

# インスリン製剤の変遷をたどる

第5回

# 遺伝子工学によるヒトインスリン製剤

●栗田 卓也 (埼玉医科大学内分泌・糖尿病内科)

動物インスリンはもっぱらブタとウシの膵臓からインスリンが抽出されていたが、インスリンを産生するβ細胞は少なく、1人の糖尿病患者が1年間に使用するインスリンをまかなうには約70頭のブタを必要とした。糖尿病患者は増加しつつあり、遅からず危機的な状況が到来することが危惧されたが、1970年代になって飛躍的に進歩した遺伝子工学技術が救いとなった。遺伝子組み換えによるヒトインスリンが激しい競争の末に数年の間に製品として発売されることになる。それは、新たな遺伝子工学産業の先駆けでもあった。

## 人工遺伝子によるヒトインスリン製剤

前回(2012年2月号:連載第4回)のミニコラムで紹介したように、カリフォルニア大学サンフランシスコ校(UCSF)のグッドマン研究室とハーバード大学のギルバート研究室が、ラットインスリン遺伝子(cDNA)のクローニングに成功するが、その少し前の1976年にUCSFの別のグループのボイヤーはサンフランシスコの投資会社に勤んでいたスワンソンに誘われて、遺伝子組み換え技術の臨床応用を目指したベンチャー企業ジェネンテック社を創設した。ボイヤーらはその当時規制が厳格であったヒト遺伝子そのものの使用を避けて化学合成したDNAを自らが開発したプラスミドpBR322に組み入れて大腸菌の中で発現させることを試みることにし、DNAの化学合成に卓越したシティ・オブ・ホープ国立医療センターのリググスと板倉啓彦(図1)に協力を求めた。

彼らはまず、14個のアミノ酸からなるソマトスタチンの発現に成功し、世界で初めての組み換えDNAによるペプチド合成として1977年に発表した。ヒトインスリン合成プロジェクトは翌年早々に開始され、1978年8月には合成した60個のヌクレオチドからなるA鎖DNAと93個のB鎖DNAをプラスミドpBR322

に組み入れて大腸菌でA鎖とB鎖を別々に作ることができた。その後は、前回でも述べたA鎖とB鎖をS-S結合で組み合わせることで、8月下旬にヒトインスリンを作成することに初めて成功した。その時の収量はわずかに20ngであったが、9月6日にシティ・オブ・ホープで記者会見が行われ、遺伝子工学の初の実用化として世界中に報道された(図2)。

世界初のインスリン製剤アイレチンを発売したイーライリリー社は(2011年9月号:連載第2回)ヒトインスリン作成の成功が明らかとなった翌日にジェネンテック社と契約し、改良されたプラスミドを用いて大腸菌の大量培養によるヒトインスリン製剤の産生を開始した。製剤化に当たっては、特に大腸菌由来の不純物を除くことに細心の注意が払われたが、1980年からの臨床治験を経て、1982年にFDA(アメリカ食品医薬品局)認可され、1983年からヒューマリン(Humulin)として発売された(図3)。日本では1985年から認可された。組み換えDNA技術により作られた最初の医薬品であったが、同じ技術により成長ホルモン、インターフェロンなどの医薬品が続々登場することになる。

## プロインスリンを介したヒトインスリン製剤

ハーバード大学のギルバート研究室は、1978年5月にラットインスリン遺伝子(cDNA)のクローニングと大腸菌での発現に成功しヒトインスリンの作成を目指していたが、ジェネンテック社の記者会見を聞いて落胆することとなった。

一方、組み換えDNA実験の規制が緩いフランスで、ヒトインスリン遺伝子のクローニングを行っていたUCSFのウルリッヒらは、ヒトインスリンの作成で先を越されたあとでジェネンテック社に移ることになる。1979年末に、ウルリッヒは大腸菌でのヒトインスリン遺伝子(cDNA)のクローニングに成功する。その後、イーライリリー社はヒトインスリン遺伝子を組み

込んで作成したプロインスリンから二本鎖ヒトインスリンを作成する方法に切り替えている。一方、ノボ ノルディスク社は独自のミニプロインスリン遺伝子をパン酵母で発現させることにより、ヒトインスリンの大量生産を行っている。

## 新たな時代の幕開け

ヒトインスリンが製剤化されると、またたく間に臨床に使用されるインスリンのほとんどがヒトインスリン製剤となった。その前に発売されていたモノコンポーネントインスリンの純度は高く、ヒトインスリン製剤の登場により糖尿病治療が著

しく改善することにはならなかったが、遺伝子組み換え技術でのヒトインスリンの出現は、インスリン製剤開発の終焉ではなく新たな始まりであった。皮下注射によるインスリン投与という制約のために、ヒトインスリンでは生理的なインスリン分泌を模倣することは困難であり、新たなインスリン製剤を開発する必要性が明らかとなっていった。

### 参考書籍

- 1) 丸山工作著. 新インスリン物語. 東京化学同人, 1992.
- 2) 葛谷健. 糖尿病の歴史(連載). 肥満と糖尿病 0000; 00: 00~00.
- 3) 葛谷健編. インスリン 分子メカニズムから臨床へ. 講談社, 1996.
- 4) ロバート・L・シュック著. 新薬誕生 100万の1に挑む科学者たち. ダイアモンド社, 2008.

## ミニコラム



### インスリン遺伝子と糖尿病

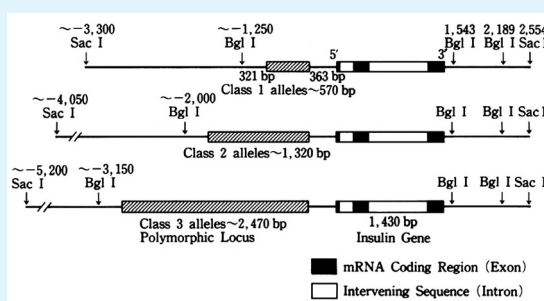
インスリンは血糖を下降させる唯一のホルモンであるため、ヒトインスリン遺伝子が同定される前から、糖尿病ではインスリン遺伝子あるいはその調節領域に異常があるのではないかと考える人も少なくなかった。1980年にグレム・ベルらによりヒトインスリン遺伝子が同定されると(第4回のミニコラム)、糖尿病の遺伝素因における役割が実際に検討されることとなった。糖尿病の遺伝素因研究の歴史においてインスリン遺伝子は主役ではないものの三たび登場するに至っている。

まず、異常インスリンや異常プロインスリンが分泌される糖尿病症例が1979年以来報告され、1983年以降にインスリン遺伝子変異が明らかとなった。患者は変異のヘテロであり、正常なインスリンが半分しかないため健常者の2倍のインスリン分泌を強いられ、その他の発症要因も加わり発症するものと考えられている。日本でも筆者を含めて数種類の変異の報告はあるが、きわめてまれな疾患である。

次に、インスリン遺伝子上流の多型と1型糖尿病との関連が明らかとなった。インスリン遺伝子の約400ヌクレオチド上流に著明な多型が存在することが1982年に報告された。この部位は繰返し配列であり、その長さによりクラス1、

クラス2、クラス3に分類される(図4)。この多型は転写調節部位に近接していることから、インスリン遺伝子発現への影響が考えられ、当初は2型糖尿病との関連の可能性が注目された。しかし、イギリスのジョン・トッド(図5)らによる白人における詳細な解析により、HLAに次ぐ2番目に重要な1型糖尿病感受性遺伝子であることが判明した。日本人ではこの部位はほとんどがクラス1であるため解析が困難であったが、国内多施設共同研究により筆者らは日本人1型糖尿病との関連を明らかにしている(J Clin Endocrinol Metab誌、2007年)。関連の理由として、胸腺におけるインスリン(プロインスリン)に対する免疫寛容への多型の影響が示唆されている。

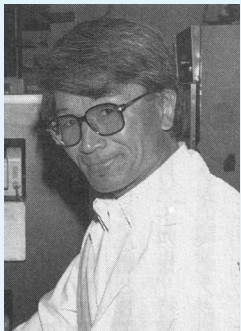
最後に、生後すぐに発症する新生児糖尿病においてインスリン遺伝子変異が発見された。ごく最近の2007年のことであるが、永続型の新生児糖尿病において2番目に多い変異であることがその後判明し、まれではあるがMODY(若年発症成人型糖尿病)と呼ばれる病型や自己免疫陰性の1型糖尿病などにおいても同定されている。構造異常のプロインスリンが小胞体に蓄積することによりβ細胞がアポトーシスを起こすなどがその病因と考えられている。



▲ 図4 ヒトインスリン遺伝子およびその上流の多型性部位(1984年のDiabetes誌)



▲ 図5 ジョン・トッド

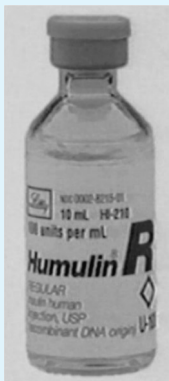


▲ 図1 板倉啓彦



図2▶

インスリン合成を伝える新聞記事



▲ 図3 組み換えDNAによる最初のヒトインスリン製剤