

氏名	富田 麗		
学位の種類	博 士 ( 生物科学 )		
学位記番号	博 甲 第 8 6 2 0 号		
学位授与年月日	平成 3 0 年 3 月 2 3 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	Studies on Enzymatic Protein Cell-Surface Anchoring Method and Application to Dendritic Cell Immunotherapy (酵素を用いた細胞膜タンパク質修飾技術の研究と樹状細胞療法への応用)		
主査	筑波大学教授	理学博士	中村 幸治
副査	筑波大学教授	博士 ( 生物工学 )	楊 英男
副査	筑波大学准教授	博士 ( 理学 )	内海 真生
副査	筑波大学准教授	博士 ( 理学 )	山田 小須弥

## 論 文 の 要 旨

細胞膜タンパク質修飾法は、細胞治療領域への応用だけでなく、生物科学において、特に、細胞間相互作用や膜タンパクの機能解明の研究領域で有用な手法となっており、これらの領域の基礎研究の発展に貢献することが望まれる。本論文において著者は、特定物質と酵素を用いた細胞膜タンパク質修飾法を確立した。さらに、開発した修飾法を用いて任意の抗体を癌細胞の細胞膜表層に修飾することができ、樹状細胞療法の効率を改善することに成功した。

第 1 章ではまず、研究の背景、及び周辺研究領域の分析をし、続く、第 2 章では、任意の抗体を、簡便に、目的の癌細胞上に修飾する手法として、アミンカップリング法を用いて、細胞膜修飾剤 (BAM) と抗体を適切な条件下で連結させる方法を確立した。BAM と抗体を連結することで、癌細胞に任意の抗体を十分量修飾することに成功し、その結果、樹状細胞による抗体を介した癌細胞の貪食効率を約 2 倍促進させることにも成功した。

第 3 章では、より効率良く樹状細胞による癌細胞の貪食を促進するために、抗体の Fc 部位の機能を損なうことなく、癌細胞に任意の抗体を修飾する手法を確立することを目的とした検討を行った。具体的には、Sortase A という酵素を用いて、Fc レセプタとの相互作用を阻害しない部位特異的に抗体 Fc と BAM を連結する手法の確立を行った。検討の結果、Sortase A による抗体 Fc と BAM の連結反応を細胞膜上で実施することで、より効率良く、連結反応を進めることが可能となった。続いて、Fc レセプタとの相互作用が異なる 2 種類の Fc 部位 (IgG1 と IgG2a 由来) を本手法で癌細胞に修飾し、樹状細胞による貪食の効率を比較したところ、Fc レセプタの活性化シグナルをより強く誘導する IgG2a 由来の Fc 部位を修飾した癌細胞の方が、約 3 倍貪食されやすいことが確認できた。この結果から、Sortase A を用いた部位特異的連結方法を用いることで Fc 部位の機能を損なうことなく抗体を癌細胞に修飾することが可能であると結論付けられた。さらに、本手法を用いて効率よく癌細胞を貪食した樹状細胞を、マウスにワクチン投与した後に、抗癌免疫活性を評価したところ、抗体修飾を行っていない癌細胞を貪

食した樹状細胞や、前章で確立した手法で抗体修飾した癌細胞を貪食した樹状細胞をワクチン投与したマウスと比べて、強い抗癌免疫活性が誘導されており、担癌モデルにおける癌の成長を抑えることにも成功している。

当該結果から、本研究で確立した手法を用いて任意の抗体を癌細胞に修飾することで樹状細胞療法の治療効果を促進することが可能であることを示した

## 審 査 の 要 旨

本論文で富田氏が確立した、Sortase Aを用いて部位特異的に細胞膜上でタンパク質を連結する手法は、細胞に与えるダメージが少なく、また、機能を保持したままタンパク質を修飾することが可能であるため、生きた細胞膜上での任意のタンパク質の機能解析に非常に有用な手法である。本手法を用いることで、例えば、遺伝子導入等の煩雑な手法が必要な研究や、遺伝子導入が困難な条件の研究において、簡便に細胞膜上に機能タンパク質を導入することが可能となる。従って、富田氏の確立した手法は、生物学分野における細胞膜タンパク質機能解析の研究領域の発展に貢献すると判断できる。

平成30年1月19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（生物科学）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。