

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲	第10348号
------	-----	---------

氏 名 吉田 和央

論文題目

Establishment and analysis of genetically manipulated chickens producing pharmaceutical Fc-fusion proteins

(Fc領域を含む医薬品タンパク質を生産する遺伝子導入鳥類の作製と解析)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	飯島 信司
委員	名古屋大学	教授	本多 裕之
委員	名古屋大学	教授	北島 健
委員	名古屋大学	准教授	西島 謙一

論文審査の結果の要旨

吉田和央君提出の論文“Establishment and analysis of genetically manipulated chickens producing pharmaceutical Fc-fusion proteins” (Fc 領域を含む医薬品タンパク質を生産する遺伝子導入鳥類の作製と解析) は、近年その需要が増しつつあるタンパク質性医薬品の新たな生産法の開発をめざしたものである。現在、有用物質の生産方法には遺伝子組換え技術が重要な役割を果たすが、医薬品タンパク質の場合は遺伝子組換えの宿主として解析が進んだ CHO 細胞が用いられることが多い。動物培養細胞である CHO 細胞の利用は、大腸菌に比べてタンパク質の折りたたみ、翻訳後修飾などの点で有利である。しかし高い生産性、コストパフォーマンスの良さ、スケールアップの容易さなどの点から、遺伝子組換え動物を利用した生産システムの確立が期待されている。特にニワトリは 1 日に約 1 個の割合で卵を生むため、有用物質を卵へ蓄積させれば安定した生産が期待できる。本論文提出者吉田君は、このような点から遺伝子組換えニワトリにより有用タンパク質を生産する可能性について検討した。

第 1 章では、遺伝子組換えニワトリを取りまく現状について述べた。

第 2 章では、炎症性疾患である関節リウマチなどで医薬品として利用されている TNFR/Fc に着目し、卵中に TNFR/Fc を生産する遺伝子組換えニワトリを作製し、作製したニワトリ個体および生産されたタンパク質について基礎的な解析を行った。炎症はアトピー性皮膚炎や花粉症、リウマチをはじめ多くの疾病の病態にかかわる。腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α) は代表的な炎症性サイトカインであり、その活性を中和する抗体や可溶性レセプターが炎症性疾患の治療薬として用いられている。本研究で着目した TNFR/Fc は TNF レセプターの細胞外領域とヒト IgG の Fc 領域を融合したタンパク質で、関節リウマチや若年性特発性関節炎など炎症性疾患の治療薬として使用実績がある。吉田君は TNFR/Fc を生産する遺伝子組換えニワトリを、遺伝子治療に用いられるマウスシステムセルウイルス由来のベクターを使用して作製し、ニワトリで TNFR/Fc を生産することに成功した。マウスミエローマ細胞である NSO 細胞由来の TNFR/Fc を比較対象としたところ、NSO 細胞と遺伝子組換えニワトリ血清由来の TNFR/Fc は同じ分子量なのに対して、卵黄由来の TNFR/Fc は分子量が小さく、この分子量差の原因は翻訳後修飾によるものであると推定した。また、遺伝子組換えニワトリにより生産された TNFR/Fc に TNF- α に対する中和活性があることを示した。

第 3 章では、遺伝子組換えニワトリにより生産された有用タンパク質の糖鎖修飾を解析した。糖鎖末端のシアル酸が欠如するとタンパク質の血中半減期が短くなるので、糖鎖の末端にシアル酸が付加していることが望ましい。まず、糖鎖構造の HPLC 解析により、卵黄から精製された抗プリオン一本鎖抗体にはシアル酸を含む N 型糖鎖が 7% 存在することを明らかにした。次に、卵黄から精製された TNFR/Fc の修飾糖鎖のシアル酸付加をレクチンプロットにより解析し、シアル酸が付加していることを示した。

第 4 章では第 2 章、第 3 章の内容を要約し、その意義を考察した。

以上のように本研究は、遺伝子組換えニワトリを用いて抗炎症薬として使われる医薬品タンパク質の生産法を確立するとともに、実際に生産されたタンパク質の品質を解析したもので、学問上また工業上寄与する所が大きい。よって本論文提出者吉田和央君は博士 (工学) の学位を受けるのに十分な資格があるものと判定した。