

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：63903

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14892

研究課題名(和文)抗体とFc受容体の新規相互作用様式の解明と抗体工学への展開

研究課題名(英文)Elucidation of a previously unknown mode of interaction between antibody and Fc receptor toward development of novel strategies for antibody engineering

研究代表者

谷中 冴子(Yanaka, Saeko)

分子科学研究所・生命・錯体分子科学研究領域・助教

研究者番号：80722777

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):抗体の分子機能は、Fabにおける抗原認識とFcにおけるエフェクター機能を発動することである。Fc受容体はエフェクター機能を発動する引き金となる重要な分子であり、抗体のFc領域と相互作用する分子であるというのが一般的な理解である。一方、研究代表者はそれまでに得られていた予備的な研究結果に基づき、FabとFcが協同的にFc受容体と相互作用をしている状態こそが抗体が機能している真の姿であるという仮説を立てた。本研究では、生物物理学的的手法を用いてこの仮説を実証し、これまで知られていない両者の相互作用部位を明らかにした。これにより、Fc受容体に対して高親和性の抗体を設計する基盤を与えることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗体医薬品は高い特異性と親和性から分子標的薬として幅広い疾患に使用されており、特に抗体が司るエフェクター機能である抗体依存性細胞介在性細胞傷害活性を利用した抗がん剤の開発が進められてきている。こうしたなかで、これまでの抗体医薬の分子設計においては、分子標的に対するFab部分の親和性を向上することと、Fc受容体とFc部分との親和性を向上することがそれぞれ独立に検討されてきた。しかしながら、抗体全体の動的構造を考慮して機能を最適化することが、今後の重要な課題である。本研究成果は、抗体の作動メカニズムに関する分子免疫学の常識に一石を投じるとともに抗体医薬の開発に新たな可能性をもたらすものである。

研究成果の概要(英文):Antibody functions are divided into antigen recognition by Fab and effector function promotion by Fc. The Fc receptors interact with the Fc portion of the antibody, thereby triggering the effector functions, and are therefore collectively called Fc receptors. This study is based on a working model in which both Fab and Fc synergistically contribute to Fc receptor binding. The biophysical data obtained in this study supported this hypothesis and, moreover, uncovered previously unidentified interaction sites in antibody and Fc receptors. The knowledge gained in this study will provide basis for designing antibodies with higher affinities for Fc receptor.

研究分野:タンパク質工学

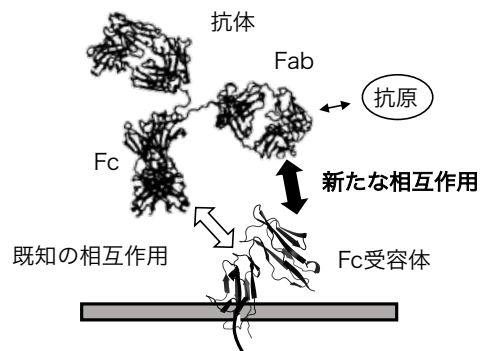
キーワード:免疫グロブリンG(IgG) Fc受容体 MDシミュレーション 核磁気共鳴法 量子ビーム溶液散乱 高速原子間力顕微鏡

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

抗体の分子機能は、Fab における抗原認識と Fc におけるエフェクター機能の発動である。Fc 受容体は抗体がエフェクター機能を発動する引き金となる重要な分子であり、その名の通り、抗体の Fc 領域と相互作用する分子であるというのが一般的な理解である。これに対して、研究代表者は、Fc 受容体が抗体の Fab に対しても潜在的な結合能を秘めている可能性を示すデータを得ており、これに基づいて、Fc と Fab が協同的に Fc 受容体と相互作用をしている状態こそが抗体が機能している真の姿であるという仮説を立てた (Fig.1)。



### 2. 研究の目的

専ら Fc と相互作用するという古典的理解に基づき Fc 受容体と名づけられた分子の定義を問い直し、これまでに見過ごされてきた Fab と Fc 受容体との相互作用様式を分子の立体構造の観点から決定することが本研究の要諦である。そのために、生物物理学的手法を駆使して抗体と Fc 受容体の相互作用様式の実体を解明することを目的とした。さらに、得られた情報に基づいて高機能化抗体を創出する新手法を提案することを目指した。

Fig.1 本研究で新たに提唱するエフェクター機能発動モデル

Fab と Fc の双方が Fc 受容体を認識し、その相乗効果で高い親和性がもたらされ、効率的にエフェクター機能を発揮するというモデルである。

### 3. 研究の方法

本研究では、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM)、水素-重水素交換質量分析法 (HDX-MS) を用いて抗体が Fc 受容体と相互作用するときの全体構造を捉えるとともに、Fab と Fc 受容体の相互作用部位を同定することに取り組んだ。抗体はヒンジ部や糖鎖といった特徴的な柔構造を擁しており、その 4 次構造は水溶液中でダイナミックに揺らいでいる。そうした構造上の動的特性を考慮しつつ抗体と Fc 受容体との相互作用様式を明らかにするため、分子動力学 (MD) シミュレーションによる理論的アプローチと核磁気共鳴法および量子ビーム溶液散乱による実験的アプローチを用いて Fc のコンフォメーション空間を探索した。

### 4. 研究成果

免疫グロブリン G(IgG)抗体と Fc $\gamma$  受容体(Fc $\gamma$ R)の相互作用の実態解明に取り組んだ。抗体の溶液中のダイナミックな 4 次構造空間を探索するため、IgG の Fc 領域について総計 3.2 マイクロ秒の長時間の MD シミュレーションを実施した。核磁気共鳴と溶液散乱の計測を通じて得られた実験データと照らし合わせることで、MD シミュレーションの結果の妥当性を検証した。シミュレーションにより得られた Fc の 3 次元構造アンサンブルを解析した結果、Fc に結合している N 型糖鎖のフコース残基によって Fc $\gamma$ R との相互作用に関わるチロシン残基の配向が規定されていることが明らかとなった。このことから、N 型糖鎖は Fc のコンフォメーション空間に適切な制限を加えることで Fc $\gamma$ R との親和性を制御している可能性が示された (Fig. 2)。

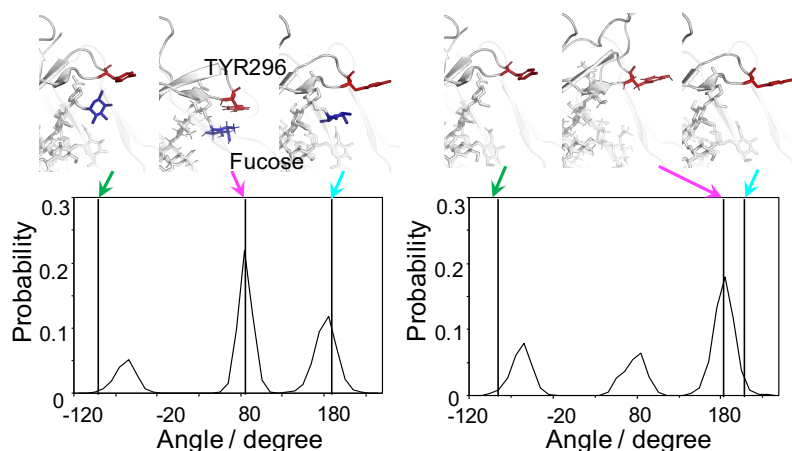


Fig.2 MD シミュレーション中で抗体のチロシン残基が取る配向

フコース残基とチロシン残基の相互作用により、抗体と Fc $\gamma$ R との親和性が制御されている。Fc $\gamma$ R との相互作用に関わる抗体のチロシン残基 (TYR296) の  $\chi$  アンクル。緑：遊離の抗体の結晶構造における角度、マゼンタ：MD シミュレーション中の最頻値、シアン：Fc $\gamma$ R 相互作用する抗体の結晶構造における角度

また、HS-AFM を用い、ヒト FcγRIIIa と種々の IgG1 の相互作用を 1 分子レベルで観測することに成功し、相互作用の定量解析を行なった。その結果、いずれの IgG1 においても全長分子は Fc に比べて FcγRIIIa との結合能が有意に高いことが明らかとなり、IgG の Fab 領域が FcγRIIIa との相互作用に寄与していることが示唆された。さらに HDX-MS により、FcγRIIIa と IgG1 の相互作用部位の同定を試みた結果、これまで明らかにされている Fc 領域と FcγRIIIa の相互作用に加え、IgG1 の Fab 領域 と FcγRIIIa の D1 ドメインとの間の新規な相互作用を捉えることができた (Fig. 3)。

本研究全体を通じ、IgG1 分子中の FcγRIIIa との新規相互作用部位が明らかとなった。ここに改変を施すことで、受容体結合能を増強させた高機能 IgG 抗体の開発が促進されるものと期待される。

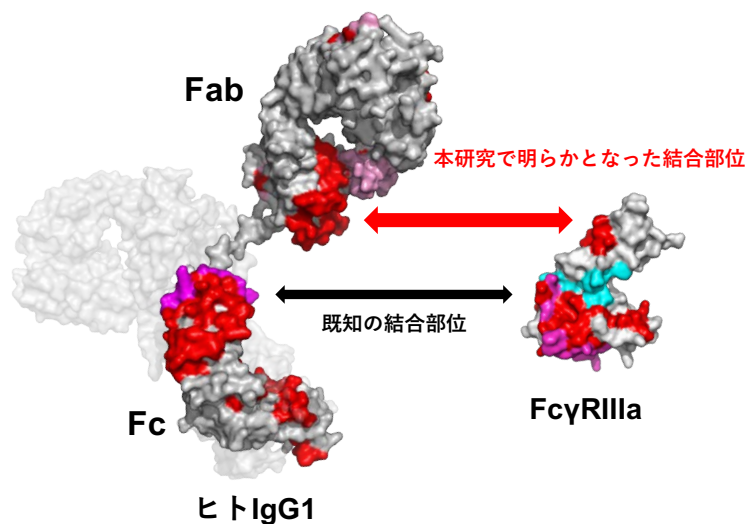


Fig.3 本研究で見出した抗体と FcγR との新規相互作用部位  
既知の相互作用部位に加え、新たな相互作用部位を見出した。  
赤、マゼンタ、ピンク：HDX-MS で質量の減少が検出された  
残基、マゼンタ：既知の相互作用残基、ピンク：抗体間で保存  
されていない残基、シアン：HDX-MS で質量の増加が検出  
された残基

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Brinson RG., Marino JP., Delaglio F., Arbogast LW., Evans RM., Kearsley A., Gingras G., Ghasriani H., Aubin Y., Pierens GK., Jia X., Mobli M., Grant HG., Keizer DW., Schweimer K., Sthle J., Widmalm G., Zartler ER., Lawrence CW., Reardon PN., Cort JR., Xu P., Ni F., Yanaka S, Kato K, et al.	4. 巻 11
2. 論文標題 Enabling adoption of 2D-NMR for the higher order structure assessment of monoclonal antibody therapeutics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 mAbs	6. 最初と最後の頁 94 ~ 105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19420862.2018.1544454	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yagi Hirokazu, Yanaka Saeko, Kato Koichi	4. 巻 1104
2. 論文標題 Structure and Dynamics of Immunoglobulin G Glycoproteins	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advances in experimental medicine and biology	6. 最初と最後の頁 219 ~ 235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-13-2158-0_11	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yanaka Saeko, Yagi Hirokazu, Yogo Rina, Yagi-Utsumi Maho, Kato Koichi	4. 巻 71
2. 論文標題 Stable isotope labeling approaches for NMR characterization of glycoproteins using eukaryotic expression systems	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biomolecular NMR	6. 最初と最後の頁 193 ~ 202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10858-018-0169-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yogo Rina, Yanaka Saeko, Kato Koichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Backbone 1H, 13C, and 15N assignments of the extracellular region of human Fc receptor IIIb	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomolecular NMR Assignments	6. 最初と最後の頁 201 ~ 204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12104-018-9809-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato Koichi, Yanaka Saeko, Yagi Hirokazu	4. 巻 138
2. 論文標題 Structural Biological Approach to Biopharmaceuticals	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 1495 ~ 1502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1248/yakushi.18-00020-3">https://doi.org/10.1248/yakushi.18-00020-3</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 加藤晃一, 谷中冴子	4. 巻 35
2. 論文標題 抗体のNMR研究の趋向と展望	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 SAR News	6. 最初と最後の頁 1 ~ 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yanaka Saeko, Yogo Rina, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki, Itoh Satoru G., Okumura Hisashi, Miyanoiri Yohei, Yagi Hirokazu, Satoh Tadashi, Yamaguchi Takumi, Kato Koichi	4. 巻 8
2. 論文標題 Dynamic Views of the Fc Region of Immunoglobulin G Provided by Experimental and Computational Observations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Antibodies	6. 最初と最後の頁 39 ~ 39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antib8030039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yogo Rina, Yamaguchi Yuki, Watanabe Hiroki, Yagi Hirokazu, Satoh Tadashi, Nakanishi Mahito, Onitsuka Masayoshi, Omasa Takeshi, Shimada Mari, Maruno Takahiro, Torisu Tetsuo, Watanabe Shio, Higo Daisuke, Uchihashi Takayuki, Yanaka Saeko, Uchiyama Susumu, Kato Koichi	4. 巻 9
2. 論文標題 The Fab portion of immunoglobulin G contributes to its binding to Fc receptor III	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11957
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48323-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Akiba Hiroki, Tamura Hiroko, Kiyoshi Masato, Yanaka Saeko, Sugase Kenji, Caaveiro Jose M. M., Tsumoto Kouhei	4. 巻 9
2. 論文標題 Structural and thermodynamic basis for the recognition of the substrate-binding cleft on hen egg lysozyme by a single-domain antibody	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-50722-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yanaka Saeko, Yogo Rina, Watanabe Hiroki, Taniguchi Yuki, Satoh Tadashi, Komura Naoko, Ando Hiromune, Yagi Hirokazu, Yuki Nobuhiro, Uchihashi Takayuki, Kato Koichi	4. 巻 21
2. 論文標題 On-Membrane Dynamic Interplay between Anti-GM1 IgG Antibodies and Complement Component C1q	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 147 ~ 147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21010147	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inoue Rintaro, Nakagawa Tatsuo, Morishima Ken, Sato Nobuhiro, Okuda Aya, Urade Reiko, Yogo Rina, Yanaka Saeko, Yagi-Utsumi Maho, Kato Koichi, Omoto Kazuki, Ito Kazuki, Sugiyama Masaaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Newly developed Laboratory-based Size exclusion chromatography Small-angle x-ray scattering System (La-SSS)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48911-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件(うち招待講演 10件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 谷中冴子、與語理那、矢木宏和、伊藤暁、奥村久士、加藤晃一
2. 発表標題 Fcの構造ダイナミクスがFc 受容体との相互作用に及ぼす影響の解明
3. 学会等名 日本薬学会第139年会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷中冴子, 與語理那, 矢木宏和, 加藤晃一
2. 発表標題 血清環境下における抗体の相互作用解析
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 谷中冴子
2. 発表標題 部位選択的重水素化を活用した抗体の血清中での相互作用解析
3. 学会等名 第19回若手NMR研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Yanaka, H. Watanabe, R. Yogo, H. yagi, T. Uchihashi and K. Kato
2. 発表標題 Structural characterization of antibody interactions in situ
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 谷中冴子
2. 発表標題 抗体研究から学ぶこと
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会 生化学若い研究者の会創立60周年記念シンポジウム「生命科学の来し方行く末」 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 谷中 冴子, 與語理那, 矢木宏和, 伊藤 暁, 奥村久士, 山口拓実, 加藤晃一
2. 発表標題 IgG のフコシル化による Fc のダイナミクスの変化が Fc 受容体との相互 作用に及ぼす影響 Dynamic conformational effects of IgG fucosylation for interaction between Fc and Fc receptor
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会、第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saeko Yanaka, Rina Yogo, Rintaro Inoue, Masaaki Sugiyama, Satoru G. Itoh, Hisashi Okumura, Yohei Miyanoiri, Hirokazu Yagi, Tadashi Satoh, Takumi Yamaguchi and Koichi Kato
2. 発表標題 Dynamic Views of the Fc Portion of Immunoglobulin G Provided by Experimental and Computational Observations
3. 学会等名 Frontier Bioorganization Forum 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷中 冴子
2. 発表標題 抗体の構造研究から学ぶ、研究者ってどんな職業？
3. 学会等名 中高生のための未来教室 ホンネで語るライフサイエンスの道！(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saeko Yanaka
2. 発表標題 Experimental and computational observations of the dynamics of the Fc region of immunoglobulin G
3. 学会等名 Satellite meeting for PF Workshop “Marriage of Computational and Experimental Techniques for Solution Small-angle Scattering” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Saeko Yanaka, Rina Yogo, Hirokazu Yagi, and Koichi Kato
2. 発表標題 Dynamic structures and interactions of antibodies under physiologically relevant conditions
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷中冴子，與語理那，矢木宏和，加藤晃一
2. 発表標題 安定同位体標識を利用したNMRによる抗体の「品質」の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考