

氏名（本籍）	安藝 杏梨		
学位の種類	博 士（生物工学）		
学位記番号	博 甲 第 9860 号		
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	アトピー性皮膚炎の病態形成における ORAI1 を介した Ca ²⁺ シグナルの寄与		
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学准教授	博士（薬学）	木村圭志
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	柏原真一
副査	筑波大学講師	博士（学術）	大徳浩照

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、アトピー性皮膚炎（AD）における新規創薬標的候補としてCa²⁺チャネルの主要コンポーネントであるORAI1 タンパク質のADの病態における寄与を評価することを目的として、ORAI1 阻害抗体及び遺伝子改変マウスを作製し、薬理的検討を行い、その結果を記述したものである。

第一章で著者は、抗ORAI1 抗体を作出し、本抗体の結合の特異性、種差の評価を行っている。その結果、著者は抗ORAI1 抗体がヒト及びサルORAI1 の細胞外領域であるloop2 領域特異的に結合し、げっ歯類やその他の細胞外ドメインあるいはORAI2/3 には結合しないことを明らかにしている。続いて、著者は抗ORAI1 抗体のORAI1 阻害機能について評価を行い、その結果、抗ORAI1 抗体はT細胞において、ストア作動性のカルシウム流入を阻害し、サイトカインの産生が抑制されることを示している。また、*in vivo*での評価を目的として、著者はヒトORAI1 遺伝子ノックインマウスを作出し、抗ORAI1 抗体のマウス細胞におけるヒトORAI1 への結合及び阻害作用の確認を行っている。

第二章で著者は、AD の病態に寄与が知られている各種 T 細胞サブセットの分化及び活性化に関して抗 ORAI1 の抗体による阻害作用を評価している。その結果、著者は抗 ORAI1 抗体が臨床用量のカルシニューリン阻害剤とほぼ同程度の各種 T 細胞サブセットの分化及び活性の阻害活性を有していることを示している。さらに著者は、ヒト ORAI1 ノックインマウスを用いた検討において、T 細胞の活性化を抑制することを見出し、ORAI1 は *in vitro* のみならず *in vivo* においても T 細胞の活性化に大きく寄与することを明らかにしている。

第三章で著者は、ORAI1 特異的な阻害による、マスト細胞の脱顆粒への作用を検討している。その結果、抗 ORAI1 抗体がヒト ORAI1 ノックインマウス由来のマスト細胞の脱顆粒を有意に抑制すること

を示している。さらに、著者はヒト ORAI1 ノックインマウスに受身皮膚反応を誘導し、*in vivo*においても抗 ORAI1 抗体がマスト細胞の脱顆粒を抑制するか評価を行っている。その結果、抗 ORAI1 抗体は受身皮膚アナフィラキシーを用量依存的に抑制し、*in vivo*でもマスト細胞の活性化を抑制することを示している。

第四章で著者は、著者はアトピー性皮膚炎のモデルマウスにおいて ORAI1 の寄与を評価している。その結果、抗 ORAI1 抗体は臨床の中等度から重症アトピー患者の治療薬であるカルシニューリン阻害剤と同等以上の薬効で、投与後翌日から皮膚炎の症状を改善することを見出している。

審 査 の 要 旨

AD は患者数が最も多い皮膚疾患の一つであり、患者層の *heterogeneity* の高い疾患であるため、単独の治療標的では治療抵抗性の患者も存在すると考えられる。また、従来治療抵抗性の AD 患者の治療に用いられていた全身性のカルシニューリン阻害剤の処置は、安全性の面で腎障害等の問題点も多いため、AD には、安全で有効性の高い医薬品ニーズが潜在している。

ORAI1 タンパク質は、ヒトでのその機能欠損により腎障害を呈することがないことが既存の文献より知られており、ORAI1 特異的な阻害機能を理解することは、安全で効果的や薬剤の開発に向けて解決すべき重要な課題の一つである。審査対象論文において著者は、AD を含む免疫関連疾患に対して高い有効性を有するカルシニューリン阻害剤の上流のパスウェイに着目し、より安全な疾患標的となりうるメカニズムを見出している。従来では十分な検証が進んでいなかった *in vitro/in vivo*での ORAI1 の特異的な阻害作用について、本研究で著者は ORAI1 特異的な阻害機能を有する抗体を取得し、さらにヒト遺伝子を挿入した改変動物を用いることで、阻害作用の仕組みを検討した点は評価に値する。審査対象論文で検証された結果から、ORAI1 に対して特異的な阻害効果を持つ抗 ORAI1 抗体は、カルシニューリン阻害剤に匹敵する薬効を有しながらも、より高い安全性が担保される可能性があるため、AD を含む免疫関連疾患の新たな創薬候補となりうることが期待される。

令和3年1月22日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。