

氏名	薛 漢兵		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博甲 第 9277 号		
学位授与年月日	令和元年9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	Studies on the Construction of Artificial Antibody Light Chain, Light and Heavy Chain Fittings and Antigen-Antibody Interactions (人工抗体軽鎖の構築と軽鎖重鎖適合性および抗原抗体相互作用に関する研究)		
主査	筑波大学教授(連携大学院)	理学博士	大西 和夫
副査	筑波大学教授	博士(理学)	中田 和人
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授	博士(理学)	石田 健一郎

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、免疫系を構成する抗体分子の抗原認識機構について、抗体サブユニットである重鎖と軽鎖の相互作用の観点から検討を加えたもので、軽鎖重鎖適合性と抗原認識特性の関連を解析した結果、様々な重鎖分子の抗原認識特異性を保存して結合できる「人工汎用軽鎖」プロトタイプの作製に成功している。

脊椎動物の個体内免疫系を構成する抗体産生B細胞クローンの総体は「抗体レパトア」と呼ばれ、免疫応答に伴うその動態は生体防御に密接な関連を持つ。抗体レパトアの多様性は10の15乗とも計算され、これまで全体像の把握が困難であったが、近年は次世代シークエンサーを用いた先進的な解析手法が考案されている。抗体レパトア動態の全体像を解析することにより、各種病原体の感染防御、自己免疫疾患、がん免疫に機能する有用な抗体レパトア群の探索と研究が始まっている。これらの有用な抗体を、次世代シークエンサーが出力した塩基配列をもとにタンパク質発現させる時、大きな障害となるのが軽鎖重鎖適合性と抗原認識特性の問題である。本論文では、これまで体系的な研究がほとんど成されて来なかったこの問題について先駆けとなる検討を行い、様々な抗体重鎖と結合することができる「人工汎用軽鎖」の試作を行っている。

第一章で著者は、抗体産生B細胞の初期分化に働く代替軽鎖の機能に注目し、様々な人工軽鎖候補分子を作製している。プレB細胞の核内では抗体重鎖遺伝子のV-D-J再構成が起これり抗原認識部位の多様性が生まれる。この時期には、抗体軽鎖遺伝子のV-J再構成が未完で軽鎖分子は発現していないため、代替軽鎖と呼ばれる分子が重鎖分子と結合している。つまり、代替軽鎖はV-D-J再構成の結果発現する多様な新生重鎖と結合できる性質を持ち、この性質を利用して多数の人工軽鎖候補分子を設計した。すなわち、代替軽鎖構成分子であるVpreB1、VpreB2、VpreB3、 $\lambda 5$ に加えて κ 軽鎖の定常領域を含めた各種免疫グロブリンドメインを組み合わせて合計7種類の分子設計を行いタンパク質発現させた。

第二章で著者は、これらの人工軽鎖候補分子と抗体重鎖の相互作用について、重鎖の抗原結合特性保持の観点から行った研究について述べている。重鎖遺伝子として、低分子ハプテンを認識するものと高分子キャリアを認識するものの2種類が選ばれ、それぞれ7種類の人工軽鎖候補分子と組み合わせたハイブリッド抗

体分子を発現させた。これらのハイブリッド抗体分子では軽鎖と重鎖の相互作用は対照抗体と変わらなかったが、抗原との結合性は大きく変化した。この時に結合した軽鎖分子が及ぼす抗原結合性の変化について、分子動力的シミュレーション、ドッキングシミュレーションなどの機械計算による手法および抗原結合部位の点突然変異体作製による免疫学的手法により詳細に解析した。その結果、低分子ハプテンを認識する抗体重鎖は結合軽鎖の分子種により大きく影響されるのに対して、高分子キャリアを認識する重鎖の抗原結合は結合軽鎖の分子種に影響を受けにくいことが見出された。これは、抗体の抗原認識が「鍵と鍵穴」様式と「面と面」様式の場合で結合軽鎖から受ける影響が異なることを示した新しい知見となった。

第三章で著者は、様々な抗体重鎖と結合できる「人工汎用軽鎖」についての研究について述べている。7種類の人工軽鎖候補分子のうち、重鎖の抗原結合性を最もよく保存した分子は、マウスVpreB1可変ドメインとヒトκ軽鎖定常ドメインをもとにして構築したMmVpreB1 λ5Cκ分子であった。抗体重鎖について、異なるファミリーに属する6種類の分子を新たに選択してMmVpreB1 λ5Cκ分子との軽鎖重鎖適合性を検討した結果、全ての重鎖分子とその抗原認識特異性を保持して結合できることが明らかになった。このことは、MmVpreB1 λ5Cκ分子が「人工汎用軽鎖」のプロトタイプとして機能することを示した。

抗体分子は多様な重鎖と多様な軽鎖が結合したレパトアを形成するが、これまでの抗体分子研究では、軽鎖を固定して多様な重鎖の特性を解析する観点がなかった。本研究で作製した「人工汎用軽鎖」プロトタイプは、抗体研究にこのような新しい視座を与えることが期待される。

審 査 の 要 旨

本学位論文において著者は、抗体分子の抗原認識様式について、抗体重鎖軽鎖の相互作用という新しい観点から検討する目的で、抗体産生 B 細胞の分化初期に発現する代替軽鎖の性質を利用した人工軽鎖候補分子を多数構築し、免疫学的手法および機械計算による分子モデリング手法を用いて詳細に解析した結果、抗体重鎖の抗原認識部位に及ぼす抗体軽鎖の影響を明らかにする先駆的な研究を行った。さらに、「人工汎用軽鎖」として機能し得る新規分子を作製し、軽鎖を固定して多様な重鎖の特性を解析するという新しい観点を抗体研究に提示した点で極めて学術的価値が高い。

令和元年7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（理学）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。