



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on Anti-MUC1 Monoclonal Antibody for Precise Recognition of Glycopeptidic Neoantigen: Approach from Epitope Defined Strategy [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	涌井, 初
Description	担当：理学研究院図書室
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第14393号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/82019
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hajime_Wakui_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学）

氏 名 涌井 初

	主 査	教 授	西村 紳一郎
	副 査	教 授	出村 誠
審査担当者	副 査	教 授	姚 閔
	副 査	教 授	比能 洋
	副 査	准教授	尾瀬 農之

学 位 論 文 題 名

Study on Anti-MUC1 Monoclonal Antibody for Precise Recognition of Glycopeptidic Neoantigen:
Approach from Epitope Defined Strategy

(エピトープ規定戦略を用いた、糖ペプチドネオ抗原の正確な認識のための抗 MUC1 モノ
クローナル抗体の研究)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

糖鎖修飾はタンパク質に広く見られる翻訳後修飾の1つである。種や環境、疾患の有無など様々な要因によって糖鎖修飾はダイナミックに変化するため疾患のバイオマーカーとして利用されている。しかし、疾患特異的な糖鎖修飾をターゲットとした創薬研究の事例はほとんど成功していないのが現状である。

MUC1 (Mucin1)は上皮細胞に存在する巨大な糖タンパク質である。通常、MUC1は重度に糖鎖修飾されているがガン細胞上のMUC1には未成熟の短い糖鎖が結合する。この異常なMUC1を標的とした抗体が多数作成されているが、その多くが短くなった糖鎖を認識するのではなく、糖鎖修飾の異常で露出したペプチド鎖を認識していることが明らかとなっている。また、診断薬や治療薬の候補となっているほとんどの抗MUC1抗体は、糖鎖の構造を識別できないため、その効果が当初期待していた程ではないことが知られている。

したがって、糖鎖とペプチド鎖の双方を認識する抗MUC1抗体は、疾患特異的な標的分子に対する高い特異性を持つことが期待され、未開拓の「糖鎖修飾をターゲットとした新規創薬技術」として期待されている。そこで申請者は、糖ペプチドの構造を正確に認識する新規抗MUC1抗体SN-101に着目し、その構造と機能の詳細な解明を試みた。

申請者は新規抗MUC1抗体SN-101の高い糖ペプチド特異性を糖ペプチドライブラリとマイクロアレイを組み合わせたエピトープマッピングによって精査した。その結果、SN-101がMUC1タンデムリピート配列の一部と単糖GVTSAPDT(Gal1NAc α 1)に対して特異的に結合することを明らかにした。同様に、糖鎖未修飾のMUC1ペプチドや、TF抗原(Gal β 1-3Gal1NAc α 1)の結合したMUC1糖ペプチドに対して、SN-101は全く結合しないことが明らかとなった。次

に X 線結晶構造解析を用いて SN-101 抗体と糖ペプチド複合体の結晶構造を解析した結果、SN-101 抗体が糖鎖とペプチド鎖双方を同時に認識している抗体であることを証明した。糖鎖とペプチド鎖を同時に認識する抗 MUC1 抗体の結晶構造として世界初の成果である。さらに申請者は、糖鎖修飾と抗原のコンフォメーション変化および親和性の関係性について考察した。驚くべきことに、NMR によって明らかとなった糖ペプチドの溶液中のコンフォメーションと、結晶中の SN-101 に結合している糖ペプチドのコンフォメーションが非常によく一致していた。糖鎖未修飾の MUC1 ペプチドは溶液中でターン構造を取っており、それは糖鎖修飾された糖ペプチドと大きく異なることが既に明らかとなっていることから、SN-101 は糖鎖修飾によって誘起された糖ペプチド全体の新しいコンフォメーションを認識する抗体であることが証明された。加えて、その仮説および分子認識における糖鎖修飾の影響を、ITC を用いた熱力学的測定によって解析して考察した。

このように申請者は多角的な実験により、糖ペプチド認識抗体の抗原認識機構を系統的に議論することを実現した。糖ペプチドを認識する抗 MUC1 抗体について世界で初めて構造を明らかとして、その構造と結合様式の新知見を得た。これは未開拓であった抗原認識における糖鎖修飾が及ぼす影響への理解を深めるものであり、糖鎖科学やタンパク質科学、糖鎖を標的とした創薬研究開発において貢献するところが大きい。また、SN-101 は糖ペプチドを抗原として作製された抗体であり、糖鎖の有無による反応性の違いによってスクリーニングをすることで初めて得られる糖鎖に対する特異性を有する抗体である。本研究は、上記の抗体作製手法の有効性を証明しており糖ペプチド特異的抗体取得の新しい標準的手法の確立に寄与するものである。これらの成果は創薬のみならず糖鎖の科学と医学、ひいては基礎的な生物学の発展につながるものである。

よって申請者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。