

HER2 抗原分解能を有する Catalytic Trastuzumab の生化学的性質とがん細胞傷害性

(大分大院工¹・大分大医²・鈴鹿医療大薬³・九州先端研⁴・大分大研究マネジメント⁵・大分大グローバル感染研⁶) ○辻田 萌¹・八尋 隆明^{2,6}・田口 博明³・宇田 泰三^{2,4}・一二三 恵美^{5,6}

Biochemical features and cytotoxicity of cancer cells by Catalytic Trastuzumab capable of degrading HER2 antigen (¹*Grad. Sch. Eng., Oita Univ.*, ²*Oita Univ Med*, ³*Suzuka Univ. Med. Sci.*, ⁴*Open Lab., ISIT*, ⁵*Inst. Res. Mgmt., Oita Univ.*, ⁶*Res. Ctr. GLB./LCL. Inf. Dis., Oita Univ.*)
○Moe Tsujita,¹ Takaaki Yahiro,^{2,6} Hiroaki Taguchi,³ Taizo Uda,^{2,4} Emi Hifumi^{5,6}

HER2 is a transmembrane protein and participates in cellular differentiation and growth. About 30% of breast cancer overexpress HER2 molecule. Trastuzumab was developed as a therapeutic drug for metastatic breast cancer. Generally, antibody drugs targeting cancer exhibit the function through ADCC and they do not decompose the antigens. We developed an innovative method that directly converts a conventional antibody to the catalytic antibody. In this study, we produced a Catalytic Trastuzumab (Tmb-scFv-PPA) by deleting Pro95 and Pro96 in the light chain from the wild type, Tmb-scFv(wt). The K_D values were almost the same. Tmb-scFv-PPA degraded FRET-HER2 peptide while Tmb-scFv(wt) did not. Tmb-scFv-PPA induced cytotoxicity in breast cancer cells and triggered apoptosis-mediated cell death.

Keywords : HER2; Trastuzumab; Catalytic antibody; Cytotoxicity

HER2 は分化や増殖に関わる膜貫通型のタンパク質であるが、乳がんの約 30%において過剰発現が認められている。ヒト化抗体 Trastuzumab(Tmb)はその HER2 を標的とする転移性乳がんの治療薬として開発された。がんに対する抗体医薬品は ADCC 等のエフェクター作用で効果を示すものが多い。また、抗原を直接分解する機能は有していない。当研究室では抗体を抗体酵素に変換する手法を見出しており^{1,2)}、本研究ではこの手法を Tmb へ適用し、Catalytic-Tmb を作製しその機能について調べた。

既報に従い、野生型 scFv(Tmb-scFv)の軽鎖に存在する Pro95 及び Pro96 を欠失させた変異型 scFv(Tmb-scFv-PPA)を作製し、抗原分解能を持たせた。抗原ペプチド分解活性試験では、Tmb や Tmb-scFv が殆ど分解活性を示さないのに対し、Tmb-scFv-PPAは高い分解活性を示した。また、解離定数 (K_D) を求めたところ、Tmb-scFv-PPA、Tmb 共に約 10^{-8} M と、ほぼ同等であった。乳がん細胞を用いる細胞傷害性試験は、Tmb が HER2 homodimer 形成阻害によるがん細胞増殖抑制効果を示すことから、ADCC や CDC が機能しない条件で、HER2 homodimer 形成に対する影響を調べた。その結果、Tmb を作用させた細胞では、単純な増殖抑制が検出されたのに対して、Tmb-scFv-PPAでは強い細胞傷害が起こり、活性化カスパーゼが検出された。これは、Tmb-scFv-PPAによる Apoptosis 誘導を示唆する結果であり、Tmb 酵素化の意義とその有用性を示すことができた。

1) Hifumi et al., *Science Advances*, **6**(13), eaay6441(2020).

2) Hifumi et al., *Scientific Reports*, (2024) **14**:12184.