

## 審査の結果の要旨

氏名 高松 佑一郎

近年、これまで難治性であったがんや免疫病などに対する効果的な治療薬として抗体医薬が登場し、臨床に使用されるようになってきている。がんに対する抗体医薬も開発が目白押しになっているが、今後、機能的な抗体を抗体工学等によりデザインし、より高機能な分子に変えていく改変抗体が開発の中心となっていくと考えられる。

そのような潮流のなかで、計算による抗体のデザインの試みも世界的に挑戦されるようになってきた。抗体の抗原認識機構は、これまで生化学が得意としてきた酵素の反応とは異なり、蛋白質と蛋白質の弱い相互作用からなる結合反応であり、また生体高分子である蛋白質は分子量が大きく計算量が膨大となる。さらに、治療用抗体の別の側面として治療のターゲットとなる抗原分子が、がん細胞の表面分子—膜タンパク質であることが多く、膜タンパク質の構造解析の困難さから計算科学の応用が進んでいないことが挙げられる。しかし、このことは反面、計算科学が進めば、そのような困難な工程を避けることができることを意味している。

一方、近年のコンピュータの性能向上により、大量計算が比較的容易となり、また抗体分子を始め、膜タンパク質に対する X 線結晶構造解析も格段の進歩をとげたため、計算による蛋白質の構造予測や相互作用予測が可能となってきた。

本研究では、分子間で比較的構造のバリエーションが少なく、多数の構造解析データが蓄積している抗体分子について、ホモロジーモデリングの手法を用いて、未知の抗体分子の構造を予測し、抗原抗体相互作用を分子動力学(MD)計算により解析する手法を開発することを目的としている。ターゲットとしては東大先端研で開発された肝がん表面抗原 ROBO 1 に対する抗 ROBO 1 抗体分子とデータベースにある ROBO1 部分構造を用いている。本研究の進行と同時に、共同研究により、ROBO1 と抗体 Fab の共結晶構造解析が進み、ホモロジーモデリングとの比較研究をすることが可能となった。

まず、ホモロジーモデリングを用いて抗 ROBO1 抗体 B5209 について、370

個の候補構造を作製し、分子力学エネルギーが最も低いもの (hoB5209) を選定している。後に得られた結晶構造と比較すると、主鎖の Root Mean Square Deviation (RMSD) の値が 0.13 nm であり、精度よく結晶構造を再現出来たといえる。さらに、側鎖の相互作用を MD 計算に基づく新しい揺らぎ解析法を開発して調べている。これにより、大半の残基に対しては自然な側鎖の熱揺らぎにより、RMSD 値が大きくなっていた事が分かった。また、少数ではあるが側鎖のパッキングが結晶と本質的に異なる残基が発見されている。こうした動力的観点を入れて解析することにより、構造予測をより詳細にする手法への道筋を示したものと考えられる。

次に抗原の ROB01 IG5 domain と抗 ROB01 抗体 hoB5209 の複合体構造を予測するために、MD シミュレーションにより解離状態から会合過程までを再現し、相互作用エネルギーが最も低い構造を予測複合体構造とした。結晶構造と比較して、抗体の結合角は  $30^\circ$  程度のずれであり、従来の剛体ドッキングシミュレーションの結果と比べて、MD シミュレーションが非常に良く複合体構造を再現していると考えられた。また、界面のアミノ酸残基ペアの再編成が段階的に起こっている事が観察され、動的な相互作用のシミュレーションの有効性が示された。

さらに、ホモロジーモデリングでの問題点であるアミノ酸ペアの低再現率 (10%程度) について考察を行っている。会合過程の分子力学シミュレーションを、B5209 の結晶構造を用いて行い、12 本のトラジェクトリのうち、6 本のトラジェクトリが結晶構造と非常に近い複合体構造を形成することを見出している。この時、hoB5209 の時にみられた  $30^\circ$  の結合角のずれも見られなかった。この事は、結晶構造解析による抗体構造に基づいた分子力学シミュレーションでは、正確な抗原抗体複合体構造の予測が可能である事を示している。

本研究では、分子力学法を用いる新しい構造予測手法および解析手法を開発し、肝細胞癌に特異的に発現する ROB01 の IG5 domain と B5209 抗体の複合体に応用して有効性の実証を行っている。

今後コンピュータを用いた大容量計算による人工的抗体のデザイン (computer assisted drug design) の可能性を示した研究であり、抗体医薬開発から抗体の特異的抗原認識機構の研究まで幅広く応用されることが期待される。

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。