

植物を利用した医薬品の生産

帝京大学理工学部 岡田吉美

遺伝子工学の誕生によって、植物細胞に外来遺伝子を導入し、発現させるというまったく新しい技法が生まれた。その技法を利用して種々の有用なトランスジェニック植物が作出され、その成果はすでに身近なものとなっている。アメリカでは日持ちのよい組換えトマト「FLAVR SAVR」が、昨年よりスーパーマーケットに登場し、日本でもいくつかの組換え植物の野外栽培が始まった。これと同じ技法を使って「植物を利用して有用物質を生産する」発想が生まれ、分子農業(Molecular Farming)と呼ばれる新分野が、いまその幕開けを迎えようとしている。この技法が確立されれば、穀物や野菜、果物などを食糧としてつくる農業に代わって、医薬品などの有用物質をつくることを目的とした新しい農業が生まれることになる。現在までに、温室のレベル以上で成功している植物での医薬品生産の代表例を表1および表2に示したが、特にワクチン生産の新しい原料として期待されている。

1. 組換え植物を利用する方法。

外来遺伝子産物の大量生産系として最初に注目されたのは種子の貯蔵蛋白質である。一般に高等植物の種子には、発芽するときの栄養源となる貯蔵蛋白質が、種子重量の約15-30%含まれている。それらの多くは細胞のプロテインボディと呼ばれるオルガネラの中で、集合体として分離して存在しているので、あとの精製にも都合が

よい。このような利点を利用して、組換え貯蔵蛋白質を用いたエンケファリンの生産がナタネで成功している。

しかし最近では、通常組換え植物作出の方法で有用蛋白質を生産する技法が多くとられている。特に新しいワクチン源としての組換

表1 組換え植物を利用した医薬品の生産の例

タバコ	種々のモノクロナール抗体 分泌型モノクロナール抗体(<i>S.mutans</i>) 抗原蛋白質(HBV)
ダイズ	モノクロナール抗体(BR96)
ジャガイモ	抗原蛋白質(enterotoxin)
カブ	インターフェロン
ナタネ	エンケファリン

え植物が注目されている¹⁾。

抗原を植物で生産する試みは、B型肝炎ウイルス抗原や大腸菌のエンテロトキシンで試みられている。アルカロイドなどの植物性毒性物質の除去法が確立されれば、安い大量生産系となる可能性がある。また植物で発現した抗原は、将来”食べるワクチン”としても期待されている²⁾。

植物におけるモノクロナール抗体(IgG)や分泌性モノクロナール抗体(IgA)の生産例もいくつか報告されている。これらはすべて、それぞれの蛋白鎖(IgGではL鎖とH鎖、分泌性IgAではL鎖、H鎖、J鎖、SC鎖)を発現している組換えタバコを交配することによって、モノクロナール抗体を生産するタバコを作出するという技法で行われている。植物では単一細胞で活性のある抗体分子の会合が行われることが確かめられており、特にJ鎖やSC鎖の会合も必要とする分泌性IgAの大量生産系として有望視されている³⁾。

2. ウイルスベクターを利用する方法

植物に外来遺伝子を導入するベクターとして最初に検討されたのは、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)であった。CaMVは当時知られていた唯一の2本鎖DNAウイルスであったからである。ついでRNAウイルスについてもcDNAクローンを介してのRNAベクターの作製が可能になった。

組換え植物を利用する場合、外来遺伝子は植物細胞の核ゲノムに導入されているから、そのコピー数はごく限られたものになる。それに対してウイルスベクターは、ゲノムと関係なく自己複製することができるから、高いコピー数まで増殖可能

である。また導入法もウイルスの感染力を利用するので極めて簡単である。

ウイルスベクターとして最も広く利用されているのは

表2 ウイルスベクターを利用した植物での医薬品生産の例

タバコ	トリコサンチン インターフェロン エンケファリン 血圧降下ペプチド(ACEI) 動物ウイルスエピトープ(HIV, FMDV, HRV, Infla.) マラリア抗原エピトープ 透明帯ペプチド
トマト	血圧降下ペプチド(ACEI)
カブ	インターフェロン

タバコモザイクウイルス(TMV) ベクターである。

TMV には130K、180K、30K およびコート蛋白質(CP)の4種類の蛋白質がコードされている(図1)。180K蛋白質は130K蛋白質の終止コドンが部分的にサブレスされたリードスルー蛋白質である。130K蛋白質と180K蛋白質はゲノムRNAの複製を行うRNAポリメラーゼである。30K蛋白質はTMVが感染細胞から隣の非感染細胞に広がる(細胞間移行)ために必要な蛋白質で、moving proteinと呼ばれる。またTMVが感染葉から非感染葉で広がる(遠距離移行)ためには、ウイルス粒子の形成が必要で、CPの欠損株やウイルス粒子を形成できない変異株は、感染葉では広がるが、全身感染はできない。従ってTMVをベクター化する場合、CP遺伝子を取除き代わりに外来遺伝子を挿入するという方法(図1A)や、粒子形成のできない外来遺伝子との融合CPをつくる方法(図1B)では、全身感染可能なベクターを構築することができない。そこで我々は、図1Cに示した方法でウイルス粒子形成可能なTMVベクターを構築した⁴⁾。

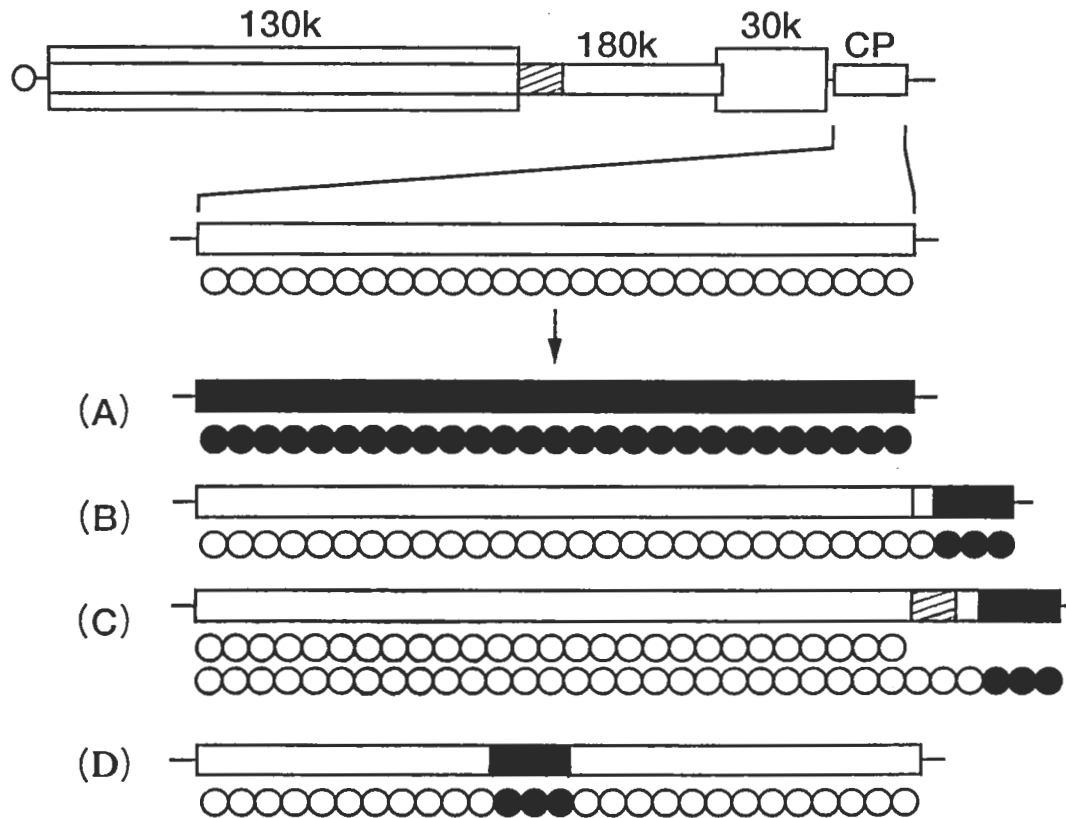


図1 TMVのゲノム構成とCP遺伝子を改変したベクター
 □ : TMV 遺伝子、■ : 外来遺伝子、□ : 3'CS、
 ○ : TMV 蛋白質、● : 外来遺伝子、

TMV の180K蛋白質は、130K蛋白質の終止コドンのリードスルーによって合成される。それは130K蛋白質遺伝子の終止コドンに続く6塩基の配列が、リードスルーの機能に有効だからである。我々はこの配列(3' context sequence: 3' CS)をTMVのCP遺伝子の終止コドンの次に挿入し、そのあとに外来遺伝子の配列をつなぐ方法を考えた(図1C)。このようなTMVベクターでは、CP遺伝子の翻訳の大部分は本来の終止コドンで停止するが、3'CSのため一部はサプレスされて外来遺伝子との融合CPも同時に合成されると考えたからである。そうすればTMVベクターの粒子形成は可能になり、全身感染ベクターとして機能するはずである。

このベクターの有効性は、血圧を下げる活性をもつアンジオテンシン転換酵素阻害ペプチド(ACEI)の遺伝子を挿入したベクターで確かめられた⁴⁾。ベクターはトマトの場合、実でもACEIを発現した。血圧をさげるトマトがこの方法で生まれるかもしれない。

TMV-ACEIベクターを感染したタバコからベクターを精製し、そのCPを分析したところ、ベクター粒子にはCPだけでなく、CP-ACEIも一緒に組込まれていることがわかった。ベクター粒子中のCP:CP-ACEIの比は約20:1で、これは感染葉抽出液全体の比とほぼ等しく、したがって合成されたCP-ACEIは効率よくベクター粒子に組込まれていると思われる。CPのC末端がTMV粒子の表面に出ていることを考慮すると、ベクター粒子は図2Aのように、外来ペプチドを粒子表面に提示した形をとっていると推定される。ベクター粒子をトリプシン処理すると、ACEIが粒子から分離することも図2Aのモデルを裏付けている。

我々はこのベクターを用いて、インフルエンザウイルスHA蛋白質由来のエピトープ2種、およびHIVgp120由来のエピトープ1種について同様の実験を行っ

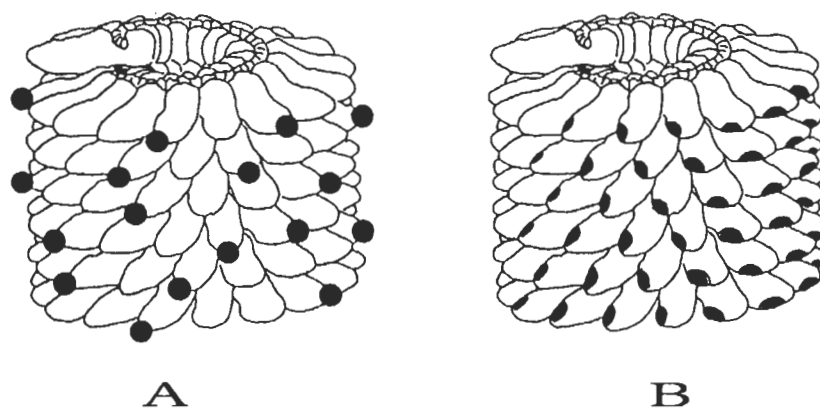


図2 エピトープを表面に提示したTMV粒子

た⁵⁾。いずれの場合もベクターは全身感染し、ACEIの場合と同様、図2 Aに示すようなTMV 粒子がえられた。それぞれのTMV 粒子はそれぞれの抗ペプチド抗体と特異的に反応した。

CPの表面に出ているループ領域をマラリア抗原のエピトープと置換したキメラTMV (図1 D) も最近作製された⁶⁾。このキメラTMV は図2 Bのようなウイルス粒子と推定され、マウスでエピトープに対する抗体を生産することも確かめられている。

キメラTMV の収量は図2 A型で1-2mg/g 感染葉、図2 B型で0.4mg/g 感染葉である。このように表面にエピトープを提示したウイルス粒子は安価に生産され、精製も容易であるから、ワクチン効果が発現されれば将来利用される可能性が高い。特にワクチン効果をもったウイルスを接種した野菜や果物は、国民一人当たりの医療予算が低い国々での食べるワクチンとして期待されている。

この外、卵細胞を取り巻く透明帯の糖蛋白質のエピトープをTMV に組み込み、自己抗体の発現に成功した例も報告されている⁷⁾。

3. 分子農業への期待

植物を利用して医薬品を生産する分子農業は **Plant Bioreactor Production** とも呼ばれ、すでにアメリカでは実用化への第一歩が始まっている。

植物でワクチンのような複雑な生物製剤の生産が可能になれば、その生産コストが大幅に下がることが期待され、また動物細胞を利用する場合に比べて、病原性をもった微生物などの混入するリスクを低く抑えられると期待される。また需要の増減に対しては単に栽培面積の増減で対応することができ、設備の増設、廃棄などや、それに伴う反応条件の再検討などを必要としない。

分子農業は農業の付加価値をあげる新しい農業として、その将来性が注目されている。

- 1) A.S.Moffat, *Science*, 268: 658 (1995)
- 2) T.A.Haq et al., *Science*, 268: 714 (1995)
- 3) J.K.C.Ma, et al., *Science*, 268: 716 (1995)
- 4) H.Hamamoto et al., *Bio/Technonogy*, 11: 930 (1993)
- 5) Y.Sygiyama, et al., *FEBS Letters*, 359: 247 (1995)
- 6) T.H.Turpin et al., *Bio/Technology*, 13: 53 (1995)
- 7) J.Fitchen et al., *Vaccine*, 13: No.10 (1995)