

博 士 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名	生井 楓
学位名	博士（農学）
学位番号	甲 第 95 号
論文題目	乳酸菌組換え体による炎症および腫瘍免疫の制御に関する研究
論文審査委員	主査 下里 剛士 真壁 秀文 米倉 真一 高谷 智英 北澤 春樹（東北大学）

（博士論文審査の結果の要旨）

乳酸菌を有益タンパク質の運搬体として用いる乳酸菌組換え体（gmLAB）研究は、種々の疾病に対する予防・軽減法の一つとして研究が進められている。本論文では、gmLAB 研究に関するこれまでの報告を総括した上で、gmLAB の有用性や将来的な実現性について論じている。本論文の中で示された研究内容は、2 種類の gmLAB の構築と疾病の予防・軽減における有効性に関する検証である。得られた研究成果は以下のとおり集約され、学位論文として纏められている。

- ① 炎症の悪化に関与する IL-1 シグナルを制御することで、大腸における炎症を抑制することを目的とし、rmIL-1Ra を高分泌する gmLAB（NZ-IL1Ra）を構築した。構築した NZ-IL1Ra における rmIL-1Ra の分泌量は極めて著量であり（2 mg/mL）、これまでに報告された同様の遺伝子発現システムと比較して、最も高い発現量を示すことが明らかとなった。また、急性大腸炎モデルマウスを用いてその効果を検証し、NZ-IL1Ra の経口投与は急性大腸炎における過剰な炎症反応を抑制することが示された。すなわち、IL-1Ra の腸管への直接的な運搬により、腸管局所における抗炎症効果を発揮することが明らかとなった。IL-1Ra とほぼ同じ構造を有する化合物としてアナキンラ（Anakinra, 組換えヒト IL-1Ra）が、関節リウマチなどの炎症制御を目的として認可を受けている。しかし、全身投与に伴う重篤な副作用が問題となっていることから、gmLAB を利用した腸管局所への IL-1Ra の送達により、課題の解決策となりうる新たなシステムとして提唱した。
- ② gmLAB に産生させる有益タンパク質として、低分子抗体（single-chain fragment variable; scFv）に着目し、がんに対する有効性が期待されている cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4（CTLA-4）に対する scFv を産生する gmLAB（NZ-CTLA4scFv）を構築した。研究では、rCTLA4scFv は抗ヒト CTLA-4 抗体であるイピリムマブを元に設計し、rCTLA4scFv のヒト CTLA-4 認識する生理活性を調査した。結果として、NZ-CTLA4scFv の菌体破碎液中に含まれる rCTLA4scFv が、ヒト CTLA-4 に結合することを証明し、gmLAB の産生する rCTLA4scFv に生理活性があることが示された。本研究の成果を踏まえ、CTLA-4 シグナル制御を基盤とした抗腫瘍研究に用いられる新たなツールとして期待される。

以上、本論文では、異なる 2 種のタンパク質を分泌する gmLAB の構築と、各リコンビナントタンパク質の生理活性について述べられている。審査委員会は、これらの成果が原著論文（2 編）として公表されていることを確認した。また、生物・生命科学分野における早期修了要件③「筆頭著者である論文が 2 編以上あり、それらの掲載された学術雑誌の最新のインパクトファクターの合計が 4.0 以上の場合」に該当することを確認した（生井氏 11.413）。加えて、予備審査の段階では、論文題目に構想概念的な単語が用いられており、より適した論文題目に改めることが求められていた。学位論文の骨子として、乳酸菌組換え体による免疫制御に主眼を置いていることを踏まえ、新たな題目「乳酸菌組換え体による炎症および腫瘍免疫の制御に関する研究」として適正に修正されていることについて確認した。以上踏まえ、審査委員会は、本論文は博士論文として十分な内容を有するものであると判断し、「合格」と判定した。

(公表主要論文名)

Fu Namai, Aito Murakami, Asami Ueda, Masami Tsukagoshi, Suguru Shigemori, Tasuku Ogita, Takashi Sato, Takeshi Shimosato

Construction of Genetically Modified *Lactococcus lactis* Producing Anti-human-CTLA-4 Single-Chain Fragment Variable, *Molecular Biotechnology*

volume 62, pages 572-579 (2020 年 12 月発行に掲載) .

Fu Namai, Suguru Shigemori, Tasuku Ogita, Takashi Sato, Takeshi Shimosato

Microbial therapeutics for acute colitis based on genetically modified *Lactococcus lactis* hypersecreting IL-1Ra in mice, *Experimental & Molecular Medicine*

volume 52, pages 1627- 1636 (2020 年 9 月発行に掲載)