

研究成果報告

研究課題 構造特異抗体によるアポ A-I 体内動態評価法の開発と疾患バイオマーカーとしての応用

研究期間 平成 29 年 4 月 1 日～令和 2 年 3 月 31 日

1)研究目的

本研究では、高密度リポタンパク質 (HDL)の主要構成成分であるアポリポタンパク質 A-I (アポ A-I)の構造機能異常と、動脈硬化性疾患や全身性アミロイドーシスなどの病態発症との関連に着目し、本学と神戸薬科大学との共同研究によって、アポ A-I の構造特異抗体を新規に設計・作製して、アポ A-I の構造機能異常の評価方法を確立することで、アポ A-I 関連疾患の病態解明ならびに新規疾患バイオマーカーの開発につながる成果を得ることを目的とした。

2)実施内容

全身性アミロイドーシスを引き起こすアポ A-I アミロイド線維の特異的検出を目的として、Iowa (G26R) 変異型ヒトアポ A-I の N 末 1-83 フラグメント (アポ A-I1-83/G26R) が形成するアミロイド線維でマウスを免疫し、アポ A-I アミロイド線維構造を特異的に認識する抗体を作製した。開発した抗アポ A-I 線維抗体について、アポ A-I 変異体のアミロイド線維及び α -シヌクレイン線維に対する反応性を評価し、構造認識特性を調べた。さらに、開発した抗体のアミロイド線維に対する結合様式を推定するため、ドッキングモデル解析を行った。

3)研究成果

スクリーニングの結果、アポ A-I のモノマーには結合せず、アミロイド線維を選択的に認識する 4 種類の抗アポ A-I 線維抗体が得られた。これらの抗体は、アポ A-I 線維に対して既報の抗アポ A-I 抗体 (*Sci. Rep.* 7, 2988, 2017) と同等の親和性を示し、また、アポ A-I と配列相同性がない α -シヌクレインのアミロイド線維にも結合性を示したことから、アミロイド線維に共通の構造特性を認識することが示唆された。本研究結果について、日本薬学会年会や日本膜学会年会等においてポスター及び口頭発表を行うとともに、本研究結果をまとめた原著論文が欧州生化学会連合が発行する *FEBS Journal* に掲載された。

4)研究組織

<本学>

研究代表者 斎藤 博幸 (京都薬科大学・薬学部・教授)

研究分担者 扇田 隆司 (京都薬科大学・薬学部・助教)

<共同研究先>

研究代表者 小林 典裕 (神戸薬科大学・薬学部・教授)

研究分担者 大山 浩之 (神戸薬科大学・薬学部・助教)

研究分担者 森田 いずみ (神戸薬科大学・薬学部・助手)

成果発表

1)原著論文

1. Novel conformation-selective monoclonal antibodies against apoA-I amyloid fibrils. Ohgita T., Furutani Y., Nakano M., Hattori M., Suzuki A., Nakagawa M., Naniwa S., Morita I., Oyama H., Nishitsuji K., Kobayashi N., Saito H. *FEBS J.* 査読有, 288(5), 1496-1513 (2021).

2)産業財産権

3)招待講演

4)学会発表

1. 古谷優樹、中村光希、三河志穂、扇田隆司、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: アミロイド線維の高感度検出に向けた apoA-I 構造特異抗体の開発. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(京都), 2017.10.

2. 扇田隆司、斎藤博幸: アミロイド構造を認識する新規 apoA-I 構造特異的抗体の開発. 第 7 回 4 大学連携研究フォーラム(京都), 2017.11.

3. 扇田隆司、服部恵美、古谷優樹、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: ApoA-I アミロイド構造を特異的に認識する新規モノクローナル抗体の開発. 第 6 回日本アミロイドーシス研究会学術集会(松本), 2018.8.

4. 扇田隆司、服部恵美、古谷優樹、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: 新規モノクローナル抗体を用いた ApoA-I 高次構造変化の検出. 第 16 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム(三浦), 2018.9.

5. 扇田隆司、古谷優樹、服部恵美、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: ApoA-I アミロイド線維検出のための新規構造特異抗体の開発. 第91回日本生化学会大会(京都), 2018.9.

6. 服部恵美、中川美穂、原田航吉、古谷優樹、扇田隆司、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: 抗 ApoA-I 線維モノクローナル抗体の反応特異性の評価. 第 68 回日本薬学会近畿支部大会(姫路), 2018.10.

7. 古谷優樹、服部恵美、扇田隆司、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: アミロイド構造を識別可能な新規モノクローナル抗体の開発. 第 8 回 4 大学連携研究フォーラム(京都), 2018. 11.