

博士論文（要約）

ヒト抗体産生ウシの技術開発及び
新規がん抗原に対する抗体を用いた特性解析

金井（佐野） 暁子

ヒト血漿由来の免疫グロブリン製剤（IVIG）は種々の疾患に適応され、その市場は年々拡大しているが、供給安定性や感染リスクが懸念されている。回復期患者由来血漿の感染症患者への投与は古くから行われているが、その効果は血漿に含まれる中和抗体の力価に依存するため、限定的であることも多い。ヒト胸腺細胞で過免疫した動物由来のポリクローナル抗体が臓器移植時に使われているが、抗原性リスクが高いため複数回投与はできない。以上のことから、抗原性の低い、高力価のポリクローナル抗体製剤のニーズがあると考えられた。そこで本研究では、IVIG製剤とその類似品を置き換えることを目指し、生理的レベルでヒト抗体を産生するウシの技術開発を行った。

ヒト抗体産生ウシの基盤技術は、ヒト人工染色体（HAC）である。HACは通常のベクターでは導入不可能な巨大遺伝子を搭載し、異種細胞や動物への導入が可能なミニ染色体である。1Mb以上あるヒト抗体遺伝子を保持したHACを導入したプロトタイプのヒト抗体産生ウシが先行研究で作出されていたが、血中ヒトIgG濃度が低く、リンパ組織における成熟B細胞数も少ないことが課題であった。そこで本研究の第2章では、B細胞発生を改善し、IgG産生向上につなげるための新規HACとしてcKSL-HAC Δ を構築した。本HACはpre-B細胞期の生存に必須とされるpre-BCRの重鎖と相互作用する分子との間に存在するヒトとウシの種差を取り除く設計となっている。技術的には、今回初めて3本のヒト染色体断片を連結できることを示した。第3章ではcKSL-HAC Δ を保持するウシを体細胞クローニングによって作製した。その結果、末梢血中のB細胞数の増加、ヒトIgGの生理的レベルの産生、ヒト抗原に対する抗体価の上昇がそれぞれ示され、cKSL-HAC Δ ウシのヒト抗体生産系としてのフィージビリティが確認された。

生体内におけるポリクローナル抗体は複数エピトープに結合することで相乗的効果を生み出す。一方、モノクローナル抗体は同一エピトープに対して競合することで活性

が減弱されるため、複雑な抗原を有しているがん細胞に対する作用は限定的になる場合がある。そこで、ヒト抗体産生ウシを利用したポリクローナル抗体創薬のがん領域への展開を目指し、エフェクター活性に依存しない細胞死誘導抗体の報告のあるPoriminを抗原として選定した。第4章では、事前検討として新規Porimin抗体を取得し各種評価を実施した。

PoriminはO型糖鎖が高度に付加されているムチン様I型膜タンパク質であり、ネクローシスに類似する細胞死oncosisを誘導するIgM抗体が報告されている。しかし、本研究において新規に取得したラット及びウサギIgG抗体による細胞死は認められなかったことから、本抗原に対してヒト抗体産生ウシを用いたポリクローナル抗体の取得を試みる価値は見出せなかった。ウシに適したがん標的としては、ポリクローナル抗体本来の強みであるエフェクター活性に依存したMoAを有する抗原、あるいは複数抗原の組み合わせを選抜することが今後の課題であると考えられた。

Poriminは正常及びがん組織のいずれにも発現していたが、ラット抗体はがん特異的エピトープを認識していることが示唆された。また、Porimin抗体は速やかに内在化し、高いリソソーム移行率を示したことから、Poriminの発現亢進が認められるトリプルネガティブ乳がんセグメントにおいて、ADC用抗原として有用な可能性が示唆された。