

最終試験結果の要旨

報告番号	理工研 第450号	氏名	大川 友里恵
審査委員	主査	伊東 祐二	
	副査	内海 俊樹	橋本 雅仁
		九町 健一	

最終試験は、以下の要領で博士論文の発表会を行い、研究発表内容の質、発表状況、質疑応答の内容を総合的に審査した。

博士論文の発表会は、平成29年8月8日の16時00分より鹿児島大学理学部2号館214号室にて開催され、30分の博士論文内容の発表後、約30分間の諮問を含む質疑応答が行われた。具体的な質疑応答の内容の一部を以下に示す。

1) 健常者血液・肝ガン患者組織由来のライブラリで抗ルテラン抗体が濃縮されなかった理由は？
 回答：健常者では、ルテランに対する抗体の誘導が起こっていないので、逆に言えば、ガンの患者では、ガン細胞でルテランが高発現することで、この自己抗原に対する抗体が誘導されたと考えている。ガン患者組織由来の抗体ライブラリから抗ルテラン抗体が得られなかった理由として、組織へのルテラン特異的B細胞の浸潤が低かったこと、もう一つは、実験上の問題で、組織由来のB細胞の回収が低く、ライブラリ作製に十分な抗体遺伝子が準備できなかった可能性が挙げられる。

2) 次世代シーケンサー (NGS) で特定した抗体クローンの遺伝子は、どのように調製したのか？
 回答：NGS解析では、抗原特異的なVH配列のみを特定したが、このCDR3領域の塩基配列を基に、プライマーを設計し、パイオバンニング後のscFv遺伝子プールを鋳型に、over extension PCRによりscFv遺伝子を再構築した。

3) 得られた抗ルテラン抗体の医薬品としての有用性について、どのように考えるか？
 回答：今回の抗ルテラン抗体は、抗体ファージでは、ガン細胞運動阻害活性を示し、ガン細胞の転移抑制をもつ医薬品への応用が期待されたが、scFv-Fcという可溶性のフォーマットではその阻害活性は再現できなかったから、転移抑制剤として効果は期待できない。しかし、ルテランは、多くのガン細胞で発現が過剰になっており、一般的なガンマーカーとして期待できる。よって抗ルテラン抗体も、標的細胞に特異的に作用する抗体薬物複合体等の抗体医薬品として利用可能だと考えている。

4) 得られた抗ルテラン抗体について、機能的なVHとVLの組み合わせとしては1種類のみか？
 回答：今回得られた抗ルテランscFv中のVHとVLの組み合わせは1種類のみであった。最初の抗体ライブラリ中には、複数のVHとVLの組み合わせのscFv遺伝子があったはずであり、選別によって機能性の高い1種類に集約されたと考えている。

5) 次世代シーケンサー解析による系統樹解析で、塩基の違いにより、抗体のクラスターが見られた理由は？

回答：理由は2つ考えられる。1つは、実際に患者中のB細胞のレパートリとして多様な配列が存在していた可能性、もう一つは、ファージライブラリの構築や選別プロセスにおいて多用したPCRの過程で変異が蓄積した可能性がある。現状では、前者の可能性が高いと考えられるが、後者の可能性も排除することはできない。

上記のように審査員から質問があったが、審査対象者は、適宜、適切な対応と回答・討論を行った。

以上のことから審査委員会は、申請者が博士課程の修了者としての学力ならびに見識を有するものと認め、博士(理学)の学位を与えるに足る資格を有するものと判定した。