

論文内容の要旨

申請者氏名 臼井 文人

宿主と腸内細菌叢の良好な共生関係を恒常的に維持することは健康維持に重要である。腸管 IgA 抗体は腸管粘膜面の病原菌防御だけでなく腸内常在細菌の制御、つまり共生関係の維持にも極めて重要である。腸管腔に分泌される多量の自然 IgA 抗体は poly-reactive に腸内常在細菌に対して反応すると考えられてきた。しかし、具体的に各 IgA 抗体が腸内細菌の何を認識し制御するかは明らかではない。

申請者はこの疑問に答えるために先行研究で得られていた、多種類の腸内細菌に世界に強区結合するマウス腸管由来 IgA モノクローナル抗体(W27 抗体)が認識する細菌の抗原分子とそのエピトープを明らかにした。先ず W27 抗体が認識する分子は代謝酵素であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (serine hydroxymethyltransferase, SHMT)であることを2次元電気泳動と質量分析から明らかにした。更に、W27 抗体は SHMT の N 末エピトープに直接結合して、その中の4アミノ酸残基(EEHI)の識別により、標的細菌を見分けていることを明らかにした。この特異性により、W27 抗体が攻撃するのは大腸菌など腸炎惹起菌の仲間で、W27 抗体が認識しないのは乳酸菌やビフィズス菌といったプロバイオティクスとして注目される発酵菌であることが判明した。W27 抗体は「悪い菌」の増殖を抑制して、「良い菌」の増殖を妨げないと考えており、実際に全体として「良い菌」が優位になる腸内環境へ変化させる効果が観察された。さらに W27 抗体以外のマウス腸管から得られた IgA モノクローナル抗体(44 クローン)の解析から、これらのクローンの95%以上の大部分の自然 IgA 抗体(異なる飼育環境下、あるいは系統の異なるマウス由来)が W27 抗体と同一のエピトープ(SHMT の N 末エピトープ EEHI)を認識すること、さらにそのエピトープを *Proteobacteria* に属する多くの病原菌が共有することも見出した。

W27 抗体は細菌と宿主の共生関係を維持するために宿主体内で選択された腸内細菌叢制御の鍵となる抗体であると考え、他の腸炎惹起菌である *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Prevotella melaninogenica* に対しても W27 抗体が反応することを見出した。これらの細菌の W27 抗体の標的分子はすべて異なり、それらは SHMT と同様に細菌の増殖に重要と思われる代謝酵素であること、さらに分子内のエピトープも同定した。これらの分子内エピトープは EEHI 配列そのものはもたないが、グルタミン酸残基(E)を含むという共通点がある。

申請者の研究成果は、特定の細菌だけではなく健康を害する腸内細菌をまとめて制御する方策を見出すための分子的基盤を提供した。つまり、腸内細菌叢全体の制御の鍵となるエピトープの3次元構造を明らかにすれば、創薬シーズの分子基盤を確立することができる研究成果である。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 臼井 文人

腸内細菌と宿主免疫系の相互作用の研究は臨床応用につながる重要な研究であるが、免疫系がどのように排除すべき細菌と共存すべき細菌を識別するかはまったく不明であった。本研究は宿主免疫系の一要素である腸管の自然 IgA 抗体に着目し、モノクローナル IgA 抗体(W27)が細菌の何を認識し、どのように細菌を識別するかを明らかにしたことは新しい知見である。

明らかにされた大腸菌の抗原分子は SHMT という代謝酵素であり、細菌細胞内に存在すると通常は予想される分子であった。抗体が認識する細菌由来分子は細菌表面に存在する分子であるという一般的な予想に反する結果であった。申請者は SHMT 分子内のエピトープを詳細に解析し、大腸菌と乳酸菌を W27 モノクローナル IgA 抗体が識別する基準が 2 アミノ酸の違いであることを示した。また、W27 抗体は SHMT の N 末に存在する EEHI という 4 アミノ酸の違いを識別するが、この 4 アミノ酸だけでは W27 抗体のエピトープにはなりえないこと、周囲のアミノ酸配列も重要であることを、合成ペプチドによる競合 ELISA 法で明確に示した。更に、一連の実験から W27 抗体が認識するエピトープ配列を 13 残基 (RQEEHIELIASEN) まで絞り込むことに成功した。SHMT のエピトープを W27 抗体が細菌のどの部位で認識するかは今後の研究を待たねばならないが、大腸菌と W27 抗体の相互作用点を分子だけでなくアミノ酸レベルで明らかにしたことは、今後の医療に向けた研究展開にとって極めて重要な成果である。

次に、W27 は宿主に害を及ぼす細菌を選択的に認識すると予想し、大腸菌以外の腸炎惹起菌に対する W27 抗体の応答を検討して、腸炎惹起菌 3 種に対する W27 抗体の認識分子を特定した。これらはすべてエネルギー代謝関連酵素であり、増殖阻害機構を解明する上で示唆に富んだ重要な成果であった。更に、各抗原分子のエピトープも明らかにしており、医療に向けた応用研究の分子的基盤を提供することに成功している。また、少なくとも 3 種の異なるペプチド配列を W27 モノクローナル抗体が特異的に認識することを明らかにした本成果は、基礎研究としても興味深い。

申請者の研究成果は、生体内で複数の病原菌を認識できるような抗原結合部位を持つ抗体として W27 抗体が選択されてきたことを、タンパク質分子間の相互作用レベルで明らかにしており、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。