤研究所（現医薬基盤健康栄養研究所）にプロジェクトリーダーとして栄転された，堤康央先生（現大阪大学大学院薬学研究科長）の下に国内留学し，有効性と安全性に優れたタンパク質医薬の開発を目指した研究を行うこととなった．医薬基盤研究所は，大阪府箕面市と茨木市にまたがる彩都とよばれる丘陵地に位置する，彩都ライフサイエンスパークに開発された研究所であり，ワクチンやバイオ医薬に関する様々なプロジェクトが存在し，アカデミア発の医薬品開発を目指した最新の研究を行っていた. 筆者は，同級生とは離れた外部機関で研究を行う少々の寂しさを感じつつも，最先端の機器を用いた研究を行うことにワクワクしながら生活をしていたことを思い出す．この時の筆者は来る日も来る日も研究に明け暮れ，これまでの人生の中で最も濃密な時間を過ごしたと感じている．学生時代，決して優秀な学生ではなかったものの，今もアカデミックの世界でなんとか研究・教育を続けていられるのは，間違いなくこの環境で鍛えられたお陰であると確信している．また学位取得後は，帝京大学薬学部生物薬剤学教室(現薬物送達学研究室)に助教として着任し，丸山一雄主任教授，宇都口直樹教授の下で研究をスタートすることになった．2 年後からは，新たに宇都口教授が主宰する製剤学研究室にて研究する環境を与えていただき，幸いなことに現所属の昭和薬科大学薬

*2005 年 3 月大阪大学薬学部卒．2010 年 3 月同大学院薬学研究科博士課程修了．2008 年 4 月～2010 年 3 月日本学術振興会特別研究員．2010 年 4 月～2016 年 7 月帝京大学薬学部助教．2016 年 8 月より昭和薬科大学特任助教．2008 年ファーマバイオフォーラム 2008 優秀発表者賞受賞．2008 年，2009 年日本 DDS 学会ベストポスター賞受賞．趣味：テニス，スポーツ観戦．連絡先：〒194–8543 東京都町田市東玉川学園 3–3165
E-mail: nomura@ac.shoyaku.ac.jp

剤学研究室においても，引き続き共に研究する機会を得ている．大学教員として従事することになってからは，自分が学生時代には考えもしなかった「学生への教育効果」も意識しながら，研究活動を進める毎日であり，大学環境に応じた，また各学生個人に応じた教育方法が必要であることを日々感じている．ともあれ，筆者が学生時代から現在に至るまで研究を行うことの支えとなっているモチベーションは，「ヒトに役立つ薬を開発したい」，その一点である．今回は，これまでに筆者が行ってきた研究内容についてご紹介したいと思う．

2. 学生時代の研究

筆者が学生時代に所属していた創薬プロテオミクスプロジェクト（現バイオ創薬プロジェクト）では，プロテオミクス技術を駆使した網羅的なタンパク質の質的・量的な変動解析を通じて，創薬ターゲットの探索と医薬品シーズを有効かつ安全な医薬品として開発する基盤技術の確立を行っていた．当時薬剤学分野からは，先輩を含めて 10 名程度が医薬基盤研究所に出向していた．「折角好きな研究をはじめたのに 1 年で終えてしまうのはもったいない」と感じたこと，また「少なくとも修士までは修了しなければ，将来的にも研究を続けることは難しいだろう」と考えたこともあり，大学卒業後には大学院修士課程に進学することを選んだ．薬剤学研究室は非常に人気が高く，決して優秀ではなかった筆者は必死で勉強をしたことを記憶している．幸運にも希望通りに合格することができた筆者は，難治性疾患の一つである多発性硬化症を対象に，関節リウマチやクローン病などの疾患発症・悪化に関与するサイトカインである腫瘍壊死因子（Tumor necrosis factor：TNF）を，安全性と有効性を兼ね備えたバイオ医薬として開発するテーマに取り組んだ．

一般にサイトカインは，複数の受容体を介した細胞増殖や感染防御など多様な生理作用を担っており，サイトカインそのものを医薬品として利用しようと考えたとき，多くの場合予期せぬ副作用が生じてしまい，そのことが医薬品化の妨げとなっている．TNF は，主に 2 種類の受容体である I 型受容体（R1）と II 型受容体（R2）に結合し，細胞の増殖や炎症反応の惹起・抗腫瘍作用などその作用は多岐にわたることが知られている．一方で多発性硬化症（Multiple sclerosis：MS）は神経変性疾患の一つであり脊髄組織に存在する神経軸索の髄鞘が脱落することによって，四肢のしびれが引き起こされ歩行困難になるなどの症状を呈する．これら症状の悪化と寛解が繰り返し起こることから，非常に QOL の悪い疾患である．MS に対する治療法としては，免疫抑制剤による対症療法しか存在せず，根本治療に繋がる医薬品開発が待望されている．近年の生命科学の進展に伴い，MS の病態では TNF が過剰発現していることが明らかとなっており，抗 TNF 抗体や可溶型 TNF レセプターなどの TNF 阻害薬の臨床応用が期待された．しかし，MS に対して TNF 阻害薬を使用すると，逆に症状が悪化してしまうことが報告され，TNF と MS の病態形成には複雑なメカニズムが存在するのではないかと考えた．その後，TNF の作用解析が行われ，R1 を介した作用が病態の悪化に，R2 を通じて寛解作用が誘導されることが明らかとなってきた．したがって，TNF の R1 を介した作用を選択的に阻害することができれば，有効性に優れた MS 治療薬になるのではないかと考えた．そこで筆者らは，TNF 中の受容体との結合に関与するアミノ酸を他のアミノ酸へと置換し結合特性を変化させることで，R1 を介した作用のみを阻害可能なタンパク質性アンタゴニストの創出を試みた．筆者が所属していた研究室では，ファージウイルスという大腸菌を宿主にするウイルスの特性を用いたファージディスプレイ法をサイトカイン・ペプチドへと応用することで，医薬価値に優れた生物製剤の開発を行ってきた[1,2]．筆者は，この技術を用いて TNF 構成アミノ酸中の 6 箇所を網羅的に置換した TNF 構造変異体ファージライブラリを構築し，この中から受容体との結合親和性を利用して，R1 にのみ選択的に結合しかつ活性を示さない構造変異タンパク質を創出した．実際にこのタンパク質性アンタゴニストを MS モデルマウスに予防的に投与すると，MS の発症は有意に抑制され，治療的に投与した場合においても病態の悪化を抑えることに成功した[3]．また同時に，炎症細胞により産生される IL-6 や IL-17 といったサイトカインの産生が阻害され，MS の病態で多数誘導される免疫細胞の誘導がこのタンパク質性アンタゴニストにより抑制されていることも確認できた．また，脊髄組織における脱髄症状の抑制や局所への炎症細胞の浸潤を阻害していることも確認してお

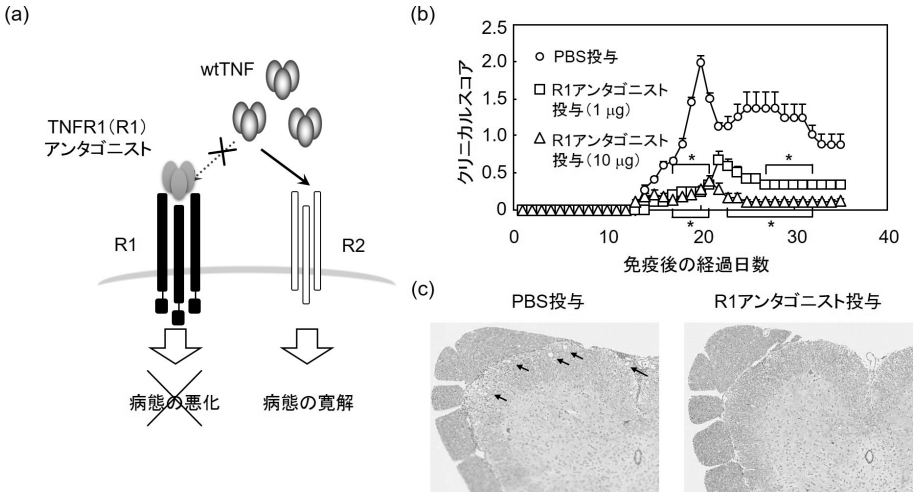

図 1　多発性硬化症の治療を目指した TNFR1 結合選択的アンタゴニストの創出
（a）研究戦略，（b）多発性硬化症モデルに対する抗炎症効果，（c）脊髄における脱髄症状，矢印は脱髄箇所

り，この R1 アンタゴニストが単に炎症反応を抑えているのみではない可能性を明らかにした（図 1）．このように，ファージディスプレイ法という分子生物学的手法を駆使することで，有効性と安全性を両立可能な新しい機能性タンパク質を創出し，難治性疾患に対する有用性を示すことができた．「ヒトに役立つ薬を開発したい」と思い選んだ研究室であったが，博士課程まで進学することは，正直考えてもみなかった．特に博士課程の 3 年間は，学位を取得するという目標に向かってもがき苦しみ，今でも思い出すと胃が痛くなる記憶がほとんどであるが，そのお陰か少しは人前でプレゼンすることにも慣れたし，得られた研究成果を通じ学会で賞をいただくこともできた．また，そのような生活を乗り越えられたことがその後の研究生活の糧にもなっている．また筆者は，同じ苦労を分かちあう多くの同期にも恵まれた．こうした人間関係は，一生の宝物であるし何事にも変え難いと感じている．

3. 帝京大学での研究

筆者は博士課程を修了後，大阪大学薬学部薬剤学分野の大先輩である宇都口直樹教授にお声をかけていただき，丸山一雄先生が主任教授として主宰される帝京大学薬学部生物薬剤学教室にて助教としての職に就いた．着任してからの 2 年間は，当時神奈川県の相模原市にある相模湖キャンパスにて研究生活を行った．土地勘の無い方が神奈川県と聞くと，海の見えるおしゃれな街にキャンパスがあるのかと思われるかもしれないが，相模湖は山梨県のそばにあり，正に近くにあるのは海ではなく山や川である．研究室の学生とともに近くの川辺でバーベキューをしたり，川で魚を採ったりと，自然あふれる環境の中で学生時代に戻ったような体験をすることができた．2012 年 4 月には，キャンパスが東京都板橋区へと移転し，それに伴い筆者も製剤学研究室の助教として新たにスタートをした．相模湖キャンパスとは対称的に，板橋キャンパスは都内の大学附属病院に隣接し，都心に位置している．

さて，筆者が帝京大学で最初に所属した生物薬剤学研究室では，丸山一雄先生によるバブルリポソームに関する研究が推進されていた一方で，筆者は宇都口教授の下，がん血管をターゲットとしたワクチン製剤・抗体医薬の開発に関する研究を行うことになった．筆者は，学生時代リウマチなどの自己免疫疾患に関する研究を主に行ってきたため，がん研究に対する最新の知識はほとんど有していなかった．そのため，様々な論文を読みあさって現在の研究状況を知るところからはじめた．がん血管は，がんの増殖や転移過程で誘導され，栄養・酸素の供給路として働いており，血管形成阻害ががんの有効な治療法になることが広く知られている．がん血管には，膨大な数のがん細胞が依存して存在していることから，がん血管を傷害することは極めて効率が良い治療法になると考えられる．また，がん血管を構成するがん血管内皮細胞（Tumor endothelial cell：TEC）は，宿主由来の血管内皮細胞から誘導された

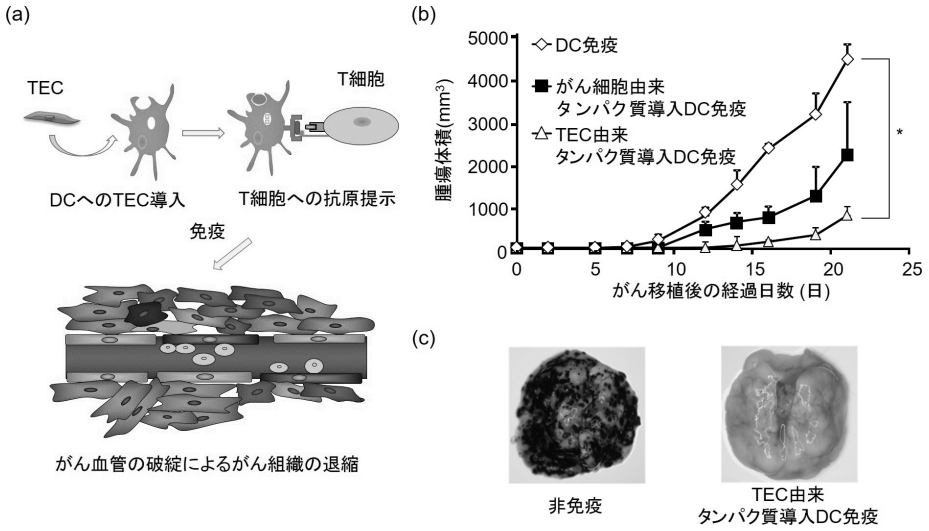

図 2　がん血管を標的としたワクチン療法による抗腫瘍効果の検討
（a）研究戦略，（b）固形がんマウスに対する腫瘍増殖抑制効果．（c）肺転移モデルマウスに対する転移抑制効果

ものであるため，構築されるがん種に依ることなくあらゆるがん種に適用可能な汎用性の高い治療法になると期待される．しかし，既存の血管新生阻害薬のターゲット分子は，生理的な環境下で誘導される血管新生においても重要な役割を担っており，こうした医薬品の使用により創傷治癒遅延などの副作用が生じてしまうことが明らかとなっている．そこで筆者は，がん血管を選択的に傷害する治療法の開発を目指してがん血管を標的としたがんワクチン療法に関する研究を進めた（図 2）．TEC は，特異的な分子も同定されていないことからがん組織からの単離・培養が困難であり，特異的な治療法が開発されていないこともわかってきた．そこで，まず細胞密度の違いと血管内皮細胞で高活性を示すアンギオテンシン変換酵素（Angiotensin-converting enzyme：ACE）を指標に，TEC の同定を試みた．その結果，がん組織の中には，ACE が高値を示す画分が存在し，その画分に含まれる細胞には血管内皮細胞のマーカー分子である CD34 の発現が確認できた．そこで，得られた TEC を抗原として樹状細胞へと導入しマウスへと免疫すると，がん細胞を標的とした免疫と比較して効率よくがん増殖が抑制された[4]．また，組織学的な解析をしてみると，がん血管を抗原として用いた免疫によりがん血管の形成が阻害され，がん血管数が減少していることを明らかにした．さらに，異なるがん種で構築されるがん血管を抗原として利用した場合においても，同種由来の血管を用いた場合と同様にして効果を発揮することを示した．その上，がん血管を標的とした免疫療法は，既存の血管新生阻害薬により問題となっている創傷治癒に対する抑制作用は有しておらず，がん組織選択的な血管新生の阻害を可能にすることを実証した．このように筆者は，がん増殖に重要であることが知られているがん血管を選択的に傷害できる免疫療法を新たに開発し，既存の治療法における問題点を克服できる可能性を示した．現在は，本免疫療法によって誘導される免疫細胞の詳細な解析を行っている．

一方で，将来的な医薬品化を考えた場合には，がん血管特異的な分子の同定と分子標的薬の開発も重要であると考えた．そこで筆者は，学生時代より駆使してきたファージディスプレイ法を用いることで，TEC 特異的な抗体の創出を目指した研究を行うことにした．まず，TEC 表面の膜タンパク質をマウスに免疫することで，TEC を構築するタンパク質に対するありとあらゆる抗体を誘導した．得られた抗体遺伝子ライブラリをファージウイルスのゲノムへと挿入し大腸菌へと遺伝子導入することで，様々な抗体がファージウイルス上に個別に提示された免疫ファージ抗体ライブラリを構築した．この中から，真に TEC に選択的に結合する抗体を選別するために，がん血管に対する結合親和性を指標にスクリーニングを行った．前述したように，がん血管は正常血管と比較して共通に発現するタンパク質が多数存

在すると考えられる．そこで，構築した抗体ライブラリを，あらかじめ正常血管へと作用し結合するものを除いた後，がん血管へと作用することでがん血管に選択的な抗体の単離を進めた．結果的に，TEC に選択的に結合する抗体を同定することに成功し，この抗体は，実際にがん患者の組織に存在するがん血管と正常血管とを識別することが可能であることも明らかにしている．現在は，創出した抗体の詳細な機能解析と DDS 治療への応用に関して引き続き検討を進めている．

4. 昭和薬科大学での研究

筆者は，2016 年 8 月より現職の昭和薬科大学薬剤学研究室に移り，研究を行っている．昭和薬科大学は，東京都町田市に位置する薬系の単科大学であり，2020 年には創立 90 周年を迎える歴史ある大学である．現在，がん血管とは異なるがん増殖関連構造としてがん擬似血管（Tumor vasculogenic mimicry：TVM）を新たながん治療標的として捉え，創薬研究を進めている．TVM は当初ヒトメラノーマにおいて発見されてきた構造であり，宿主の血管内皮細胞から構築されるがん血管とは異なり，がん細胞によって組織されていることが明らかとなってきている．さらには，TVM には血流が存在することも知られており，がん組織に栄養や酸素を供給するなど，がん血管と類似する機能も保持していることが報告されてきている．そこで現在筆者は，これまでに培ってきたファージディスプレイ法とがん免疫療法の技術を駆使して，TVM を標的とした新規治療戦略の確立を進めている．

5. お　わ　り　に

以上，これまでの研究生活を振り返って，実に多くの先生方にお世話になってきたのだということを改めて実感させられる．これまでに所属した大学・研究機関それぞれに特色があり，その中で教育・研究をさせていただく機会を得られたことは，筆者の研究内容の幅を広げただけではなく，物事に対する価値観を再構築するために大変重要であったと感じている．今後は，そうして得られた新たな価値観も大切にしつつ，自身が研究者となるきっかけとなった「ヒトに役立つ薬を開発したい」という想いを胸に，研究を続ける所存である．

最後になりましたが，学生時代，研究室に配属され，研究の面白さを教えていただき，時に厳しくもご指導下さった中川晋作先生，堤康央先生，また大学教員としてのキャリアをスタートするにあたり大変お世話になりました丸山一雄先生，鈴木亮先生（帝京大学薬学部准教授），そして今日に至るまで研究・教育両面において，言葉にはしつくせない程お世話になっております宇都口直樹先生に深く御礼申し上げます．さらに今回，これまでの研究生活を振り返るきっかけを与えていただきました薬剤学編集委員会の皆様に御礼申し上げます．

引　用　文　献

1) T. Nomura, Y. Abe, H. Kamada, M. Inoue, T. Kawara, S. Arita, T. Furuya, Y. Yoshioka, H. Shibata, H. Kayamuro, T. Yamashita, K. Nagano, T. Yoshikawa, Y. Mukai, S. Nakagawa, M. Taniai, T. Ohata, S. Tsunoda, Y. Tsutsumi, Novel protein engineering strategy for creating highly receptor-selective mutant TNFs, *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **388**, 667–671 (2009).
2) T. Nomura, Y. Abe, H. Kamada, M. Inoue, T. Kawara, S. Arita, T. Furuya, Y. Yoshioka, H. Shibata, H. Kayamuro, T. Yamashita, K. Nagano, T. Yoshikawa, Y. Mukai, S. Nakagawa, S. Tsunoda, Y. Tsutsumi, Creation of an improved mutant TNF with TNFR1-selectivity and antagonistic activity by phage display technology, *Pharmazie*, **65**, 93–96 (2010).
3) T. Nomura, Y. Abe, H. Kamada, H. Shibata, H. Kayamuro, M. Inoue, T. Kawara, S. Arita, T. Furuya, T. Yamashita, K. Nagano, T. Yoshikawa, Y. Yoshioka, Y. Mukai, S. Nakagawa, M. Taniai, T. Ohta, S. Serada, T. Naka, S. Tsunoda, Y. Tsutsumi, Therapeutic effect of PEGylated TNFR1-selective antagonistic mutant TNF in experimental autoimmune encephalomyelitis mice, *J. Controlled Release*, **149**, 8–14 (2011).
4) T. Nomura, K. Hirata, T. Shimaoka, M. Yamakawa, N. Koizumi, R. Suzuki, K. Maruyama, N. Utoguchi, Cancer vaccine therapy using tumor endothelial cells as antigens suppresses solid tumor growth and metastasis, *Biol. Pharm. Bull*., **40**, 1661–1668 (2017).