

審査の結果の要旨

氏名 岩成 宏子

高齢化社会を迎えた日本においては、がんや免疫病・神経疾患など難治性疾患の効果的な治療法の開発が急務となっている。近年の遺伝子工学の発達により、抗体医薬はこれらの疾患に対して副作用の少ない劇的な効果が期待できる夢の新薬として注目を浴びている。しかし、治療効果の高い医薬としての抗体を作製するには、様々な問題点を克服することが必要である。特に、がん細胞膜に存在する膜タンパク質に対する抗体を作製することは、抗原調整の問題や免疫寛容の問題が大きいため、有効な治療薬の開発をさまたげている。

本研究は、東京大学先端科学研究センターで開発されたバキュロウイルスへのタンパク質発現システムを利用し、診断や治療に使用できる機能的抗体を作製する技術を開発し、これまで不可能とまで考えられていた膜タンパク質やその他の様々なタンパク質に対する抗体の作製を可能とした。

第一章では、抗体医薬の開発の歴史と意義についてまとめており、創薬標的となる抗原の性質と抗体作製の困難さについて述べている。また、バキュロウイルスディスプレイ（BV法）法について説明し、他の抗原調整法（免疫法）に比した優位性について、多数回膜貫通型トランスポータータンパク質を例として比較検討している。

第二章では、最大の創薬標的であり、抗原調整も抗体作製も困難なGタンパク質共役型受容体（GPCR）について、その特性と免疫戦略について述べている。バキュロウイルス上にディスプレイされた機能を保持したGPCRをマウスに免疫してモノクローナル抗体を得る手法を論じている。バキュロウイルスには免疫源性の高い表面抗原gp64が存在するため、これを遺伝的に組み込んだトランスジェニックマウスを利用することにより、免疫寛容を誘導し、目的の抗原に対する抗体の作製が誘導できることを示した。また、高次構造を保持した膜タンパク質の特にループ部位を認識する抗体を得るためのスクリーニング手法について論じている。これらの新手法により、ムスカリン性アセチルコリン受容体M2に対するモノクローナル抗体の作製に成功した。またアデノシン受容体を非活性型に固定する抗体を作製し、X線結晶構造解析によるG

PCRの活性化機構を明らかにするとともに、抗体を用いるドラッグスクリーニング法の可能性を示した。

第三章では、バキュロウイルスエンベロープに多数存在するgp64膜タンパク質に、任意のタンパク質の部分あるいは全長を融合タンパク質として発現させ、創薬のツールとなりうる高品質の抗体作製法について論じている。本手法では、50～100アミノ酸残基の抗原を容易に作製できるため、機能的ドメイン構造を保ったまま抗原として免疫可能である。免疫およびスクリーニング法の最適条件について検討し手法を確立することにより、通常の合成ペプチドによる免疫法では得られにくい免疫染色・免疫沈降・ELISAアッセイ・フローサイトメトリー等に使用することができる有用な抗体を250種類以上のタンパク質について樹立した。リンパ性白血病の治療診断として用いることが期待されているアスパラギン合成酵素に対するモノクローナル抗体を例として、詳述している。

第四章では、自己抗原および種間のアミノ酸配列相同性の高い抗原に対して抗体を作製する手法の開発について論じている。本研究の目的である創薬を目指した抗体の作製では、疾病の原因となる重要なタンパク質がターゲット抗原であるため、動物種間のアミノ酸配列が進化上保たれていることが多い。このような抗原には免疫寛容が成立しており、免疫反応が抑制されるため抗体が作られない。この自己抗原に対する免疫寛容を担っている制御性T細胞に着目し、この免疫担当細胞を除去することによって、寛容の機構を回避して自己抗原に対して抗体を作製する手法の開発について述べている。ヌードマウスは胸腺を欠失するためT細胞系が存在しない。このヌードマウスに同系のBALB/cマウスの脾臓細胞から免疫細胞を取り出し、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T細胞を除去した細胞群を選別して移入することにより、制御性T細胞を除いた免疫細胞を保持したマウスを作製した。このマウスに甲状腺から精製した自己抗原であるマウスサイログロブリンを免疫し、抗体価の上昇を得、またモノクローナル抗体を取得することに成功している。受容体からのシグナル伝達に重要なGタンパク質は種間相同性が高く抗体ができにくいことが知られているが、本手法により抗体が取得可能であることが示された。本研究は自己免疫疾患や腫瘍免疫および臓器移植で重要な課題となっている免疫寛容のメカニズムの解明に寄与するとともに、新しい免疫法を提唱している。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。