

氏名	大崎 智弘
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	第6297号
授与報告番号	乙第2810号
学位授与年月日	平成28年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当者
学位論文名	癌関連抗原を標的とする高機能人工抗体の創製に関する研究
論文審査委員	主査教授 北村 昌也 副主査教授 田辺 利住 副主査教授 長崎 健

論文内容の要旨

抗体医薬は優れた分子標的能を特徴とする副作用の少ない治療薬であり、癌や自己免疫疾患などの難治性疾患分野を中心にその市場を拡大してきた。一方で、近年の抗体医薬品産業は標的抗原の枯渇や高い治療コストといった課題に直面しており、従来の抗体医薬を凌駕する次世代型抗体医薬の開発が望まれている。本論文は、タンパク質を構成する個々の機能ドメインを人工抗体の構成単位と捉え、それらを遺伝子レベルあるいはタンパク質レベルで連結することによって、癌関連抗原を標的とする高機能人工抗体を創製した研究成果をまとめたものである。

本論文は全4章で構成した。

序章では、抗体医薬の特徴や課題、関連する抗体技術などの研究背景と本研究の目的について記述した。

第1章では、まず、ヘテロ四量体を形成する短鎖ペプチドの性質を利用した新規タンパク質連結手法について述べた。その手法を用いて、癌関連抗原とリンパ球表面抗原をそれぞれ認識する2種の抗体断片を連結した二重特異性抗体を作製し、分子形状や標的分子結合性、癌細胞傷害性などを評価した結果について記述した。その中で、作製した二重特異性抗体が市販の抗体医薬品セツキシマブに匹敵する癌細胞傷害性を示したことを示した。さらに、大腸菌発現系を用いて二重特異性抗体を調製できたことから、本手法が高機能人工抗体の微生物による安価かつ効率的な生産方法として有用であることを考察した。

第2章では、微生物を用いた生産が容易であり、安定性や溶解度などの物性面でも優れている単一ドメイン抗体を利用して、炎症性サイトカインの1種である腫瘍壊死因子 α との融合タンパク質を作製し、その機能を評価した結果について記述した。その中で、融合抗体が大腸菌発現系により可溶性タンパク質として効率的に生産できたことを示した。また、作製した融合抗体が標的癌細胞特異的な結合活性および腫瘍壊死因子 α の生物学的活性をともに有していたことを述べた。さらに、本融合抗体に関する分子設計の有用性ととも癌治療薬としての可能性を考察した。

第3章では、癌を標的とする高機能人工抗体の創製において、その機能単位として用いる抗体ドメインを新規に取得することを目的として、上皮増殖因子受容体特異的ラットモノクローナル抗体を作製し、その性質を調べた結果について記述した。その中で、ラット腸骨リンパ節法により、癌細胞上の標的分子を特異的に認識する2種のモノクローナル抗体を取得することができたことを示し、作製した2種のモノクローナル抗体の抗原認識領域は、市販の抗体医薬品セツキシマブと重複しないことを考察した。

本論文で記述した研究成果は、抗体を中心とするタンパク質工学研究に重要な知見を与えるとともに、癌を標的とする次世代型抗体医薬の創出に寄与することを総括として、結論とした。

論文審査の結果の要旨

近年、抗体医薬は、癌や自己免疫疾患などに対して効果的で副作用が少ない治療薬として注目されており、その市場は急速な成長を遂げている。一方、高コスト製造や大量投与に起因する治療費の高

騰が指摘されていることから、効果的かつ安価な治療用抗体の開発が求められている。本論文は、タンパク質工学技術を駆使した多角的なアプローチにより、癌関連抗原を標的とする高機能人工抗体の創製を目的とした研究の成果をまとめたものである。

抗体は、免疫グロブリンフォールドと呼ばれる立体構造を有する複数のタンパク質ドメインから構成されている。本論文の著者は、抗体のドメイン構造に着目し、自己会合する性質を有する短鎖ペプチドを利用して、ドメインを連結する手法の開発を行っている。この手法により作製した二重特異性抗体が、癌関連抗原とリンパ球表面抗原を同時に認識し、同一の癌関連抗原を標的とする市販の抗体医薬品と同等の癌細胞特異的傷害活性を有することを明らかにしている。これらは、高機能人工抗体を創製する上で、著者の開発したドメイン連結法が有用であることを裏付けるものである。

次に、本論文の著者は、サイトカインの一種である腫瘍壊死因子に着目し、単一ドメインから構成される抗体と遺伝子レベルで融合することにより、微生物発現系を用いてサイトカイン融合抗体を高効率に作製できることを明らかにしている。また、作製した融合抗体は、腫瘍壊死因子の三量体形成に伴う抗体結合価の増加により、標的癌細胞に対して優れた結合力を示すとともに、腫瘍壊死因子に由来する生物学的機能を保持していることを明らかにしている。

さらに、本論文の著者は、ラット腸骨リンパ節法を用いて、癌関連抗原を標的とする二種の新規抗体を作製し、それらが癌細胞に対して特異的に結合するとともに、同一抗原を標的とする既存の抗体医薬品セツキシマブと重複しない抗原認識領域に結合することを明らかにしている。これらは、高機能人工抗体を創製する上での構成単位として、作製した二種の抗体が有用であることを示す知見である。

以上、本論文の成果は、癌治療薬を指向する高機能人工抗体の分子設計に新たな知見を与えるものであり、タンパク質工学分野のみならず医薬分野の発展に大いに寄与するものである。よって、本論文の著者は博士（工学）の学位を受ける資格を有するものと認める。