論文審査の結果の要旨

氏名　八桁　清樹

本論文は、抗体医薬品として主要に利用されているイムノグロブリン G1 蛋白質の凝集反応機構の解明に向けて、IgG1 の定常領域ドメイン蛋白質および Fc 蛋白質の物性解析を行ったものである。

本論文は 5 章からなり、第一章は緒言で、抗体医薬品の特性と製造・品質管理技術開発の課題および IgG1 蛋白質の物性と凝集反応に関するこれまでの知見について述べられている。抗体分子全体の凝集反応には、抗体を構成する部分であるドメイン蛋白質の変性と凝集反応が大きく関与すると考えられることから、本研究目的として、抗体ドメイン蛋白質の凝集反応に関わる物性を詳細に解析し、次いでそれら抗体ドメイン蛋白質の物性が、抗体が本来もつマルチドメイン構造においてどのように反映され、抗体分子全体の凝集反応に関与し得るかを明らかにする旨が述べられている。

第二章では、抗体ドメイン蛋白質を対象とした解析に関する研究成果についてまとめられている。各ドメインのコンホメーション安定性とコロイド安定性が異なることを明らかにし、各ドメインのコンホメーション不安定性の序列、およびコロイド不安定性の序列に関する解析結果が示されている。各ドメインは溶液条件に応じて、N 状態および MMNN 状態、PPNN 状態の三つの状態をとり、PPNN 状態においては部分的折りたたみ構造を有したコンホメーション状態を介して凝集反応を生じていることが示されている。これらの解析結果から、各ドメインの抗体全体の凝集反応における寄与の大きさの序列を示している。さらに各ドメイン蛋白質の構造表面に関する物性が本章で得られたコロイド安定性の違いに対応する旨が示されている。

第三章では、野生型 Fc 領域（wtFc）を対象とした解析に関する研究成果についてまとめられている。wtFc 中の C_H2 と C_H3 ドメインが、それぞれがもつ固有のコンホメーション安定性に依存して独立的に酸変性を生じることが示されている。二つのドメインのコンホメーション安定性が、C_H2 モノマーと C_H3 ホモダイマーと同程度の安定性を示したことから、マルチドメイン構造は wtFc 中の C_H2 と C_H3 ドメインのコンホメーション安定性に大きな影響は与えていないことが示している。ドメインの酸変性に伴って wtFc が凝集反応を生じることを示し、C_H2 ドメインのみが酸変性を生じる pH 条件と C_H3 が酸変性を生じる pH 条件とで wtFc の凝集体サイズが大きく異なることから、wtFc の凝集体サイズは変性したドメインのコロイド安定性に相関することが示されている。しかし、wtFc の凝集体サイズは C_H3 ホモダイマーより小さいことから、wtFc 全体のコロイド安定性は C_H2 ドメインの優れたコロイド安定性により相補的な影響をうけ、安定化されていることが示されている。これらの結果から、抗体のマルチドメイン構造形成が物性の最適化

や生物学的機能の獲得に有利に働いたとする仮説的考察を行っている。

第四章では、Fc の C 末端アミノ酸配列を改変し、ドメイン間ジスルフィド結合を導入した環状化 Fc (cycFc)を対象とした解析の研究成果についてまとめられている。C_H3 ドメインの C 末端に導入したドメイン間ジスルフィド結合によるアンフォールド状態の鎖ダイナミクスの制限効果が、C_H3 ドメインの酸ストレスに対するコンホメーション安定性を増加させることが示されている。また C_H3 ドメインのコンホメーション安定性の向上により、cycFc の凝集反応を開始し始める pH が wtFc に比べて低下することが示されている。一方で、C_H3 ドメインがアンフォールド状態へ移行した場合には、wtFc と同様に凝集反応を生じ、また凝集体のサイズが wtFc のサイズと同程度であることから、ドメイン間ジスルフィド結合の導入は cycFc のコロイド安定性に大きな影響を与えていないことが示されている。

第五章は総括で、各章で得られた研究成果をまとめるとともに、研究成果から予測される抗体の凝集回避機構について、また抗体を非生理的条件で取り扱う場合や工学的な安定性改良を行う場合に考慮すべき抗体の物性について述べられている。

以上、本論文は、抗体の医薬品としての品質および安全性に重大な影響を及ぼし得る抗体凝集反応に関して、ドメイン蛋白質レベルでの物性解析を実施することにより、これまで不十分な議論にとどまっていた抗体凝集反応が生じる際の抗体の物性変化ならびに分子間相互作用について、明確に述べることを可能とした。また Fc の物性解析において、マルチドメイン構造中のドメイン蛋白質の物性変化とそれに伴って生じる凝集反応との関連性について明確に示した。抗体のマルチドメイン構造形成による物性の最適化に関する考察は、生物学ならびに抗体工学の分野において興味深い知見を与えていると考えられる。なお、本論文第二章から第四章は、本田真也との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分に大きいと判断する。

したがって、博士（科学）の学位を授与できると認める。

以上 1995 字